

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK  
EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDANT VE ÜREAZ İNHİBİSYON  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEKLİSANS TEZİ

Semiha YENİGÜN

Kimya Anabilim Dalı

TEMMUZ 2015  
SAMSUN





T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KİMYA ANABİLİM DALI**

**GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK  
EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDANT VE ÜREAZ İNHİBİSYON  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEKLİSANS TEZİ**

**Semiha YENİGÜN  
12210123**

**Tezin Savuma Tarihi : 29 Temmuz 2015**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tefik ÖZEN**

Bu Yüksek Lisans Tez Çalışması TÜBİTAK 114Z683 'nolu Proje ile desteklenmiştir.



**Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Kimya Anabilim Dalında**

**Semiha Yenigün Tarafından Hazırlanan**

**GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK  
EKSTRAKTLARININ ANTIÖKSİDANT VE ÜREAZ İNHİBİSYON  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 29/07/2015 tarihinde yapılan sınav ile  
YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Başkan** : **Prof.Dr. Nihat Tıncılıç** .....  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

**Jüri Üyeleri** : **Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ** .....  
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Doç. Dr. Tevfik ÖZEN** .....  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

**.../.../2015**

**Prof. Dr. Hüseyin DEMİR**

Enstitü Müdürü



*Anneme,*



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimimde bilgilerimi benimle paylaşan, tez çalışmalarım süresince anlayış gösterip, destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Tefvik ÖZEN' e,

Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan ve maddi manevi her türlü desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Öğretim Görevlisi Demet KIZIL Kimyager Vildan AKSU, Kimya Öğretmeni Zeynep OYUKTAŞ, Mehmet TOKA, Kemal YILDIRIM ve bölümdeki bütün hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyip, tez çalışmam için de ihtiyaç duyduğum her konuda elinden gelen her türlü yardımı yapan sevgili annem Sabire YENİGÜN' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz 2015

Semiha YENİGÜN



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|  |       |
|--|-------|
| ÖNSÖZ.....   | vii   |
| İÇİNDEKİLER .....  | ix    |
| ÇİZELGELER LİSTESİ.....  | xiii  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....  | xv    |
| KISALTMALAR .....  | xix   |
| GÜZ YEMİŞİ ( <i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb.) MEYVE VE YAPRAK<br>EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDANT VE ÜREAZ İNHİBİSYON<br>AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI<br>ÖZET.....    | xxi   |
| THE INVESTIGATION OF AUTUMN OLIVE ( <i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb.)<br>FRUIT AND LEAF EXTRACTS OF ANTIOXIDANT AND UREASE<br>INHIBITORY ACTIVITY<br>ABSTRACT ..... | xxiii |
| 1. GİRİŞ .....   | 1     |
| 1.1 Tezin Amacı.....   | 2     |
| 2. GENEL BİLGİLER.....   | 5     |
| 2.1 Serbest Radikaller.....  | 5     |
| 2.1.1 Oksidatif stres .....  | 6     |
| 2.1.2 Reaktif oksijen türleri.....   | 7     |
| 2.1.2.1 Süperoksit radikali.....   | 8     |
| 2.1.2.2 Hidrojen peroksit .....  | 8     |
| 2.1.2.3 Hidroksil radikali.....  | 9     |
| 2.1.3 Reaktif nitrojen türleri.....  | 9     |
| 2.1.4 Serbest radikallerin oluşumu.....  | 10    |
| 2.1.5 Serbest radikallerin kaynakları.....   | 10    |
| 2.1.6 Serbest radikallerin etkileri .....  | 11    |
| 2.1.6.1 Membran lipidlerine etkileri.....  | 13    |
| 2.1.6.2 Proteinlere etkileri .....   | 14    |
| 2.1.6.3 Nükleik asitlere etkileri .....  | 15    |
| 2.1.6.4 Karbohidratlara etkileri .....   | 16    |
| 2.2 Antioksidantlar .....  | 16    |
| 2.2.1 Antioksidant sistemleri .....  | 20    |
| 2.2.1.1 Endojen antioksidant savunmaları .....   | 22    |
| 2.2.2 Enzim antioksidantlar .....  | 24    |
| 2.2.2.1 Süperoksit dismutaz (E.C.1.15.1.1.).....   | 24    |
| 2.2.2.2 Katalaz (E.C.1.11.1.6.) .....  | 25    |
| 2.2.2.3 Glutasyon peroksidaz (E.C.1.11.1.9.).....  | 25    |
| 2.2.2.4 Glutasyon redüktaz (E.C.1.6.4.2.).....   | 25    |
| 2.2.3 Doğal antioksidantlar .....  | 26    |
| 2.2.3.1 C vitamini (Askorbik asit).....  | 26    |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.2.3.2 E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol).....  | 27        |
| 2.2.3.3 Karotenoidler .....   | 28        |
| 2.2.3.4 Fenolik bileşikler .....  | 29        |
| 2.2.4 Sentetik antioksidantlar .....  | 32        |
| 2.2.4.1 Bütillenmiş hidroksianisol (BHA).....   | 32        |
| 2.1.6.2 Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT).....   | 33        |
| 2.1.6.3 BHA ve BHT'nin antioksidant aktivitesi .....                                  | 34        |
| 2.3 Diüretikler.....  | 35        |
| 2.3.1 Böbreklerde su metabolizması .....  | 37        |
| 2.3.2 Diüretiklerin sınıflandırması .....   | 38        |
| 2.3.2.1 Karbonik anhidraz inhibitörleri .....   | 38        |
| 2.3.2.2 Osmotik diüretikler.....  | 39        |
| 2.3.2.3 Kıvrım (loop) diüretikler .....   | 40        |
| 2.3.2.4 Tiyazid grubu diüretikler .....   | 42        |
| 2.3.2.5 Potasyum tutucu diüretikler.....  | 43        |
| 2.3.3 Diüretik özelliğe sahip doğal ilaçlar .....                                     | 45        |
| 2.4 Üreaz (E.C.3.5.1.5.).....   | 45        |
| 2.4.1 Üreaz enziminin yapısı.....   | 47        |
| 2.4.2 Bitki metabolizmasında üreazın rolü .....                                       | 51        |
| 2.4.3 Üreaz enzim inhibitörleri .....   | 52        |
| 2.4.4 Üreaz enziminin kullanım alanları .....   | 56        |
| 2.5 H. Pylori'nin Tarihçesi.....  | 57        |
| 2.5.1 Mikrobiyolojik özellikleri .....  | 58        |
| 2.5.2 Epidemiyoloji.....  | 58        |
| 2.5.3 Patogenez .....   | 59        |
| 2.5.4 H. Pylori tanı yöntemleri.....  | 60        |
| 2.5.4.1 İnvaziv testler .....   | 61        |
| 2.5.4.2 Non invaziv testler.....  | 62        |
| 2.5.5 Gastrik kanser-H.Pylori ilişkisi .....  | 62        |
| 2.6 Bitkiler .....  | 65        |
| 2.6.1 Bitki seçimi .....  | 66        |
| 2.6.2 Bitki materyallerinin hazırlanması ve aktif bileşiklerin sınıflandırılması..... | 67        |
| 2.6.3 Bitki materyallerinde bulunan bileşikler .....                                  | 68        |
| 2.6.3.1 Glikozitler .....   | 68        |
| 2.6.3.2 Organik asitler .....   | 68        |
| 2.6.3.3 Tanenler .....  | 68        |
| 2.6.3.4 Alkolitler.....   | 69        |
| 2.6.3.5 Sabit yağlar .....  | 69        |
| 2.6.3.6 Uçucu yağlar (esanslar) .....   | 69        |
| 2.6.3.7 Reçineli bileşikler .....   | 69        |
| 2.6.3.8 Vitaminler .....  | 69        |
| 2.6.3.9 Antibiyotikler.....   | 69        |
| 2.7 Güz Yemişi ( <i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb.).....                              | 70        |
| 2.7.1 Özellikleri.....  | 70        |
| 2.7.2 Kullanım alanları.....  | 71        |
| 2.7.3 Faydaları.....  | 71        |
| 2.7.4 Zararları.....  | 72        |
| <b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>   | <b>73</b> |
| 3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....  | 73        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.2 Kullanılan Cihazlar .....   | 73        |
| 3.3 Güz Yemişi Örnekleri .....  | 74        |
| 3.4 Yöntemler .....   | 74        |
| 3.4.1 Ekstraksiyon .....  | 74        |
| 3.4.2 Örneklerin hazırlanması .....   | 74        |
| 3.4.3 Bileşen analizleri .....  | 74        |
| 3.4.3.1 Toplam fenolik bileşiklerin tayini .....  | 75        |
| 3.4.3.2 Toplam flavonoid tayini .....   | 75        |
| 3.4.3.3 Toplam antosiyanin tayini .....   | 76        |
| 3.4.3.4 $\beta$ -karoten ve likopen tayini .....  | 76        |
| 3.4.3.5 Askorbik asit tayini .....  | 77        |
| 3.4.4 Antioksidant aktivite tayinleri .....   | 77        |
| 3.4.4.1 Toplam antioksidant aktivite tayini .....   | 78        |
| 3.4.4.2 Hidrojen peroksit giderme aktivitesi tayini .....                                   | 78        |
| 3.4.4.3 Hidroksil radikali giderme aktivitesi tayini .....                                  | 79        |
| 3.4.4.4 Süperoksit anyonu giderme aktivitesi tayini .....                                   | 79        |
| 3.4.4.5 İndirgeme gücü aktivitesi tayini .....  | 80        |
| 3.4.4.6 Serbest radikal giderme aktivitesi tayini .....                                     | 80        |
| 3.4.4.7 Metal şelat aktivitesi tayini .....   | 80        |
| 3.4.4.8 Lipid peroksidasyonu inhibisyonu tayini .....                                       | 81        |
| 3.4.4.9 Deoksiriboz aktivite tayini .....   | 82        |
| 3.4.4.10 ABTS <sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi tayini .....                         | 82        |
| 3.4.5 Enzim inhibisyonu tayini .....  | 83        |
| 3.4.5.1 Üreaz inhibisyon tayini .....   | 83        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>  | <b>85</b> |
| 4.1 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Verimleri .....                              | 85        |
| 4.2 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının UV-Vis Taramaları .....                      | 86        |
| 4.3 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Bileşen Analizleri .....                     | 92        |
| 4.3.1 Toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi .....                                 | 92        |
| 4.3.2 Toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi .....                                     | 94        |
| 4.3.3 Toplam antosiyanin içeriklerinin belirlenmesi .....                                   | 96        |
| 4.3.4 $\beta$ -karoten ve likopen içeriklerinin belirlenmesi .....                          | 96        |
| 4.3.5 Askorbik asit içeriklerinin belirlenmesi .....  | 98        |
| 4.4 Güz Yemişi Örneklerinin Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi .....                 | 99        |
| 4.4.1 Toplam antioksidant aktivitelerinin belirlenmesi .....                                | 99        |
| 4.4.2 Hidrojen peroksit giderme aktivitelerinin belirlenmesi .....                          | 102       |
| 4.4.3 Hidroksil radikali giderme aktivitelerinin belirlenmesi .....                         | 105       |
| 4.4.4 Süperoksit anyonu giderme aktivitelerinin belirlenmesi .....                          | 108       |
| 4.4.5 İndirgeme gücü aktivitelerinin belirlenmesi .....                                     | 111       |
| 4.4.6 Serbest radikal giderme aktivitelerinin belirlenmesi .....                            | 114       |
| 4.4.7 Metal şelat aktivitelerinin belirlenmesi .....  | 117       |
| 4.4.8 Lipid peroksidasyonu inhibisyonunun belirlenmesi .....                                | 120       |
| 4.4.9 Deoksiriboz aktivitesinin belirlenmesi .....  | 123       |
| 4.4.10 ABTS <sup>+</sup> radikali giderme aktivitesinin belirlenmesi .....                  | 126       |
| 4.5 Enzim İnhibisyonunun Belirlenmesi .....   | 129       |
| 4.5.1 Üreaz inhibisyonunun belirlenmesi .....   | 129       |
| 4.6 Fenolik Madde Miktarı İle Antioksidant Aktivite Yöntemlerinin Karşılaştırılması .....   | 132       |
| 4.7 Flavonoid Madde Miktarı İle Antioksidant Aktivite Yöntemlerinin Karşılaştırılması ..... | 134       |

|  |            |
|--|------------|
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....  | <b>137</b> |
| 5.1 Güz Yemişı Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Verimleri .....                                 | 137        |
| 5.2 Güz Yemişı Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının UV-Vis Taramaları.....                          | 137        |
| 5.3 İstatistiksel Analiz.....  | 138        |
| 5.4 Güz Yemişı Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Bileşen Analizlerinin<br>Sonuçları.....         | 138        |
| 5.4.1 Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri .....   | 138        |
| 5.4.2 Örneklerin toplam flavonoid içerikleri.....  | 140        |
| 5.4.3 Örneklerin toplam antosiyanin içerikleri .....   | 140        |
| 5.4.4 Örneklerin $\beta$ -karoten ve likopen içerikleri .....                                  | 141        |
| 5.4.5 Örneklerin askorbik asit içerikleri.....   | 142        |
| 5.5 Güz Yemişı Meyve ve Yaprak Örneklerinin Antioksidant Aktivitelerinin<br>Sonuçları.....     | 143        |
| 5.5.1 Standart maddelerin ve örneklerin toplam antioksidant aktiviteleri .....                 | 143        |
| 5.5.2 Standart maddelerin ve örneklerin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri.....            | 144        |
| 5.5.3 Standart maddelerin ve örneklerin hidroksil radikali giderme aktiviteleri.....           | 146        |
| 5.5.4 Standart maddelerin ve örneklerin süperoksit anyonu giderme aktiviteleri...              | 148        |
| 5.5.5 Standart maddelerin ve örneklerin indirgeme gücü aktiviteleri .....                      | 150        |
| 5.5.6 Standart maddelerin ve örneklerin serbest radikal giderme aktiviteleri.....              | 151        |
| 5.5.7 Standart maddelerin ve örneklerin metal şelat aktiviteleri.....                          | 153        |
| 5.5.8 Standart maddelerin ve örneklerin lipid peroksidasyonu inhibisyonları.....               | 156        |
| 5.5.9 Standart maddelerin ve örneklerin deoksiriboz aktiviteleri .....                         | 158        |
| 5.5.10 Standart maddelerin ve örneklerin ABTS <sup>+</sup> radikali giderme aktiviteleri ..... | 160        |
| 5.6 Güz Yemişı Meyve ve Yaprak Örneklerinin Enzim İnhibisyonu.....                             | 162        |
| 5.6.1 Güz yemişı meyve ve yaprak örneklerinin üreaz enzim inhibisyonu .....                    | 162        |
| <b>6. ÖNERİLER</b> .....   | <b>165</b> |
| <b>KAYNAKLAR</b> .....   | <b>167</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....  | <b>177</b> |

## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa

|  |     |
|--|-----|
| Çizelge 2.1. Sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri .....  | 6   |
| Çizelge 2.2. Hücredeki serbest oksijen radikallerinin kaynakları.....  | 11  |
| Çizelge 2.3. Antioksidantların hücresel yerleşimlerine göre sınıflandırılması .....                            | 21  |
| Çizelge 2.4. Endojen ve eksojen antioksidantlar .....  | 22  |
| Çizelge 2.5. Flavonol, flavon, flavonon, flavonol, izoflavon ve antosiyanidin' in kimyasal yapıları .....      | 31  |
| Çizelge 4.1. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam antosiyanin içeriklerinin karşılaştırılması.....   | 96  |
| Çizelge 4.2. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin askorbik asit içeriklerinin karşılaştırılması .....       | 98  |
| Çizelge 4.3. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin IC50 değerlerinin karşılaştırılması .....                 | 131 |
| Çizelge 4.4. Fenolik madde miktarı ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması .....         | 132 |
| Çizelge 4.4. (devamı) Fenolik madde miktarı ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması..... | 133 |
| Çizelge 4.5. Flavonoid miktarı ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması .....             | 134 |
| Çizelge 4.5. (devamı) Flavonoid miktarı ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması .....    | 135 |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa

|  |    |
|--|----|
| Şekil 2.1. Başlıca serbest radikal (oksidatif stres) üretiminin nedenleri, oksidatif stresin olası hücresele hedefleri ve sonuçları .....        | 7  |
| Şekil 2.2. Poli doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu .....  | 14 |
| Şekil 2.3. Hidroksil radikallerinin DNA' ya etkileri .....   | 16 |
| Şekil 2.4. Hücrede ROT ve RNT içeren başlıca reaksiyonlar ile hücre içi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantların genel mekanizması ..... | 23 |
| Şekil 2.5. L-askorbik asitin kimyasal yapısı .....   | 27 |
| Şekil 2.6. E vitamininin kimyasal yapısı .....   | 28 |
| Şekil 2.7. Likopenin kimyasal yapısı .....   | 28 |
| Şekil 2.8. $\beta$ -karotenin kimyasal yapısı .....  | 28 |
| Şekil 2.9. Flavonoidlerin genel yapısı .....   | 29 |
| Şekil 2.10. BHA'nın türleri .....  | 33 |
| Şekil 2.11. BHT'nin türleri .....  | 33 |
| Şekil 2.12. BHT'nin yağ ve yağ asitlerinin oksidasyonuna etkisi .....  | 34 |
| Şekil 2.13. BHT ve BHA' nın DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin) ile meydana gelen reaksiyonları .....  | 35 |
| Şekil 2.14. Nefron kısımları .....   | 37 |
| Şekil 2.15. Nefronlarda su metabolizması .....   | 38 |
| Şekil 2.16. Asetazolamid'in kimyasal yapısı .....  | 39 |
| Şekil 2.17. Mannitol'ün kimyasal yapısı .....  | 40 |
| Şekil 2.18. Furosemid'in kimyasal yapısı .....   | 41 |
| Şekil 2.19. Bumetanid'in kimyasal yapısı .....   | 41 |
| Şekil 2.20. Etakrinik'in kimyasal yapısı .....   | 41 |
| Şekil 2.21. İndapamid'in kimyasal yapısı .....   | 42 |
| Şekil 2.22. Hidroklorotiyazid'in kimyasal yapısı .....   | 42 |
| Şekil 2.23. Aldosteron'un kimyasal yapısı .....  | 43 |
| Şekil 2.24. Spirolakton'un kimyasal yapısı .....   | 43 |
| Şekil 2.25. Triamteren'in kimyasal yapısı .....  | 44 |
| Şekil 2.26. Amilorit hidroklorür'ün kimyasal yapısı .....  | 44 |
| Şekil 2.27. Ürenin katalizörsüz reaksiyonu .....   | 46 |
| Şekil 2.28. Üreazın üç boyutlu yapısı .....  | 48 |
| Şekil 2.29. <i>Klesbsiella aerogenes</i> üreazının üç boyutlu yapısı .....   | 49 |
| Şekil 2.30. <i>Bacillus pasteurii</i> üreazının üç boyutlu yapısı .....  | 49 |
| Şekil 2.31. <i>Helicobacter pylori</i> üreazının üç boyutlu yapısı .....   | 50 |
| Şekil 2.32. Üre metabolizması .....  | 51 |
| Şekil 2.33. Hidroksiüre'nin kimyasal yapısı .....  | 53 |
| Şekil 2.34. Fenofibrat'ın kimyasal yapısı .....  | 53 |
| Şekil 2.35. Klaritromisin'in kimyasal yapısı .....   | 54 |
| Şekil 2.36. Lansaprazol'ün kimyasal yapısı .....   | 55 |
| Şekil 2.37. Omeprazol'ün kimyasal yapısı .....   | 55 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Şekil 2.38.</b> Bitkilerdeki aktif bileşiklerin elde edilmesi ve biyokimyasal uygulamalar .....                    | 68  |
| <b>Şekil 2.39.</b> Güz yemişi ( <i>Elaeagnus Umbellata</i> Thunb.) .....  | 70  |
| <b>Şekil 4.1.</b> Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının verimleri .....  | 85  |
| <b>Şekil 4.2.</b> Güz yemişi meyve etanol ekstraktının UV-Vis taraması .....  | 86  |
| <b>Şekil 4.3.</b> Güz yemişi yaprak etanol ekstraktının UV-Vis taraması .....   | 86  |
| <b>Şekil 4.4.</b> Güz yemişi meyve metanol ekstraktının UV-Vis taraması .....   | 87  |
| <b>Şekil 4.5.</b> Güz yemişi yaprak metanol ekstraktının UV-Vis taraması .....  | 87  |
| <b>Şekil 4.6.</b> Güz yemişi meyve su ekstraktının UV-Vis taraması .....  | 88  |
| <b>Şekil 4.7.</b> Güz yemişi yaprak su ekstraktının UV-Vis taraması .....   | 88  |
| <b>Şekil 4.8.</b> Güz yemişi meyve etilasetatlı ekstraktının UV-Vis taraması .....                                    | 89  |
| <b>Şekil 4.9.</b> Güz yemişi yaprak etilasetat ekstraktının UV-Vis taraması .....                                     | 89  |
| <b>Şekil 4.10.</b> Güz yemişi meyve aseton ekstraktının UV-Vis taraması .....   | 90  |
| <b>Şekil 4.11.</b> Güz yemişi yaprak aseton ekstraktının UV-Vis taraması .....  | 90  |
| <b>Şekil 4.12.</b> Güz yemişi meyve hekzan ekstraktının UV-Vis taraması .....   | 91  |
| <b>Şekil 4.13.</b> Güz yemişi yaprak hekzan ekstraktının UV-Vis taraması .....  | 91  |
| <b>Şekil 4.14.</b> Gallik asit çözeltisinin kalibrasyon grafiği .....   | 92  |
| <b>Şekil 4.15.</b> Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinin karşılaştırılması ..... | 93  |
| <b>Şekil 4.16.</b> Kateşin çözeltisinin kalibrasyon grafiği .....   | 94  |
| <b>Şekil 4.17.</b> Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam flavonoid içeriklerinin karşılaştırılması .....     | 95  |
| <b>Şekil 4.18.</b> Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin $\beta$ -karoten içeriklerinin karşılaştırılması .....     | 97  |
| <b>Şekil 4.19.</b> Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin likopen içeriklerinin karşılaştırılması .....              | 97  |
| <b>Şekil 4.20.</b> Askorbik asitin kalibrasyon grafiği .....  | 98  |
| <b>Şekil 4.21.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin toplam antioksidant aktivitelerinin karşılaştırılması .....          | 100 |
| <b>Şekil 4.22.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin toplam antioksidant aktivitelerinin karşılaştırılması .....         | 101 |
| <b>Şekil 4.23.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin hidrojen peroksit giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....    | 103 |
| <b>Şekil 4.24.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin hidrojen peroksit giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....   | 104 |
| <b>Şekil 4.25.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin hidroksil radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....   | 106 |
| <b>Şekil 4.26.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin hidroksil radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....  | 107 |
| <b>Şekil 4.27.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin süperoksit anyonu giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....    | 109 |
| <b>Şekil 4.28.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin süperoksit anyonu giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....   | 110 |
| <b>Şekil 4.29.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin indirgeme gücü aktivitelerinin karşılaştırılması .....               | 112 |
| <b>Şekil 4.30.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin indirgeme gücü aktivitelerinin karşılaştırılması .....              | 113 |
| <b>Şekil 4.31.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin serbest radikal giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....      | 115 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Şekil 4.32.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin serbest radikal giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....                      | 116 |
| <b>Şekil 4.33.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin metal şelat aktivitelerinin karşılaştırılması .....                                   | 118 |
| <b>Şekil 4.34.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin metal şelat aktivitelerinin karşılaştırılması .....                                  | 119 |
| <b>Şekil 4.35.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin lipid peroksidasyon inhibisyonlarının karşılaştırılması. ....                         | 121 |
| <b>Şekil 4.36.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin lipid peroksidasyon inhibisyonlarının karşılaştırılması .....                        | 122 |
| <b>Şekil 4.37.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin deoksiriboz aktivitelerinin karşılaştırılması .....                                   | 124 |
| <b>Şekil 4.38.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin deoksiriboz aktivitelerinin karşılaştırılması .....                                  | 125 |
| <b>Şekil 4.39.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin ABTS <sup>+</sup> radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması. ....            | 127 |
| <b>Şekil 4.40.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin ABTS <sup>+</sup> radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması .....           | 128 |
| <b>Şekil 4.41.</b> Güz yemişi meyve örneklerinin üreaz inhibisyonlarının karşılaştırılması .....                                       | 129 |
| <b>Şekil 4.42.</b> Güz yemişi yaprak örneklerinin üreaz inhibisyonlarının karşılaştırılması. ....                                      | 130 |
| <b>Şekil 5.1.</b> NBT <sup>+2</sup> 'nin süperoksit anyonu ile reaksiyonu .....  | 148 |
| <b>Şekil 5.2.</b> Antioksidant maddelerin (AH) DPPH <sup>•</sup> radikalini gidermesi .....  | 152 |
| <b>Şekil 5.3.</b> Lipid yapısının bozulmasıyla oluşan MDA'nın TBA ile reaksiyonu .....   | 156 |
| <b>Şekil 5.4.</b> Deoksiribozun yapısının bozulmasıyla oluşan malonaldehit türevi bileşiğin TBA ile kompleks oluşumu. ....             | 159 |
| <b>Şekil 5.5.</b> ABTS'nin K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> ile oksidasyonundan ABTS <sup>+</sup> radikalinin oluşumu .... | 161 |
| <b>Şekil 5.6.</b> İndofenol oluşum reaksiyonu .....  | 163 |



## KISALTMALAR

|                         |   |
|-------------------------|---|
| <b>ABTS<sup>+</sup></b> | : 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) |
| <b>A.asit</b>           | : Askorbik asit                                       |
| <b>BHA</b>              | : Bütillenmiş hidroksianisol                          |
| <b>BHT</b>              | : Bütillenmiş hidroksitoluen                          |
| <b>CAT</b>              | : Katalaz   |
| <b>DPPH<sup>·</sup></b> | : 1,1-difenil-2-pikril hidrazil                       |
| <b>EDTA</b>             | : Etilen diamin tetra asetikasit                      |
| <b>E Vit.</b>           | : E vitamini  |
| <b>GA</b>               | : Gallik asit   |
| <b>GAE</b>              | : Gallik asit eşdeğer                                 |
| <b>GP<sub>x</sub></b>   | : Glutasyon peroksidaz                                |
| <b>G<sub>red</sub></b>  | : Glutasyon redüktaz                                  |
| <b>GSH</b>              | : Glutasyon (indirgenmiş yapısı)                      |
| <b>GSNO</b>             | : S-nitroglutasyon                                    |
| <b>GSSG</b>             | : Glutasyon (yükseltgenmiş yapısı)                    |
| <b>GST</b>              | : Glutasyon-S-transferaz                              |
| <b>GYMA</b>             | : Güz yemişi meyve aseton ekstraktı                   |
| <b>GYME</b>             | : Güz yemişi meyve etanol ekstraktı                   |
| <b>GYMEA</b>            | : Güz yemişi meyve etilasetat ekstraktı               |
| <b>GYMH</b>             | : Güz yemişi meyve hekzan ekstraktı                   |
| <b>GYMM</b>             | : Güz yemişi meyve metanol ekstraktı                  |
| <b>GYMSU</b>            | : Güz yemişi meyve su ekstraktı                       |
| <b>GYYA</b>             | : Güz yemişi yaprak aseton ekstraktı                  |
| <b>GYYE</b>             | : Güz yemişi yaprak etanol ekstraktı                  |
| <b>GYYEA</b>            | : Güz yemişi yaprak etilasetat ekstraktı              |
| <b>GYYH</b>             | : Güz yemişi yaprak hekzan ekstraktı                  |
| <b>GYYM</b>             | : Güz yemişi yaprak metanol ekstraktı                 |
| <b>GYYSU</b>            | : Güz yemişi yaprak su ekstraktı                      |
| <b>HIV</b>              | : Human immunodeficiency virus                        |
| <b>LDL</b>              | : Düşük yoğunluklu lipit                              |
| <b>MDA</b>              | : Malondialdehit                                      |
| <b>NADH</b>             | : Nikotinamid adenin dinükleotid                      |
| <b>NBT</b>              | : Nitrotolue tetra zolium                             |
| <b>PMS</b>              | : Ferrozin meta sülfat                                |
| <b>PUFA</b>             | : Poli doymamış yağ asitleri                          |
| <b>RNT</b>              | : Reaktif nitrojen türleri                            |
| <b>ROT</b>              | : Reaktif oksijen türleri                             |
| <b>SOD</b>              | : Süperoksit dismutaz                                 |
| <b>TBA</b>              | : Tiyobarbütirik asit                                 |
| <b>TBHQ</b>             | : tert-bütillidrokinon                                |
| <b>TCA</b>              | : Trikloroasetik asit                                 |
| <b>TEAC</b>             | : Troloks eşdeğeri antioksidant kapasite              |



# GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDANT VE ÜREAZ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

## ÖZET

Güz Yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) *Elaeagnaceae* ailesi *Elaeagnus* cinsine ait bir iğde çeşididir. Tez çalışmasında, güz yemişi meyve ve yapraklarının metanol, etanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ekstraktlarının bileşen analizleri (toplam fenolik madde, toplam flavonoid, toplam antosiyanin,  $\beta$ -karoten, likopen ve askorbik asit), antioksidant (toplam antioksidant, hidrojen peroksit giderme, hidroksil radikali giderme, süperoksit anyonu giderme, indirgeme gücü, serbest radikal giderme, metal şelat, lipid peroksidasyonu inhibisyonu, deoksiriboz ve ABTS<sup>+</sup> radikali giderme) ve enzim inhibisyon (ürez) aktiviteleri spektrofotometrik olarak tayin edildi. Farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktlardan fenolik madde güz yemişi meyve metanol ekstraktında, flavonoid güz yemişi meyve metanol ekstraktında, antosiyanin yaprakta,  $\beta$ -karoten güz yemişi yaprak hekzan ekstraktında, likopen güz yemişi meyve hekzan ekstraktında ve askorbik asit içeriği yaprakta en yüksek olduğu belirlendi. Antioksidant aktivite testlerinde pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksi anisol, bütillenmiş hidroksi toluen, troloks, tert-bütillhidrokinon, E vitamini ve askorbik asit kullanıldı. Farklı konsantrasyonlardaki (50-500  $\mu$ g/mL) ekstrakt ve standart maddelerin antioksidant aktivitelerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı ve ekstraktların aktiviteleri standartlara göre yüksek olduğu belirlendi. Örneklerin ürez inhibisyonu testinde güz yemişi meyve aseton ekstraktında en etkili olduğu bulundu ve güz yemişi meyve aseton ekstraktının IC<sub>50</sub> değeri 180  $\mu$ g/mL'dir.

Aktivite ve inhibisyon sonuçları SPSS (Statistical Packages for the Social Sciences) 20.00 paket programındaki ANOVA ve DUNCAN testleri kullanılarak sonuçlar arasında anlamlı fark olup olmadığı değerlendirildi. Ayrıca örneklerin farklı çözücülerdeki ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki fenolik madde ve flavonoid miktarları ile farklı antioksidant aktivite testlerinin sonuçları doğru orantılı olarak değiştiği belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** *Elaeagnaceae*; *Elaeagnus umbellata* Thunb.; Fenolik Bileşikler; Antioksidant Aktivite; Ürez; İnhibisyon; IC<sub>50</sub>.



**THE INVESTIGATION OF AUTUMN OLIVE (*Elaeagnus umbellata* Thunb.)  
FRUIT AND LEAF EXTRACTS OF ANTIOXIDANT AND UREASE  
INHIBITORY ACTIVITY**

**ABSTRACT**

Autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) is variety the angustifolia belonging to the *Elaeagnus* genus *Elaeagnaceae* family. In thesis, the methanol, ethanol, water, ethyl acetate, acetone and hexane extracts of autumn olive fruit and leaves were determined spectrophotometrically component analysis, antioxidant and urease inhibition activities. The phenolics of autumn olive fruit methanol extract, the flavonoids of autumn olive fruit methanol extract, the anthocyanin of autumn olive leaf,  $\beta$ -carotene of autumn olive leaf hexane extract, the lycopene of autumn olive fruit hexane extracts and ascorbic acid of content autumn olive leaf were the highest found in the extracts prepared from the different solvents Butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, trolox, tert-butylhydroquinone, vitamin E and ascorbic acid were used as a positive control in antioxidant activity assays. The extracts and the standards prepared different concentrations were increased antioxidant activity as concentration dependent and also the activities of extracts were exhibited higher than Standard antioxidants. The acetone extract of autumn olive fruit was found to be the most effective. The  $IC_{50}$  value of the autumn olive fruit acetone extract was 180  $\mu$ g/mL in the urease inhibition test.

The results of the activity and inhibition were evaluated the using ANOVA and DUNCAN tests in the SPSS (Statistical Packages for the Social Sciences; 20.0) software package and whether or not significant difference between results. In addition, the results were found to vary in direct proportion between the phenolic and flavonoid contents prepared different concentrations in the different solvent extracts and the results of different antioxidant activity tests.

**Key Words:** *Elaeagnaceae*; *Elaeagnus umbellata* Thunb.; Phenolic Compounds; Antioxidant Activity; Urease; Inhibition;  $IC_{50}$ .



## 1. GİRİŞ

Sağladığı sağlık faydalarının kitlesel medya vasıtasıyla kazandığı kamusal yaygınlık nedeniyle "antioksidant" kelimesi modern toplumda gittikçe popüler hale gelmektedir. Antioksidantın sözlükteki tanımı: oksidasyona karşı koyan veya oksijen ya da peroksitler tarafından tetiklenen reaksiyonları baskılayan maddelerdir, bu maddelerin çoğu (tokoferollerde olduğu gibi) çeşitli ürünlerde (yağlar, sıvı yağlar, gıda ürünleri ve sabunlarda bozulmayı geciktirmek, gazolin ve diğer petrol ürünlerinde sakız oluşumuyla istenmeyen diğer değişimleri ve lastiklerdeki eskimeyi geciktirmek için) koruyucu olarak kullanılmaktadır. Antioksidantların biyolojik açıdan daha ilgili bir tanımı şudur: havadaki oksijenin etkisiyle bozunumlarını önlemek ya da geciktirilmesi amacıyla ürünlere eklenen sentetik ya da doğal maddelerdir. Biyokimya ve tıpta antioksidantlar, vitamin E ve  $\beta$ -karoten gibi oksidasyonun canlı dokulardaki zararlı etkilerine karşı koyma kabiliyeti olan enzimler ya da diğer organik maddelerdir (Huang ve diğ., 2005). Serbest radikallerin üretimi ile antioksidant savunması (hem enzimatik hem de enzimatik olmayan) arasındaki dengenin devam ettirilmesi, organizmanın işlevlerini normal olarak sürdürebilmesi açısından vazgeçilmez bir gerekliliktir. Bu denge serbest radikallerin üretimi lehine değişmeye başladığında, organizmanın oksidatif stres altında olduğunu söyleyebiliriz. Bu durumda, haddinden fazla olan serbest radikaller hücresel lipidler, proteinler ve DNA'ya hasar vererek, normal işleyişi olumsuz etkileyebilir ve çeşitli hastalıklara yol açabilir (Ferreira ve diğ., 2009). Reaktif oksijen türlerinin aşırı miktarda üretilmesi durumunda organizmaların doğal antioksidant savunma sistemleri devreye girerek canlıyı bu durumdan kurtarmak üzere antioksidant bileşikler üretir (Rice-Evans ve diğ., 1997). Sekonder metabolit olarak adlandırılan bu bileşikler özellikle bitkiler tarafından bolca üretilir. Genel olarak fenolik bileşikler sınıfında olan bu metabolitler insanlar tarafından beslenme yoluyla tüketildiğinde antioksidant aktivitelerini insan vücudunda da gösterebilirler (Chaudiere ve Ferrari, 1999). Antioksidant aktivitesi olan doğal ürünler savunma sistemine destek olabilir.

Bu açıdan bakıldığında gıdalarda bulunan antioksidantlar, oksidatif hasarın azaltılması açısından çok önemli bir koruyuculuk rolüne sahiptir.

## 1.1 Tezin Amacı

Serbest radikaller, aerobik hücrelerin normal doğal metabolizmalarında, çoğunlukla da reaktif oksijen türleri (ROT) biçiminde üretilirler. Bir kez üretildikten sonra, serbest radikallerin çoğu hücresel antioksidant savunma mekanizmaları (enzimler ve enzimatik olmayan moleküller) tarafından nötralize edilir. Serbest radikallerin üretimi ile antioksidant savunma mekanizmaları arasındaki dengenin devam ettirilmesi organizmanın işlevlerini normal olarak sürdürmesi açısından vazgeçilmez bir gerekliliktir. ROT üretimi ile antioksidant savunma mekanizmaları arasındaki denge, ROT'un aşırı üretimi ya da hücre antioksidant savunmalarının kaybı nedeniyle bozulabilir. Bu dengenin bozulması oksidatif stres olarak bilinir ve bu durumda fazla ROT; hücresel lipidler, proteinler ve DNA'yı okside edebilir ve hasar verebilir böylece, değişmelerine ve normal işlevlerinin kısıtlanmasına yol açabilir. Serbest radikallerin kontrol dışı üretimi kanser, diyabet, siroz, kardiyovasküler hastalıklar ve nörolojik bozukluk türleri de dahil olmak üzere yüzden fazla hastalıkla ilişkilendirilmiştir. ROT'un haddinden fazla üretilmesi aynı zamanda yaşlanma süreciyle de ilişkilendirilmiştir (Ferreira ve diğ., 2009).

Reaktif oksijen türlerinin ayrıca astım, inflamasyon, artrit, norodejenerasyon, parkinson hastalığı, mongolizm ve muhtemelen demansta bile rol oynadıkları rapor edilmiştir (Tepe ve diğ., 2006). Kronik hastalıkların ve ilişkili maliyetlerin % 70'inin önlenebileceği göz önüne alındığında, ROT ve aşırı üretiminin kontrolü hakkındaki bilgiler çok önemlidir (Ferreira ve diğ., 2009). ROT'lar günde yaklaşık 10.000 DNA bazını oksidatif hasara uğratabilmektedir (Yavuz ve diğ., 2002).

Serbest radikallerin neden olduğu hasarı önlemek amacıyla kullanılan sentetik antioksidantların toksik yan etkileri olduğu rapor edilmiştir (Cornwell ve diğ., 1998). Bu da antioksidant ve radikal süpürücü etkileri olan doğal bileşiklerin araştırılmasını çekici kılmaktadır. Son yıllarda, gıdalarda kullanılan bazı sentetik bileşiklerin şüpheli toksitesisi doğal ürünlere olan ilgiyi yükseltmiştir. Bu durum gıda katkı maddesi üretiminde, doğal ürünlerden ekstraksiyon ve saflaştırma ile biyoaktif bileşiklerin hazırlanma çabalarını artırmıştır (Halliwell, 1997). Yapılan çalışmalar polifenolik maddeleri içeren (örneğin; flavonoidler ve tanenler) bazı bitkilerin ve değişik bitki

ekstrelerinin, radikal süpürücü etkileriyle antioksidant aktiviteler gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Kahkonen ve diğ., 1999; Rathee ve diğ., 2006). Yağlı tohumlar, tahıl ürünleri, sebzeler, meyveler, yapraklar, kökler, baharatlar ve şifalı otlar gibi farklı bitkilerden çok sayıda doğal antioksidant izole edilmiştir (Ferreira ve diğ., 2009). A vitamini, C vitamini, E vitamini, karotenoidler, polifenolik bileşikler ve flavonoidler gibi sebze ve meyvelerde bulunan zengin antioksidantlar serbest radikal hasarı ve kronik hastalık riskini azaltır. Bu antioksidant kaynaklarının tüketimi özellikle ateroskleroz ve kalp-damar hastalıklarını önlemede yararlıdır.

Bu çalışmanın amacı, Samsun ili İlkadım ilçesi Doğupark'ta halk arasında değişik amaçlarla çok fazla tüketilen güz yemişinin toplam fenol, toplam flavonoid, toplam antosiyanin,  $\beta$ -karoten, likopen ve C vitamini bileşen analizleri, amonyummolibdennum yöntemi, indirgeme gücü yöntemi, serbest radikal giderme yöntemi, metal-şelat yöntemi, hidroksil radikali giderme yöntemi, süperoksit radikali giderme yöntemi, hidrojen peroksit giderme yöntemi, lipid peroksidasyon inhibisyon yöntemi, deoksiriboz yöntemi, ABTS<sup>•+</sup> radikal giderme yöntemleri ile antioksidant aktiviteleri, üreaz inhibisyon yöntemi ile IC<sub>50</sub> değerlerini belirleyerek, güz yemişinin sentetik antioksidantların yerine kullanılabilirliğini değerlendirmektir. Çalışmada güz yemişinin meyvesi ve yaprağı kullanılmıştır. Ayrıca güz yemişi ile birlikte doğal antioksidantlar (C ve E vitamini) ve sentetik antioksidantlar (BHT, BHA, TBHQ ve Troloks) pozitif kontrol olarak alınıp, antioksidant aktiviteleri karşılaştırılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Serbest Radikaller

Bir serbest radikal, dış yörüngesinde çiftleşmemiş elektronları olan her türlü atom ya da molekül olarak tanımlanır. Genellikle istikrarsız ve son derece reaktiftirler (Ferreira ve diğ., 2009). Serbest radikaller, ortaklanmamış elektronunun belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta ( $X\cdot$ ) ile gösterilirler (Akkuş, 1995). Serbest radikaller küçük moleküllerdir ve boyutlarının küçük olması hücre membranlarından kolaylıkla geçmelerine olanak sağlar, düşük aktivasyon enerjisine sahiptirler ve kısa ömürlüdürler (Jensen, 2003). Çok kısa ömürlü olmalarına rağmen, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapabilirler. Bunun sonucunda bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler (Akkuş, 1995).

Serbest radikaller ve oksijen türevi serbest radikaller nükleik asitler, serbest aminoasitler, proteinler, lipitler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makro molekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısında bulunan hemen hemen bütün sınıflara dahil bileşiklerle reaksiyona girerek tersinir veya tersinmez hasar meydana getirilebilmektedirler (Cross ve diğ., 1987). Serbest radikaller vücuttan uzaklaştırılmazsa; kanser, kalp hastalıkları, erken yaşlanma, artrit gibi riskleri artırır. Bunların yanında baş ağrıları, halsizlik, yorgunluk gibi günlük olarak şikayet ettiğimiz rahatsızlıklara da neden olabilmektedir (Güder, 2008).

İnsanlarda fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşan reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif azot türleri (RNT) ve reaktif klor türleri organizmadaki başlıca serbest radikallerdir (Fang ve diğ., 2002).

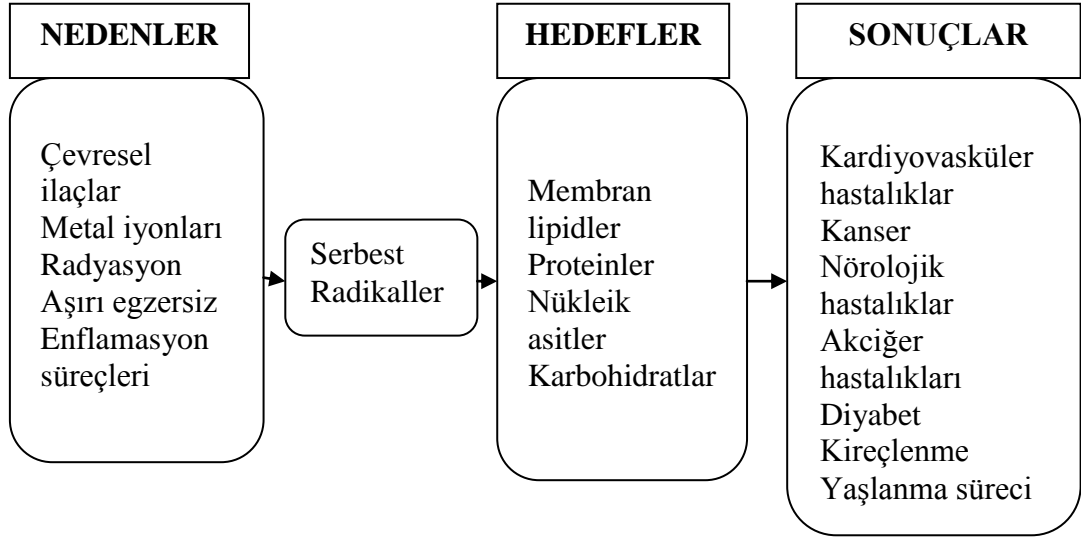
Orbitalinde bir ya da daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan halojen atomlar (Cl ve Br), hidrojen atomu, Na, K gibi alkali metal atomları ve oksijenin indirgenme ara ürünleri süperoksit ( $O_2\cdot^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil ( $OH\cdot$ ), gibi bağımsız, kısa ömürlü, reaktif türler serbest radikal olarak tanımlanmaktadır. Bilinen başlıca radikal türleri Çizelge 2.1' de gösterilmiştir (Harris, 1992).

**Çizelge 2.1.** Sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri

| <b>Radikal</b>      | <b>Simge</b>                  | <b>Kimlik</b>   |
|---------------------|-------------------------------|---|
| Hidrojen            | H <sup>•</sup>                | Bilinen en basit radikal  |
| Süperoksit          | O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>  | Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü                                |
| Hidroksil           | OH <sup>•</sup>               | En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal                        |
| Hidrojen peroksit   | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf                |
| Singlet oksijen     | O <sub>2</sub>                | Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu                   |
| Perhidroksi radikal | HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>  | Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır             |
| Peroksil radikal    | ROO <sup>•</sup>              | Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur       |
| Triklorometil       | CCl <sub>3</sub>              | CCl <sub>4</sub> metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal |
| Tiol radikali       | RS <sup>•</sup>               | Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı           |
| Alkoksil            | RO <sup>•</sup>               | Organik perositlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti           |
| Azot monoksit       | NO                            | L-arjinin amino asitinden <i>in vivo</i> üretilir                     |
| Azot dioksit        | NO <sub>2</sub>               | NO' in oksijen ile reaksiyonundan üretilir                            |

### 2.1.1 Oksidatif stres

Serbest radikaller, aerobik hücrelerin normal doğal metabolizmalarında, çoğunlukla da reaktif oksijen türleri (ROT) biçiminde üretilirler. Bir kez üretildikten sonra, serbest radikallerin çoğu hücrel antioksidant savunma mekanizmaları (enzimler ve enzimatik olmayan moleküller) tarafından nötralize edilir. Serbest radikallerin üretimi ile antioksidant savunma mekanizmaları arasındaki dengenin devam etmesi organizmanın işlevlerini normal olarak sürdürmesi açısından vazgeçilmez bir gerekliliktir. ROT' un faydalı etkileri düşük ya da orta seviyedeki konsantrasyonlarda meydana gelir ve sinyalizasyon ile regülasyonun hücrel fizyolojik rollerini kapsar. Yine de, ROT üretimi ile antioksidant savunma mekanizmaları arasındaki denge, ROT'un aşırı üretimi ya da hücre antioksidant savunmalarının kaybı nedeniyle bozulabilir. Bu dengenin bozulması oksidatif stres olarak bilinir ve bu durumda fazla ROT; hücrel lipidler, proteinler ve DNA'yı okside edebilir ve hasar verebilir böylece, değişmelerine ve normal işlevlerinin kısıtlanmasına yol açabilir. Oksidatif stresin nedeni, aşırı egzersiz veya enflamasyon süreçleri gibi doğal nedenler ya da organizmadaki zenobiyotiklerin varlığı veya organizmada çeşitli hastalıklara bağlı gerçekleşen durumlar olabilir (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** Başlıca serbest radikal (oksidatif stres) üretiminin nedenleri, oksidatif stresin olası hücrel hedefleri ve sonuçları.

Aslında, serbest radikallerin kontrol dışı üretimi kanser, diyabet, siroz, kardiyovasküler hastalıklar ve nörolojik bozukluk türleri de dahil olmak üzere yüzden fazla hastalıkla ilişkilendirilmiştir. ROT'un haddinden fazla üretilmesi aynı zamanda yaşlanma süreciyle de ilişkilendirilmiştir. Kronik hastalıkların ve ilişkili maliyetlerin % 70' inin önlenebileceği göz önüne alındığında, ROT ve aşırı üretiminin kontrolü hakkındaki bilgiler çok önemlidir. Bu kontrol beslenme kalitesini (daha fazla sebze, baklagiller ve meyve tüketimi) arttırmak veya daha yüksek ROT üretimine neden olabilecek tütün kullanımı, çevresel kirleticilere aşırı maruz kalma ve zenobiyotikler gibi davranışlardan kaçınılması yoluyla iyi bir antioksidant ve serbest radikal temizleyicileri seviyesinin sürdürülmesi sayesinde sağlanabilir (Ferreira ve diğ., 2009).

### 2.1.2 Reaktif oksijen türleri

Birçok radikal türü olmasına karşın, biyolojik sistemlerde en çok görülen oksijenden oluşan ve ortak olarak reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan radikallerdir. Oksijenden türeyen bu radikaller canlı sistemlerde en önemli sınıfı temsil etmektedir. Moleküler oksijenin ardışık olarak indirgenmesiyle reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Güçlü ve diğ., 2009).

### 2.1.2.1 Süperoksit radikali

Moleküler oksijene bir elektron eklenmesi, “birincil” ROT olarak kabul edilen, süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) oluşturur. Süperoksit anyonunun oluşumu;



Süperoksit anyon çoğunlukla, mitokondriyal elektron aktarım sistemindeki (ETS) küçük fakat süreklilik gösteren elektron sızıntısı nedeniyle, mitokondride üretilir. Bu elektronlar oksijeni suya indirgemek yerine süperoksit anyonları üretirler. Süperoksit anyon, hücrede bulunan NADPH oksidazları ve ksantin oksidaz gibi farklı endojenöz enzimatik sistemler tarafından da üretilebilir.  $O_2^-$  'nin çeşitli hastalıklarla ilişkisi vardır. Her ne kadar  $O_2^-$  çok aktif bir radikal olmasa da, diğer moleküllerle etkileşime girerek hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikal ( $OH^\cdot$ ) gibi “ikincil” ROT’lar olarak görülen türleri üretebilir (Ferreira ve diğ., 2009).

### 2.1.2.2 Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton ( $H^+$ ) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.

Moleküler oksijenden hidrojen peroksit oluşumu;



Süperoksit radikalinden hidrojen peroksit oluşumu;



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar.



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde ROT kapsamındadır ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar.  $Fe^{+2}$  veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu (Denklem 2.5) sonucu ve süperoksit radikalinin

varlığında Haber-Weiss reaksiyonu (Denklem 2.6) sonucu en aktif ve zararlı olan hidroksil radikalini oluşturur (Altınışık, 2000).

### 2.1.2.3 Hidroksil radikali

Hidroksil radikalinin yaşam süresi çok sınırlıdır, fakat DNA moleküllerine saldırarak pürinler ile primidinler ve deoksiriboz DNA yapısına hasar verdiği için tüm ROT'lar arasında en toksik olarak kabul edilir. Hidroksil radikali, hidroksit iyonun nötral biçimidir ve geçiş metallere H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' ye elektron transferiyle oluşur. Hidroksil radikalinin üretiminden hemen sonra biyomoleküllerle etkileşime girer. Bunun sonucunda oksidatif stresin genetik malzemede neden olduğu kalıcı hasarlar mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımını temsil edebilir (Ferreira ve diğ., 2009). Hidroksil radikalinin oluşmasına Fenton reaksiyonu yada Haber-Weiss reaksiyonu neden olabilir (Altınışık, 2000).

Fenton reaksiyonu;



Haber-Weiss reaksiyonu;



### 2.1.3 Reaktif nitrojen türleri

Reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak adlandırılan nitrojenli radikallerin varlığına dikkat edilmesi de önemlidir. Birincil RNT nitrik oksit (NO<sup>·</sup>) 'tir ve biyolojik dokularda nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NO<sup>·</sup> nöroaktarım, kan basıncının düzenlenmesi, savunma mekanizmaları ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi de dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyalleşme molekülü olarak davranan bol bulunan reaktif bir radikaldir. RNT' nin fazla ekspresyonu, nitrosatif stres olarak adlandırılır ve proteinlerin nitrosilasyonuna yol açabilir ve böylece normal işleyişlerini etkiler. Bağışıklık sistemi hücreleri, enflamatuvar süreçte tetiklenen oksidatif patlama esnasında hem süperoksit anyon hem de nitrik oksit üretirler. Bu koşullar altında, NO<sup>·</sup> ciddi miktarlarda peroksinitrit anyon (ONOO<sup>-</sup>) üretmek üzere O<sub>2</sub><sup>·-</sup> ile reaksiyona

girebilir ki, bu da DNA' nın parçalanması ve lipid oksidasyona yol açabilecek güçlü bir oksitleme ajanıdır (Ferreira ve diğ., 2009).

#### 2.1.4 Serbest radikallerin oluşumu

Serbest radikaller üç yolla meydana gelir:

1. Bir moleküldeki herhangi bir kovalent bağın homolitik bölünmesi,



2. Herhangi bir molekülden tek bir elektron kaybı veya molekülün heterolitik bölünmesi ile,



3. Bir moleküle elektron katılması ile,



radikalik türevlerin oluşması mümkündür (Akkuş, 1995).

#### 2.1.5 Serbest radikallerin kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu normal metabolik olayların seyri sırasında oluşabildiği gibi organizmanın çeşitli dış etkenlere maruz kalmasıyla da oluşabilir. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen olarak iki gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.2) (Özen, 2003).

## Çizelge 2.2. Hücredeki serbest oksijen radikallerinin kaynakları

### 1. Endojen Kaynaklar

Mitokondriyal Elektron Taşıma Sistemi

Mikrozomal Elektron Taşıma Sistemi

Kloroplast Elektron Taşıma Sistemi

Oksitleyici Enzimler

- Ksantin oksidaz
- İndolamin dioksijenaz
- Triptofan dioksijenaz
- Galaktoz oksidaz
- Siklooksijenaz
- Lipooksijenaz
- Monoaminooksidaz

Fagositik Hücreler

- Nötrofiller
- Monositler ve makrofajlar
- Eozinofiller
- Endotelial hücreler

### 2. Ekzojen Kaynaklar

Diyetsel

- Doymamış yağ asitleri ve hayvansal proteinler bakımından zengin, sebze ve meyve bakımından fakir beslenme
- Şişmanlık
- Aşırı demir ve bakır alımı
- Gıdaların uygun olmayan koşullarda hazırlanması ve saklanması
- Alkol

Çevresel

- İyonize edici radyasyon
- Hava kirliliği
- Sigara
- Asbest ve pestisitler gibi kirleticiler
- Güneş ışığı
- Stres
- Isı şoku

İlaçlar

- Glutatyon tüketen ilaçlar

#### 2.1.6 Serbest radikallerin etkileri

Mitokondriler en önemli ROT kaynaklarıdır, fakat aynı zamanda bu radikallerin de ilk hedefleridir. Çünkü ROT'un serbest radikallerin ataklarına karşı hassas olan membran lipidlerine erişimi kolaydır. Bu saldırı lipid peroksidasyon olarak adlandırılır ve farklı ROT tiplerinin üretimini teşvik eder. Lipid peroksidasyon genellikle hidrojen atomunun çoklu doymamış lipid (LH) zincirinden HO<sup>•</sup> gibi reaktif türlerin faaliyeti yoluyla çıkmasıyla başlar. Bu, bir peroksil radikalini (LOO<sup>•</sup>)

oluşturmak üzere  $O_2$  ile etkileşebilen son derece reaktif bir lipid radikalini ( $L^{\cdot}$ ) üretir. Eğer antioksidant savunmalar tarafından nötralize edilmezse, peroksil radikali diğer komşu lipidlerle etkileşerek, yeni  $L^{\cdot}$  radikalleri oluşturmak üzere kolaylıkla çözünebilen ve zincirleme propagasyon reaksiyonları olarak bilinen bir süreci tetikleyebilen hidroperoksit lipidlerini (LOOH) üretir. Eğer durdurulmazsa bu süreç reaksiyonu başlatan ROT' tan çok daha büyük bir hasara yol açabilir (Ferreira ve diğ., 2009).

Serbest radikal hasarları; hücreyi oluşturan organellerle, bu organellerin supramoleküller yapılarının içerdiği moleküler bileşiklerle ilişkilidir. Bunlar, yapı sitozol içerisindeki mitokondriler, lizozomlar, peroksizomlar, nükleus, endoplazmik retikulum ve plazma membranıdır. Bunların tamamı membranlı yapılardır ve hücrenin metabolik fonksiyonları için gerekli elemanlardır. Bu membranlı yapıların en temel bileşikleri; proteinler, lipidler ve düşük oranda karbonhidratlardır. Serbest radikal molekülleri bu membranlar ile etkileştikleri zaman, lipid peroksidasyonuna neden olup membran yıkımına yol açarlar (Özen, 2003).

Serbest radikaller yüksek aktiviteye sahip bileşiklerdir ve kirli havalarda, sigara dumanında, radyasyonda (ışınım), bitki koruma ilaçlarında, bozulmuş gıdalarda ve normal vücut metabolizmasında (metabolik süreçte) bulunurlar. Serbest radikaller vücuttaki hücrelere saldırır ve tahrip eder. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşur ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar. Serbest radikaller, hücre membranına saldırdığında doymamış yağ asidi molekülleri değişime uğrar. Bu bitkisel yağların da acılaştırmasına sebep olan bir değişiktir. Lipidler vücutta değişime uğradığında; hücre membranının yapısı ve fonksiyonları zarara uğrar. Hücre membranı, gıdaların, oksijenin, suyun uzun süreli olarak transferini yapamaz ve harcanan ürünlerin atılmasını düzenleyemez. Serbest radikal saldırısının devamı; hücre membranının yapısında bulunan lipidlerin parçalanmasına, bitki membranının yırtılmasına ve hücre bileşenlerinin dağılmasına sebep olur. Hücre içi bileşenlerin hücre dışına akması etraftaki dokulara da zarar verir. Serbest radikal saldırısı ve hücre membranının tahribatı, oksidatif hasar olarak adlandırılır. Serbest radikallerin dokulardaki zararının, damar sertliği (ateroskleroz) ve kalp hastalıklarının başlıca nedeni olduğu düşünülmektedir. Oksidatif zararlar parçalanmış kan hücrelerinin atardamar duvarlarına yapışması ve kolesterolün yükselmesi, atardamarlara zarar verir. Bu oluşumların tümü, damar sertliğinin ilerlemesine sebep olur. Daha ileri safhalarda ise; kardiyovasküler hastalıklar, kalp ile beyine giden kan

ve oksijenin azalması gelir. Oksijen yetersizliğine maruz kalan dokularda; hastalığın gelişmesini hızlandıran ve kişilerin kalp krizi geçirme riskini arttıran serbest radikal etkisi görülür. Serbest radikaller aynı zamanda hücrelerin genetik kodunu taşıyan, hücrenin üretimini ve büyümesini sağlayan nükleik asitlere (DNA ve RNA) de etki eder. Hücreler genetik kodları değiştiğinde ölebilirler çünkü ana hücreden gelen mesajı uzun süreli olarak okuyamazlar. Aşırı hücre ölümü erken yaşlanmaya ve hücrelerin değişimine neden olur. Bunun sonucunda da kanser ve benzeri hastalıkları destekleyen hücre hasarları oluşur. Hücredeki enerji üretim merkezi (mitokondri), serbest radikallerin saldırısı ile zarar görür. Bu merkezdeki oksidatif zarar enerji üretimi ve protein sentezinin durmasına sebep olur ve hücre yavaş yavaş ölür. Dokulardaki hücre yaşlanması; serbest radikallerin zararları sonucu dokuların erken yaşlanması ile oluşan hücre kalıntılarının çoğalmasındır (Güder, 2007).

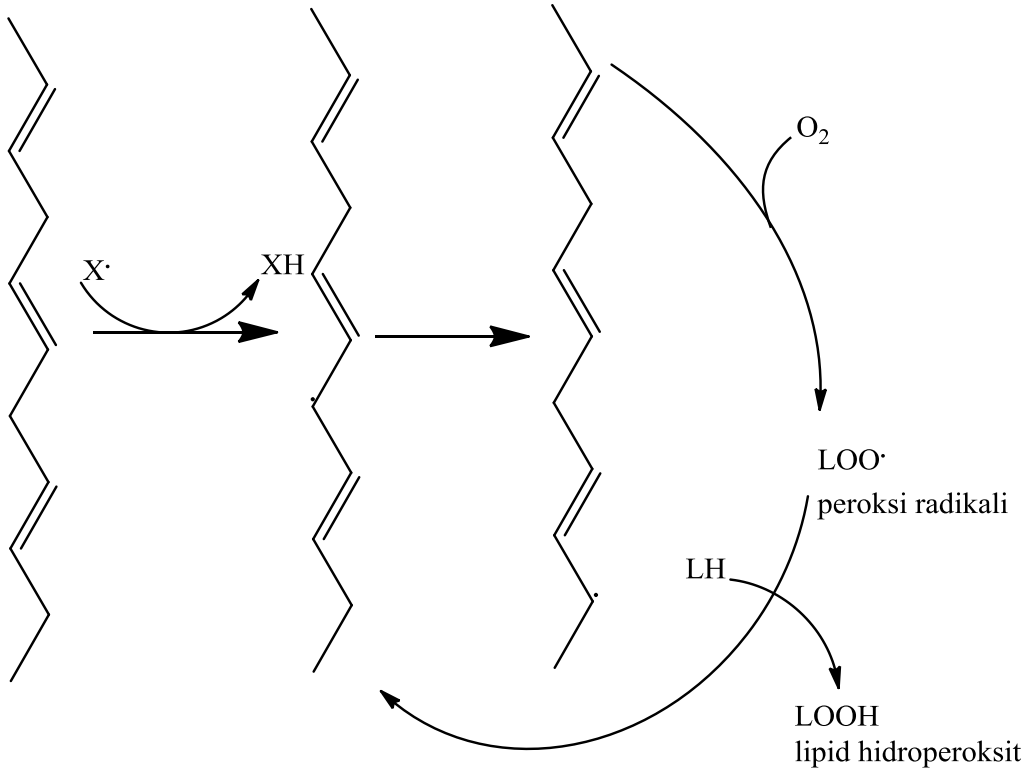
ROT' nin oluşumu inflamasyon, radyasyon, yaşlanma, ozon (O<sub>3</sub>) ve azot dioksit (NO<sub>2</sub>), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar (Altınışık, 2000).

Serbest radikallerin biyolojik açıdan zararlarını aşağıdaki başlıklar altında toplayabiliriz.

### **2.1.6.1 Membran lipidlerine etkileri**

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarını aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin büyük bir kısmı serbest radikaller tarafından etkilenir, fakat lipidler en hassas olanıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poli doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poli doymamış yağ asidi zinciri ile lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir. Lipid peroksit radikalleri, membran yapısındaki diğer poli doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de

açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek zincir reaksiyonlar şeklinde devam eder (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Poli doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu.

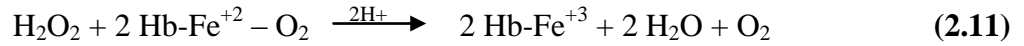
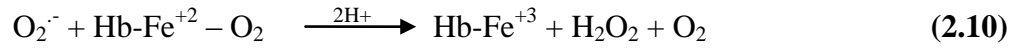
Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler oluşturarak diğer hücre bileşenlerine zarar verirler. Böylelikle, birçok hastalığa ve doku hasarına neden olur. Lipid radikalleri hidrofobik yapıda olduğundan reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran geçirgenliği ve mikroviskozitesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan malondialdehitler, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerisasyonuna sebep olur. Bunun sonucu deformasyon, iyon geçişi, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi farklı şekillerde membran özelliklerini değiştirir (Özen, 2003).

### 2.1.6.2 Proteinlere etkileri

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikaller reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Özellikle

sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Bu reaksiyonlar sonucu immüoglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Nitekim serum proteinlerinde, kataraklı lens proteinlerinde ve inflamatuvar eklem hastalığı olan kişilerin eklem sıvılarındaki immüoglobülin G'lerin de serbest radikal hasarı tespit edilmiştir. Ayrıca serbest radikallerle muamele edilen immüoglobülin G'lerin romatoid faktör antikoları ile bağlanmalarının arttığı görülmüştür. Böylece daha fazla immün kompleks oluştururlar ki bunlar daha fazla radikal üretirler. Serbest radikal ve immün kompleks oluşumu arasındaki bu etkileşme, romatoid artritteki inflamasyonun bazı özelliklerini kısmen açıklar.

“Hem” proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin  $O_2^-$  veya  $H_2O_2$  ile reaksiyonu methemoglobin oluşmasına sebep olur (Özen, 2003).

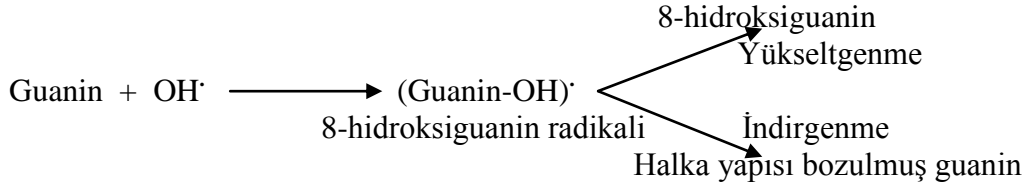


### 2.1.6.3 Nükleik asitlere etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksite, büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyonlara girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre modifikasyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Bu yüzden DNA, serbest radikallerden kolay zarar görebilir önemli hedeftir. Süperoksit maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiğinde daha fazla antijenik etki gösterir, bu oldukça önemli bir etkidir.

Serbest radikaller kanserin başlangıç, ilerleme ve gelişme safhalarında etkili olmakla beraber bu etki ilerleme safhasında daha belirgin, diğer safhalarda nispeten daha azdır. Serbest radikaller sonucu DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkogenlerde aktivasyon meydana gelir. Süperoksit üretimi özellikle mitokondride daha fazla olduğundan mitokondrial DNA daha fazla hasar görür.

DNA yakınlarında sentezlenen hidroksil radikalleri pürin ve pirimidin bazlarına saldırarak mutasyona sebep olur. Oksidatif stresten en çok etkilenen bazlar DNA daki guanin ve sitozindir. Deoksiguanozindeki 8 numaralı karbona bir oksijen atomu bağlanması 8- hidroksiguanozin oluşturur. Bu bileşik fizyolojik pH da 8-oksoguanozine dönüşür ki bu da DNA da anormal baz dizilişine ve bu nedenle mutasyona sebep olur (Şekil 2.3) (Özen, 2003).



**Şekil 2.3.** Hidroksil radikallerinin DNA'ya etkileri.

#### 2.1.6.4 Karbohidratlara etkileri

Monosakkaritlerin oksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve oksialdehitler meydana gelirler. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patojenik süreçlerde önemli rol oynar. Hücrede karbonhidratlar üzerine serbest radikallerin etkisi çeşitli şekillerde ortaya çıkmaktadır. Özellikle glikoz, mannitol ve bazı sakkarit türevleri, hidroksil radikalleri ile reaksiyon verirler. Monosakkaritlerin yükseltgenmesi ile oluşan çeşitli peroksit türevleri ve oksialdehitler, protein ve nükleik asitler gibi diğer biyomoleküllerle etkileşerek ve bu moleküller üzerinde çapraz bağlar oluşturarak moleküllerin yapısını bozabilmektedir. Böylece oluşacak hasar hücre yaşlanması veya kanserle sonuçlanabilir (Özen, 2003).

## 2.2 Antioksidantlar

Antioksidantlar serbest radikalleri ve serbest radikallerin meydana getirdiği zararları önleyen maddeler olarak tanımlanırlar (Aydemir ve Sarı, 2009).

Sağladığı sağlık faydalarının kitlesel medya vasıtasıyla kazandığı kamusal yaygınlık nedeniyle "antioksidant" kelimesi modern toplumda gittikçe popüler hale gelmektedir. Antioksidantın sözlükteki tanımı: "Oksidasyona karşı koyan ya da oksijen ya da peroksitler tarafından tetiklenen reaksiyonları baskılayan madde, bu maddelerin çoğu (tokoferollerde olduğu gibi) çeşitli ürünlerde (yağlar, sıvı yağlar, gıda ürünleri ve sabunlarda bozulmayı geciktirmek, gazolin ve diğer petrol ürünlerinde sakız oluşumu ve istenmeyen diğer değişimleri, lastiklerdeki eskimeyi

geciktirmek için) koruyucu olarak kullanılmaktadır". Antioksidantların biyolojik açıdan daha ilgili bir tanımı şudur: havadaki oksijenin etkisiyle bozunumları önlemek ya da geciktirilmesi amacıyla ürünlere eklenen sentetik ya da doğal maddelerdir. Biyokimya ve tıpta antioksidantlar; vitamin E ve  $\beta$ -karoten gibi oksidasyonun canlı dokulardaki zararlı etkilerine karşı koyma kabiliyeti olan enzimler ya da diğer organik maddelerdir (Huang ve diğ., 2005). İnsanların lastik otoksidasyonunun önlenmesinden ziyade sağlıklarının daha çok farkında olmalarından dolayı, biyolojik tanım kamunun geneli tarafından bilinen antioksidant kavramına daha iyi oturmaktadır.

Bilimsel disipline dayalı olarak, kapsam ve koruma hedefleri oldukça farklıdır. Kimya endüstrisinde, antioksidantlar genellikle lastik ve plastik gibi kimyasal bir ürünün otoksidasyonunu geriletken bileşikler anlamını taşır. Otoksidasyona birincil olarak oksijen ve substratlar arasındaki radikal zincirleme reaksiyonlar neden olur. Etkili antioksidantlar, radikal zincir kırıcı ve radikal süpürücülerdir. Gıda biliminde, antioksidantların daha geniş bir kapsamı vardır ve bunlar arasında diyetel antioksidantların yanı sıra gıdalardaki yağların bozulmasını engelleyen bileşikler vardır. Tıp Enstitüsü tarafından yapılan tanıma göre reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin insanlardaki normal fizyolojik işlevler üzerindeki olumsuz etkilerini ciddi biçimde azaltan ve gıdalarda bulunan bir madde olarak verilmektedir. Diğer tanımlar gibi, bu tanım da antioksidant eylem mekanizmalarına kısıtlama getirmez. Dolayısıyla, diyetel bir antioksidant radikal zincirleme reaksiyonları durdurmak için reaktif oksijen/nitrojen türlerini (ROT/RNT) özveriyle süpürebilir ya da daha en başından reaktif oksidanların oluşumunu baskılayabilirler. Diyetel antioksidantlar genellikle geniş kapsamlı olacak şekilde radikal zincir baskılayıcıları, metal şelatörleri, oksidatif enzim baskılayıcıları ve antioksidant enzim kofaktörlerini içerir. Selenyum, peroksitleri alkol ve suya indirgeyen bir selenoprotein kofaktörüdür (mesela glutatyon peroksidaz). Selenyum kendiliğinden doğrudan bir ROT/RNT süpürücü olarak işlev göstermez, dolayısıyla selenyum bileşiklere ilişkin bildirilen in vitro antioksidant kapasitesi, selenyumun biyolojik sistemdeki rolüyle tamamıyla ilgisizdir. Cansız bir maddenin otoksidasyonu radikal zincirleme reaksiyonlarla meydana gelirken, biyolojik bir sistemdeki oksidasyona birincil olarak bir dizi redoks enzimler aracılık eder. Buna rağmen, hala radikal zincirleme reaksiyonu vasıtasıyla nonenzimatik lipid otoksidasyon meydana gelebilir ve oksidatif strese yol açabilir. Buna bağlı olarak, biyolojik antioksidantlar arasında (süperoksit dismutaz, katalaz ve

glutasyon peroksidaz gibi) enzimatik antioksidantlar ve oksidatif enzim (mesela siklooksijenaz) baskılayıcılar, antioksidant enzim kofaktörleri, ROT/RNT süpürücüler ve geçiş metal şelatörleri gibi nonenzimatik antioksidantlar vardır. Biyolojik antioksidantlar "korumaları gereken biyomoleküllerle karşılaştırıldıklarında küçük konsantrasyonlarda bulduklarında biyomoleküller üzerindeki oksidatif stresin seviyesini düşüren ya da engelleyen moleküller" olarak tanımlanmıştır (Halliwell, 1990).

Düzgün çalışan bir metabolizma da mitokondriyel sitokrom sistemi, sitozoldaki organelleri oksidanların zararlı etkilerinden korur. Enzimlerce etkisiz hale getirilemeyen oksidanlar ilk olarak hücre membranındaki lipidleri etkilemektedir. Bu etki ile lipid peroksidasyon başlamaktadır. Lipid peroksidasyonunda, membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), serbest radikalleri tarafından peroksitlenmektedir. PUFA'nın alkoller, aldehitler gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Bu yıkılma ile ortaya çıkan biyoaktif aldehitler hücre hasarına neden olmaktadır (Halliwell, 1991). Lipid peroksidasyonu sırasında yeterli düzeyde E vitamini ve C vitamini gibi antioksidant vitaminlerin bulunması halinde bu tip hücresel hasarların önüne geçilmektedir (Gökpinar ve diğ., 2006).

Halkın geneli, tıp ve beslenme uzmanları ile sağlık ve gıda bilimi araştırmacıları açısından antioksidant kapasitesinin ve tükettiğimiz gıdaların içeriklerinin bilinmesi çok önemlidir. Bir gıda karışımındaki antioksidant bileşikler arasındaki muhtemel sinerjetik etkileşimlere rağmen, gıdaların bileşimlerinin karmaşıklığından dolayı, her bir antioksidant bileşiğin ayrılması, incelenmesi maliyetli ve verimli değildir. Dolayısıyla araştırmacılar açısından antioksidantların hastalıkların önlenmesindeki etkinliklerinin hızlı bir şekilde sayısallaştırılması çok caziptir. Ancak, bu tür yöntemlerin hala geliştirilmeleri gerekmektedir. Tek bir kimyasal reaksiyonu kullanan bir toplam antioksidant kapasitesi testi gerçekçi görünmemektedir ve karşılaşmak da kolay değildir, yine de toplam antioksidant kapasitesini *in vitro* olarak ölçtüklerini iddia eden çok sayıda yayınlanmış yöntem vardır. En büyük sorun gıdalar ve biyolojik numunelerin antioksidant kapasitelerini güvenilir biçimde ölçebilecek geçerliliği kanıtlanmış bir testin olmamasıdır. Çeşitli incelemeler yayınlanmıştır ve fikirler ciddi farklılıklar göstermektedir. Öyle görünmektedir ki fikirler arasında bir uzlaşma yoktur ki, bunun nedeni kuvvetle muhtemelen antioksidantlar alanının çok karmaşık bir başlık olmasıdır. Frankel ve Meyer (2009) tarafından gerçekleştirilen bir incelemede, çok işlevli gıda ve biyolojik

antioksidantların değerlendirilmesinde tek boyutlu yöntemlerin kullanımının sorunlu bir konu olduğuna dikkat çekmişlerdir. Antioksidantlar başlığının karmaşıklığına ilave olarak sorunlu yöntemlerin uygunsuz kullanımının yarattığı kafa karışıklığı antioksidant araştırmaları toplumunda ve endüstrisinde karmaşaya yol açmaktadır. Standart bir testin olmamasından dolayı, farklı araştırma gruplarından elde edilen sonuçların karşılaştırılması zordur ve gıda endüstrisi antioksidant ürünleri için katı bir kalite kontrolü gerçekleştirememektedirler. Çeşitli antioksidant kapasitesi testlerinin artı ve eksilerini yönelik açık bir tartışmaya ihtiyaç vardı ki böylece antioksidant araştırmacıları tarafından geniş kapsamlı bir kabul görecektir standart bir testin geliştirilmesi için geçerliliği kanıtlanmış kıstas yöntemleri tespit edilebilir (Huang ve diğ., 2005).

Antioksidantlar, yükseltgenebilen substratlara oranla daha düşük derişimlerde, substratın prooksidanlarla başlatılan oksidasyonunu önemli derecede engeller veya geciktirirler. Prooksidanlar (ROT, RNT, serbest radikaller) ; lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebep olan ve bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylara ve hastalıklara yol açan toksik maddelerdir. Antioksidantlar, hücrelere zararı olan bu prooksidanları düşük toksiteli ya da toksik olmayan ürünlere indirgerler. Bu tehlikeli bileşiklerin varlığı, sağlıklı bir yaşam için antioksidantları önemli kılmaktadır (Cao ve Prior, 1999). Antioksidantlar vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıdalar yoluyla da alınabilmektedir. Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidantlar, esas olarak vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Çoğu araştırmada meyve ve sebze tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir ilişki olduğu saptanmıştır (Güçlü ve diğ., 2009).

Antioksidantların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Bu bileşikler oksidatif sistemde farklı şekillerde davranabilirler. Örneğin; singlet oksijeni sönmeye uğratarak oksijen derişimini düşürebilirler. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri tutma özelliğini kullanarak zincir reaksiyonlarının başlamasını önlerler, metal iyon katalizörlerini bağlarlar. Antioksidantlar yükseltgenebilen maddeler olduğundan zincir reaksiyonlarını (örneğin, lipidlerin oksidatif parçalanmasına yol açan radikalik zincir reaksiyonunu) koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidantlar yükseltgenebilen maddeyi (örneğin biyolojik makromolekülleri) yalnız sınırlı bir zaman için

koruyabilir ve belli bir noktadan sonra madde ortamda hiç antioksidant yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder. Antioksidantların kimyasal aktiviteleri, diğer bir deyimle, hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri genellikle onların serbest radikal tutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilir. Zincir koparıcı antioksidant aktivitenin değerlendirilmesinde antioksidantın hem molekül başına verebildiği elektron ya da giderebildiği serbest radikal sayısı, hem de reaksiyon hızı önemlidir. Bir antioksidantın aktivitesi;

- Radikal süpürme yeteneği
- Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterebildiği reaktivite (Genelde indirgeme potansiyeline bağlı.)
- Metal şelatlama potansiyeli
- Diğer antioksidantlarla olana etkileşim faktörlerine bağlıdır (Güçlü ve diğ., 2009).

Antioksidantlar, gıdalarda doğal olarak buldukları gibi, gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besin değerlerini muhafaza etmek amacıyla sonradan da eklenirler. Gıdaların acılaşmasını, bozulmasını geciktirici özelliğe sahip kimyasal maddelerdir. Özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarlarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir (Keskin ve Erkmen, 1987).

### **2.2.1 Antioksidant sistemleri**

Serbest radikallerinin oluşumunu ve meydana getirdiği hasarları önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bunlar antioksidant savunma sistemleri olarak bilinir.

Antioksidantlar serbest radikallere dört ayrı şekilde etki ederler:

- 1) Yok edici antioksidantlar:** Etkilerini serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek gösterirler. Antioksidant enzimler ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- 2) Baskılayıcı antioksidantlar:** Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürerek etki ederler. Vitaminler, flavonoidler ve mannitol bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Zincir kırıcı antioksidantlar: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak, zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyerek etki ederler. Mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Onarıcı etkiye sahip antioksidantlar: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarları onararak etki ederler.

Antioksidantlar hücrel yerleşimlerine göre sınıflandırılabilirler (Çizelge 2.3), endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler (Çizelge 2.4). Eksojen antioksidantlar; vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidantları olarak sınıflandırılabilirler (Altınışık, 2000; Özen, 2003; Güder, 2008).

**Çizelge 2.3.** Antioksidantların hücrel yerleşimlerine göre sınıflandırılması

| <b>İntrasellüler Antioksidantlar</b>  | <b>İşlev</b>   |
|---------------------------------------|--|
| SOD (Cu, Zn, Mn)*                     | $O_2^{\cdot -}$ ' i katalitik olarak uzaklaştırmak   |
| Katalaz                               | Yüksek konsantrasyonlarda $H_2O_2$ ' i uzaklaştırmak   |
| Glutatyon peroksidaz (Se)*            | $H_2O_2$ ve organik hidroperoksitleri uzaklaştırmak  |
| Sitokrom oksidaz (Cu)*                | Mitokondride $O_2$ ' nin indirgenmesi sırasında reaktif oksijen türlerinin salınımını engellemek |
| <b>Membrandaki Antioksidantlar</b>    | <b>İşlev</b>   |
| E vitamini                            | Yağda çözünen, zincir kıran antioksidant   |
| $\beta$ – karoten                     | Yağda çözünen, radikal ve $^1O_2$ yakalayıcısı   |
| Koenzim Q                             | Radikal yakalayıcısı   |
| Membran yapısı                        | Fosfolipid / kolesterol oranını oluşturması  |
| <b>Ekstrasellüler Antioksidantlar</b> | <b>İşlev</b>   |
| Transferrin                           | Ferrik iyonları bağlama (1 mol $Fe^{3+}$ bağlar)   |
| Laktoferrin                           | Düşük pH değerlerinde ferrik iyonları bağlama  |
| Haptoglobini                          | Hemoglobini bağlama  |
| Albümin                               | Cu ve hem grubunu bağlama, HOCl' i yakalama  |
| SOD                                   | $O_2^{\cdot -}$ ' i katalitik olarak uzaklaştırmak   |
| GSHPx                                 | $H_2O_2$ ve hidroperoksitleri uzaklaştırmak  |
| Billirubin                            | Peroksit radikallerini yakalama  |
| Ürik asit                             | Radikal yakalama ve metal bağlama  |
| Glukoz                                | HO $\cdot$ yakalama  |
| Askorbik asit                         | HO $\cdot$ yakalama  |
| Eritrosit                             | $O_2^{\cdot -}$ ve $H_2O_2$ yakalama   |

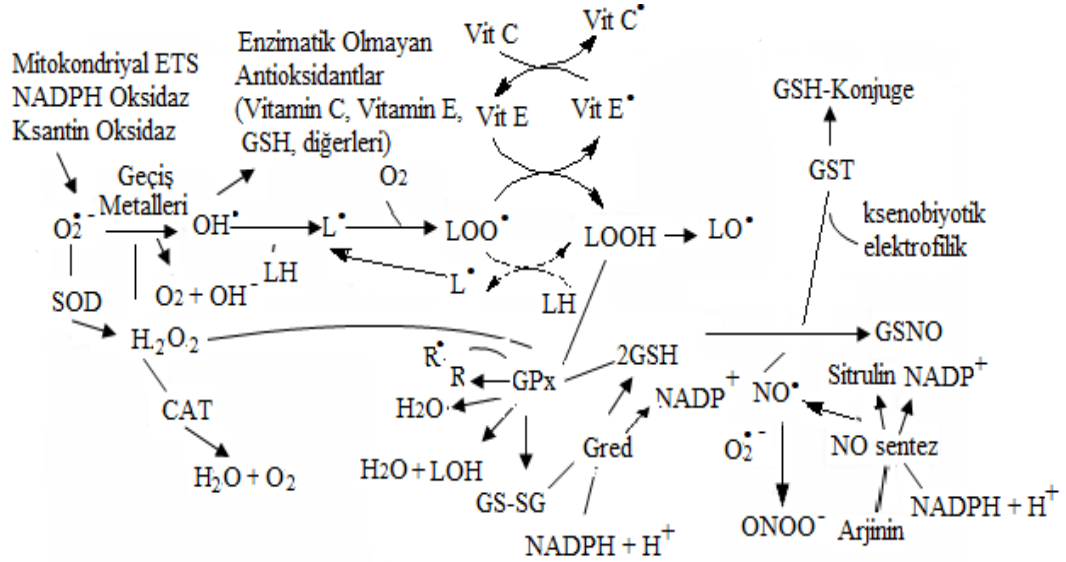
\*Aktif merkezdeki metal iyonu

**Çizelge 2.4.** Endojen ve eksojen antioksidantlar

| <b>Enzim Olan Endojen Antioksidantlar</b>                       |  |
|---|--|
| • Süperoksit dismutaz (SOD)                                     | • Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi |
| • Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)                                 | • Hidroperoksidaz                        |
| • Glutatyon S-Transferazlar (GST)                               |  |
| • Katalaz (CAT)   |  |
| <b>Enzim Olmayan Endojen Antioksidantlar</b>                    |  |
| • Melatonin   | • Glutatyon                              |
| • Seruloplazmin   | • Sistein                                |
| • Transferrin   | • Metiyonin                              |
| • Miyogloblin   | • Ürat                                   |
| • Ferritin  | • Laktoferrin                            |
| • Bilirubin   | • Albümin                                |
| <b>Vitamin Eksojen Antioksidantlar</b>                          |  |
| • $\alpha$ -tokoferol (vitamin E)                               | • Askorbik asit (vitamin C)              |
| • $\beta$ -karoten  | • Folik asit (folat)                     |
| <b>İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidantlar</b>           |  |
| • Ksantin oksidaz inhibitörleri                                 | • Demir redoks döngüsü inhibitörleri     |
| • NADPH oksidaz inhibitörleri                                   | • Nötrofil adezyon inhibitörleri         |
| • Rekombinant süperoksit dismutaz                               | • Sitokinler (TNF ve IL-1)               |
| • Trolox – C (vitamin E analogu)                                | • Barbitüratlar                          |
| • Endojen antioksidant aktiviteyi artıranlar                    | • Demir Şelatörleri.                     |
| • Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin) |  |
| <b>Gıdalardaki Eksojen Antioksidantlar</b>                      |  |
| • Butillenmiş hidroksitoluen (BHT)                              |  |
| • Butillenmiş hidroksianisol (BHA)                              |  |

### 2.2.1.1 Endojen antioksidant savunmaları

Çeşitli kaynaklardan gelen serbest radikallere maruz kalınması organizmaların bir dizi savunma mekanizması geliştirmesine yol açmıştır (Şekil 2.4). Bu savunmalar evrimin, oksijen radikallerinin aerobik yaşamdaki varlığının zorunluluğuna verdiği bir cevaptır. Enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak sınıflandırılabilirler.



**Şekil 2.4.** Hücrede ROT ve RNT içeren başlıca reaksiyonlar ile hücre içi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantların genel mekanizması. Mitokondriyal ETS (Elektron Taşıma Sistemi), moleküler oksijen ( $O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ), hidroksit iyon ( $HO^{\cdot}$ ), membran lipid (LH), lipid radikali ( $L^{\cdot}$ ), peroksil radikali ( $LOO^{\cdot}$ ), hidrojenperoksit lipidi (LOOH), lipid alkoksil radikali ( $LO^{\cdot}$ ), nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ ), radikaller ( $R^{\cdot}$ ), radikal olmayanlar ( $R$ ), alkoller (LOH), glutatyon (GSH), glutatyon disülfid (GS-SG), E vitamini (E vit. ), E vitamini radikali (vit. E $^{\cdot}$ ), C vitamini (C vit.), C vitamini radikali (vit. C $^{\cdot}$ ), S-nitroglutatyon (GSNO), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat: yükseltgenmiş ( $NADP^+$ ), indirgenmiş ( $NADPH$ ). Enzimler: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz ( $G_{red}$ ), glutatyon-S-transferaz (GST), mitokondriyal ETS (Elektron Taşıma Sistemi), nitrik oksit sentaz (NOS).

Organizmada, ya hücre içi ya da hücre dışı ortamda, pek çok farklı endojen enzimatik antioksidant savunmaları vardır. Bu savunmalara verilebilecek pek çok örnekler arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidazlar (GPx) ve glutatyon redüktaz ( $G_{red}$ ) vardır. Endojen enzimatik olmayan antioksidant savunmaları arasında glutatyon (GSH),  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C), lipoik asit ve diğer antioksidantlar vardır. SOD  $O_2^{\cdot-}$  'i  $H_2O_2$  'ye dönüştürür ki, bu da daha sonra ya peroksizomlardaki CAT vasıtasıyla ya da mitokondri, sitozol veya nükleusdaki GPx vasıtasıyla suya detoksifiye olur. GPx, biyosentezlerinde selenyuma gereksinim duyan bir selenoenzim grubudur. Selenyum destekleri ya da beslenmeden alınan miktarlar antioksidant enzim savunmaları açısından çok önemlidir. Özellikle yenilebilen bazı bitkilerin iyi miktarlarda selenyum içerdikleri tespit edildiğinden dolayı, bu bitkiler konusunda özellikle

önemlidir. Başka bir önemli enzim, GPx tarafından bir hidrojen vericisi olarak kullanılan GSH'ı üreten  $G_{red}$ 'dir. GPx aynı zamanda hidroperoksit lipidleri alkollere (LOH) dönüştürebilir.

Glutasyon (GSH) glutamat, sistein ve ana hücre içi redoks tamponu olan glisinden oluşan düşük moleküler ağırlıklı bir tripeptittir. GSH'nin en önemli antioksidant molekülleri rejenere etme kapasitesi glutasyon disülfid/ glutasyon (GSSG/GSH) çiftinin redoks durumuyla bağlantılıdır. GSH, ya doğrudan ya da pek çoğu arasından örnek olarak GPx, GST gibi çeşitli detoksleyici enzimlerin kofaktörü olarak dolaylı olarak ROT' u ( $HO^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ,  $LOO^{\cdot}$  ve  $ONOO^{\cdot}$ ) etkili bir biçimde temizler. ROT' un nötralizasyon sürecinde, GSH glutasyon disülfite (GS-SG) oksitlenir ki, bu da daha sonra Gred enzimiyle iki GSH'a indirgenebilir. GSH aynı zamanda C ve E vitaminleri gibi diğer antioksidant moleküllerini de rejenere edebilir. GSH ayrıca glutasyon-S-transferazların (GST) katalize ettiği reaksiyonlarda çeşitli elektrofilik zenobiyotiklerle de reaksiyona girerek yüksek çözünürlük yaratır ve böylece eliminasyonu kolaylaştırır.

ROT, vitamin E ile reaksiyona girerek zayıf bir reaktifliği olan fenolik radikal vitamin E (vitamin E $^{\cdot}$ ) üretir. Sonra vitamin C, vitamin E radikali (vitamin E $^{\cdot}$ ) ile reaksiyona girerek vitamin C radikali (vitamin C $^{\cdot}$ ) üretir ve vitamin E radikalini rejenere eder. Her iki radikal de (vit. E $^{\cdot}$  ve vit. C $^{\cdot}$ ) reaktifliği zayıf türlerdir çünkü eşlenmemiş elektronları vardır. Bahsedilen tüm endojen savunmaların yanı sıra, oksidatif bozulma önlenerek yiyecek kalitesi korunabilir ya da antioksidant takviyeleri veya antioksidant içeren yiyeceklerle organizmanın oksidatif hasarı azaltmasına yardımcı olunabilir. Son yıllarda, BHA (bütillenmiş hidroksianisol) ve BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) gibi sentetik antioksidantların kullanımına getirilen kısıtlama doğal antioksidant maddelere olan ilgiyi arttırmıştır (Ferreira ve diğ., 2009).

## 2.2.2 Enzim antioksidantlar

### 2.2.2.1 Süperoksit dismutaz (E.C.1.15.1.1)

Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir:



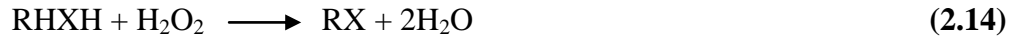
Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücresel kompartımanlardaki  $O_2^-$  düzeyleri kontrol altında tutulur (Sarıkürkcü, 2009).

#### **2.2.2.2 Katalaz (E.C. 1.11.1.6)**

Katalaz peroksizomlarda hidrojen peroksidi parçalayan yüksek molekül ağırlıklı porfirin içeren bir enzimdir. Hücre içi oksidatif reaksiyonlar moleküler oksijeni hidrojen peroksit'e dönüştürür. Katalaz bütün makromolekülleri peroksitlerin yıkıcı etkisinden korumaktadır.



Ayrıca katalaz düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda örneğin askorbik asit, fenoller ve alkoller gibi kosubstratları indirgemede peroksidaz olarak reaksiyon verebilir (Özen, 2003).



#### **2.2.2.3 Glutatyon peroksidaz (E.C.1.11.1.9)**

Endotel hücrelerinde özellikle akciğerde en etkili enzimdir. Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük molekülü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Sitozolde yerleşmiş, 4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. Karaciğerde en yüksek, kalp, akciğer ve beyinde orta, kasta düşük aktivitede bulunur. GPx, aşırı hidrojen peroksit varlığında glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG, glutatyon disülfid) oksidasyonunu katalize eder; bu arada  $H_2O_2$  de suya dönüştürülerek detoksifiye edilmiş olur (Sarıkürkcü, 2009).

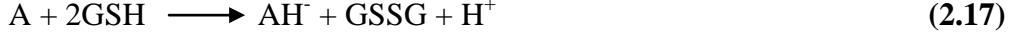


#### **2.2.2.4 Glutatyon redüktaz (E.C.1.6.4.2.)**

Glutatyon redüktaz sitozol ve mitokondride yükseltgenmiş glutatyonun (GSSG) NADPH veya NADH ile indirgenmiş glutatyona (GSH) indirgenmesini katalizler.



Birçok antioksidant mekanizmalar GSSG veya NADP<sup>+</sup> oluşumunda birleşir. Örneğin gluteredoksin enzimi GSH oluşumunda dehidroksiaskorbattan (A) tekrar askorbat (AH<sup>-</sup>) meydana gelir (Özen, 2003).



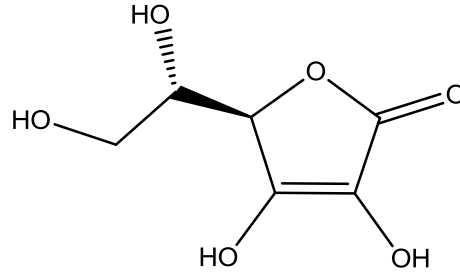
### 2.2.3 Doğal antioksidantlar

Antioksidantlar vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıdalar yoluyla da alınabilmektedir. Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidantlar, esas olarak vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir (Güçlü ve diğ., 2009).

#### 2.2.3.1 C vitamini (Askorbik asit)

L-Askorbik asit yüksek çözünürlük özelliği gösteren hem asidik hemde indirgen karakter taşıyan bir antioksidantdır. Bu nitelikler lakton halkasındaki karbonil grubu ile konjuge olan enediol yapıdan kaynaklanmaktadır (Şekil 2.5). Doğal formu L-izomer olup, D-izomer, L-izomerin % 10 aktivitesine sahiptir (Saldamlı, 1998). Askorbik asit, hem in vivo hemde in vitro olarak antioksidant olarak bilinmektedir. Serbest radikal süpürücü olarak işlev görür ve birincil savunma sistemi olarak hareket eder. Suda çözünen süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijen ile direkt olarak reaksiyona giren zincir kırıcı bir antioksidantdır (Niki, 1991). Askorbik asit, antioksidant etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine neden olur. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir prooksidanı olarak değerlendirilir (Coşkun, 2008).

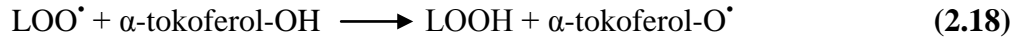
C vitamininin damar hücrelerinin ve LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek koroner kalp hastalığı oluşumu riskini azaltıcı etkisi bulunmaktadır. C vitamini sağlıklı diş eti dokusunun korunması için gereklidir. Vücudu enfeksiyonlardan ve bakteri toksinlerinden koruduğu bilinmektedir. Güneş ışığının oluşturduğu oksidasyon etkisine karşı merceği koruyarak katarakt gelişimini geciktirmektedir. Mide ve özefagus kanserinde koruyucu etkisinin olabileceği düşünülmektedir (Saldamlı, 1998).



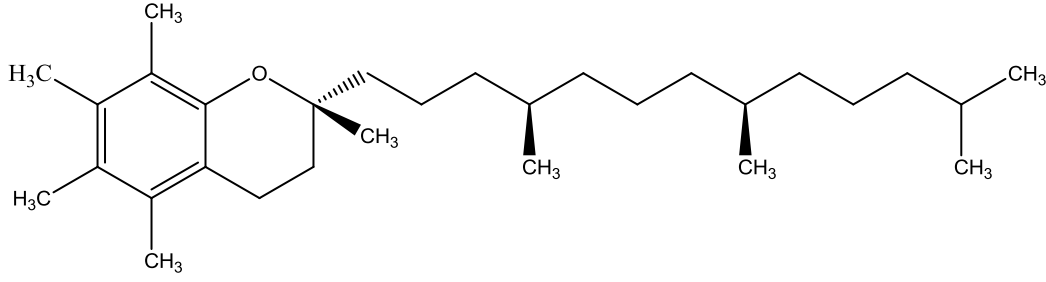
**Şekil 2.5.** L-Askorbik asitin kimyasal yapısı.

### 2.2.3.2 E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)

E vitamini tokoferoller için kullanılan ortak bir isimdir. Doğal olarak meydana gelen sekiz çeşit tokoferolden yalnız dört tanesi ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ ) fizyolojik önem taşır. Bunların en önemlisi  $\alpha$ -tokoferoldür (Saldamlı, 1998). Çok güçlü bir antioksidantdır. Yağda çözünür. En önemli işlevi membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturmaktır. Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipit peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E zincir kırıcı antioksidant olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonu vitamin E aracılığıyla sonlandırılabilir.



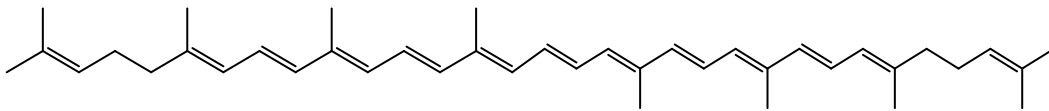
Tokoferolün antioksidant etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Vitamin E ve C verilmesinin yaşlı kişilerde ortalama kan lipit peroksit konsantrasyonlarında azalma sağladığı saptanmıştır. Glutatyon peroksidaz ile vitamin E serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutatyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken, vitamin E peroksitlerin sentezini engeller (Coşkun, 2008). E vitamini hücre içi membran bütünlüğünün korunması, sinir ve kas fonksiyonlarının korunması ve gelişebilmesi için önemlidir. Eksikliğinde ataksia, refleks kaybı ve göz kaslarının felci gibi nörolojik semptomlar görülebilir. E vitaminin kalp hastalığı oluşma riskini azalttığı bilinmektedir (Saldamlı, 1998).



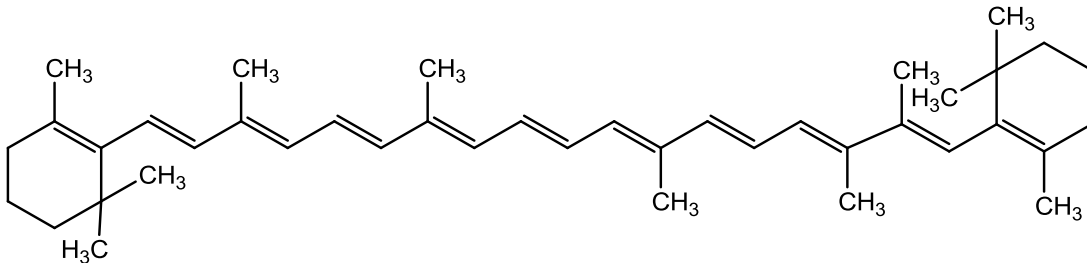
Şekil 2.6. E vitaminin kimyasal yapısı.

### 2.2.3.3 Karotenoidler

Karotenoidler, 40 karbon atomu içeren çoklu doymamış hidrokarbonlar (karotenler) ve onların oksijenli türevlerinden (ksantofiller) oluşurlar (Ong ve Tee, 1992). Likopen,  $\beta$ -karoten ve  $\alpha$ -karoten karotenoidlerin karoten sınıfındadır (Cadenas ve Packer, 2002). Karotenoidler hem antioksidant olarak hem de vitamin A öncülü olarak akciğer hasarına karşı güçlü bir koruyucu rol oynadıkları ileri sürülmektedir. -  $\beta$ -karoten en yaygın provitamin A karotenoididir. Karotenoidler tekli oksijen yakalayıcı ve antioksidant olarak oldukça etkilidir. Ksenobiyotik adı verilen dış etkenler (sigara, çevre kirleticileri, v.b), çoklu doymamış yağ asitlerince zengin bir diyet aracılığıyla ve normal metabolizma sırasında oluşabilen çeşitli reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin potansiyel yıkıcı etkilerine karşı korumak için, canlılar sahip olduğu çeşitli enzimatik savunma sistemlerinin etkinliği bazı bileşiklerin ve eser elementlerin gıda takviyelerinde yeterince alımına bağlıdır (karotenoidler, Se, Cu, Zn v.b) (Turkcan ve Okmen, 2012).



Şekil 2.7. Likopenin kimyasal yapısı.



Şekil 2.8.  $\beta$ -Karotenin kimyasal yapısı.

Karotenoidlerin yapısındaki konjuge çifte bağlar yüksek antioksidant aktivite göstermelerine sebep olmaktadır. Karotenoidlerin singlet oksijen türleri ve serbest radikalleri süpürücü etkisi bulunmaktadır Bu nedenle karotenoidler biyolojik

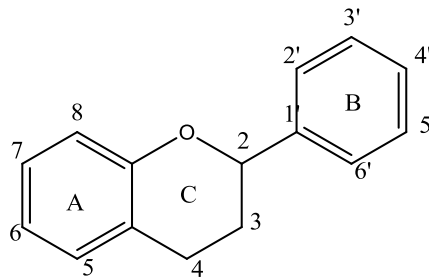
antioksidant gibi davranmaktadır (Krinsky, 1993; Sies ve Stahl, 1995; Palozza ve Krinsky, 1992).

### 2.2.3.4 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler; bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitlerdir. Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı açısından işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimutajenik, antikarsinojenik, antimikrobiyal ve antioksidatif etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi birçok açıdan önem taşımaktadırlar. Antioksidant etki, fenol halkasında –OH grubu sayısı arttıkça artmaktadır. Fenolik bileşikler içinde en fazla antioksidant etkiyi gallik asit, florogluslinik asit, kafeik asit ve gentsik asit göstermektedir. Bitkilerde fenolik bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler ile küçük moleküllü ve çoğunlukla uçucu olan bileşiklerdir. Bunlardan, gıdaların yapısında yer alan fenolik asitler ve flavonoidler önem taşımaktadır (Saldamlı, 1998).

### Flavonoidler

Flavonoidler C<sub>6</sub>–C<sub>3</sub>–C<sub>6</sub> difenilpropan yapısındadır ve fenil grupları arasındaki üçlü karbon köprüsü, oksijenle halka oluşturmaktadır (flavan halkası). Değişik flavonoidler arasındaki farklar; bağlanan hidroksil gruplarının sayısından, doymamışlık derecesinden ve üçlü karbon segmentinin oksidasyon düzeyinden kaynaklanmaktadır (Saldamlı, 1998).



Şekil 2.9. Flavonoidlerin genel yapısı.

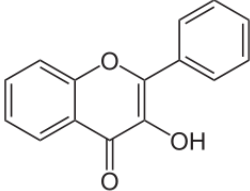
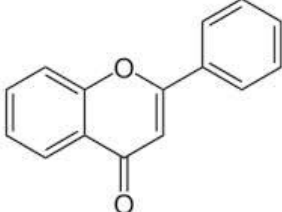
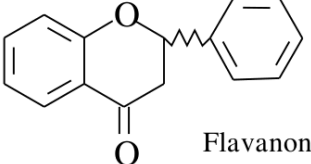
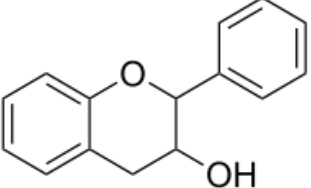
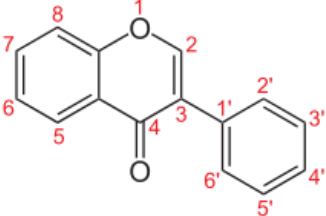
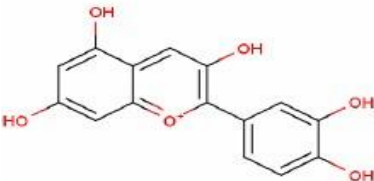
Flavonoidler; önemli antioksidant ve şelatlama özelliğine sahip, düşük molekül ağırlıklı ve en geniş bitki fenolikleri sınıfıdır. 6 karbonlu A, B ve 3 C'lu C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine

göre farklılaşırlar. Aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C olarak ifade edilir. Karbon atomları C halkasındaki oksijenden başlayarak, B halkasındaki karbon atomları ise üssü (') rakamlarla numaralandırılır (Şekil 2.8). Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi vardır. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Antioksidant aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grubu içerirler. Metal kelatlama, lipid peroksidasyonunu engelleme, reaktif oksijen türlerini içeren diğer prosesleri azaltma özellikleri vardır (Havsteen, 1983). Lipid peroksidasyonunu inhibe eden flavonoidler etkili antioksidant, serbest radikal süpürücü, metal kelatlayıcıdır (Cook ve Samman, 1996).

Flavonoidler, fenolik bileşikler içinde en önemli grubu oluşturan flavan (2-fenolbenzodihidropiran) türevleridir. Yapısal olarak altı gruba ayrılırlar:

- antosiyanidinler
- flavonoller
- flavonlar
- flavanonlar
- kateşinler (flavanoller)
- izoflavonoidler (Saldamlı, 1998). Kimyasal yapıları Çizelge 2.5' de verilmiştir.

**Çizelge 2.5.** Flavonol, flavon, flavanon, flavanol, izoflavon ve antosiyanidin'in kimyasal yapıları.

| Fenolik bileşikler | Molekül Şekilleri  |
|--------------------|--|
| Flavonol           |    |
| Flavon             |    |
| Flavanon           |  <p data-bbox="1098 981 1209 1010">Flavanon</p> |
| Flavanol           |    |
| İzoflavon          |    |
| Antosiyanidin      |    |

## **Fenolik asitler**

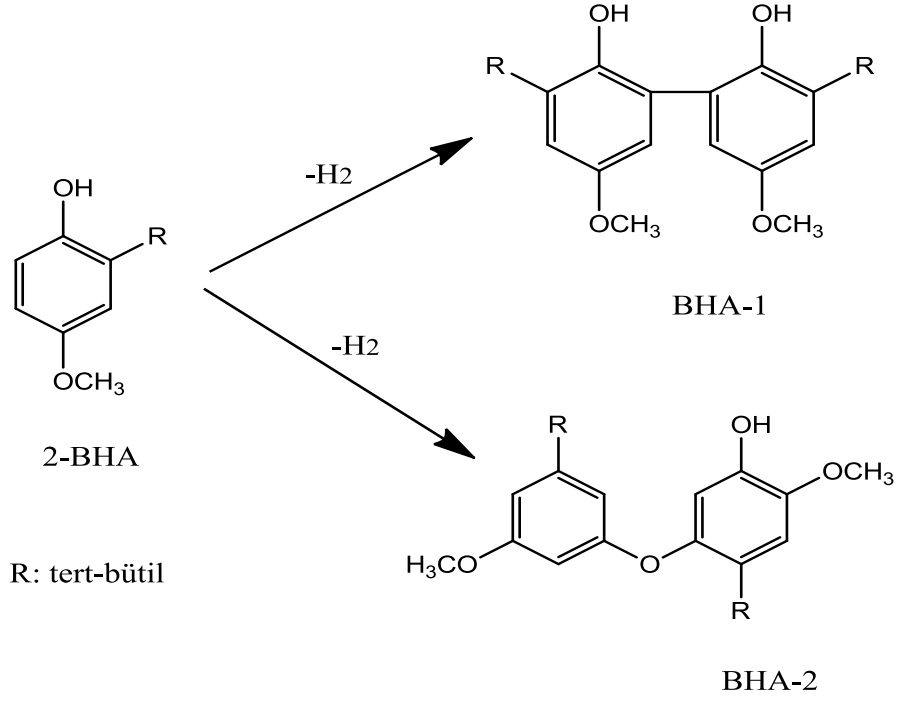
Fenolik asitler, hidroksisünamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki grupta incelenir. Fenolik asitlerden hidroksisünamik asitler C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> fenilpropan, hidroksibenzoik asitler ise C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> fenilmetan yapısındadır. Hidroksisünamik asitler bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunurlar. Bunlar arasında ferulik asit, kafeik asit, o-kumarik asit ve p-kumarik asit önem taşımaktadır. Hidroksibenzoik asitler ise bitkisel gıdaların yapısında genellikle eser miktarlarda (100 µg/mL kadar) bulunur veya hiç bulunmayabilir. Bunlar arasında salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, p-hidroksibenzoik asit, gallik asit ve vanilik asit gibi asitler sayılabilir (Saldamlı, 1998).

### **2.2.4 Sentetik antioksidantlar**

Gıdaların korunması ve depolanması sırasında önde gelen problemlerden biri lipid oksidasyonudur. Buda; yağlarda acılaşımaya, yağlı gıdalarda renk, tat, aroma ve kıvamda bozulmaya, besinsel kalitede azalmaya neden olmaktadır. Gıda endüstrisinde lipid oksidasyonunu engellemek yada azaltmak, besinsel kaliteyi sürdürmek ve gıdaların raf ömrünü arttırmak amacıyla antioksidant kullanımı gereklidir (Fınley ve Gıven, 1986). Bu nedenle sentetik antioksidantlar gıdaların stabilizasyonunda kullanılmıştır. En yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidantlar bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve tert-bütill hidroksikininon (TBHQ), yağ ve yağlı gıdaların oksidatif bozulmasını önlemek için uygulanır (Cheung ve diğ., 2003).

#### **2.2.4.1 Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)**

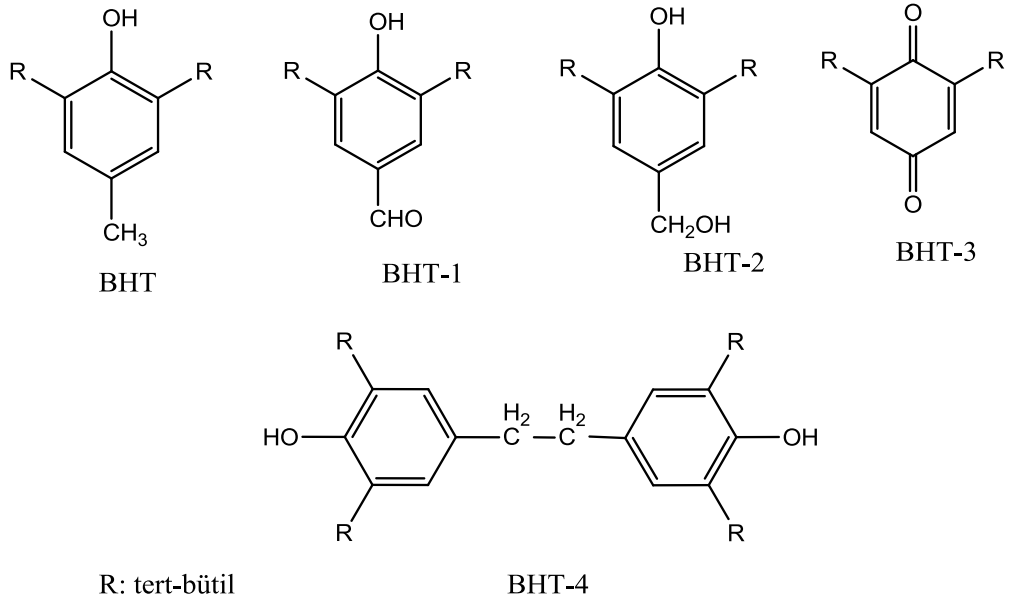
Yiyeceklerde antioksidant olarak kullanılan bütillenmiş hidroksianisol (2-BHA ve 3-BHA) 2- ve 3-izomerlerinin 9:1 karışımıdır. 2-BHA'nın kimyasal oksidasyonunda bifenil tipi dimeri olan BHA-1 oluşur. Alkolde 2-BHA ve 3-BHA izomerleri ultraviyole ve görünür ışıktan etkilenir. Benzende 2-BHA ultraviyole ışıktaki iki farklı oksidasyon ürünleri olan BHA-1 ve BHA-2 oluşturur (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. BHA' nın türleri.

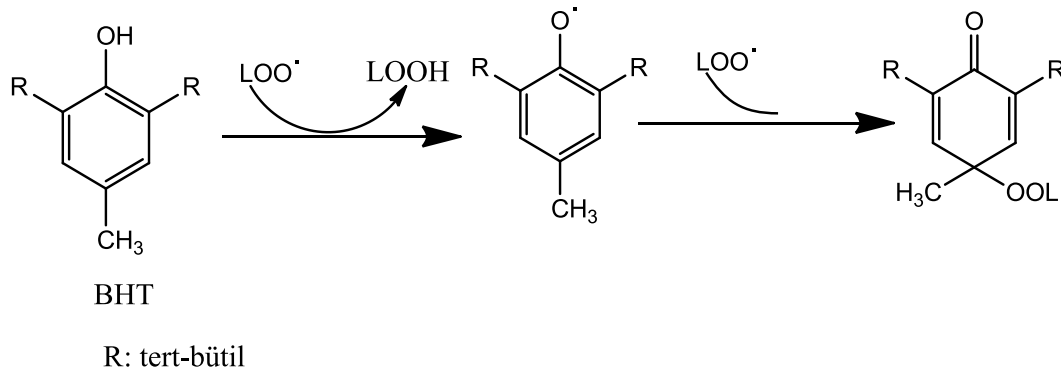
#### 2.2.4.2 Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

Bütillenmiş hidroksitoluen en çok kullanılan antioksidantlardandır. BHT ilk defa soya yağının otooksidasyonunda bozunma ürünleri tayin edilerek fark edilmiştir. BHT içeren soya yağı ultraviyole ışığına maruz kalırsa bozunma ürünleri olan BHT-1, BHT-2, BHT-3 ve BHT-4 oluşmaktadır (Şekil 2.11) (Özen, 2003).



Şekil 2.11. BHT' nin türleri (R: tert-bütül).

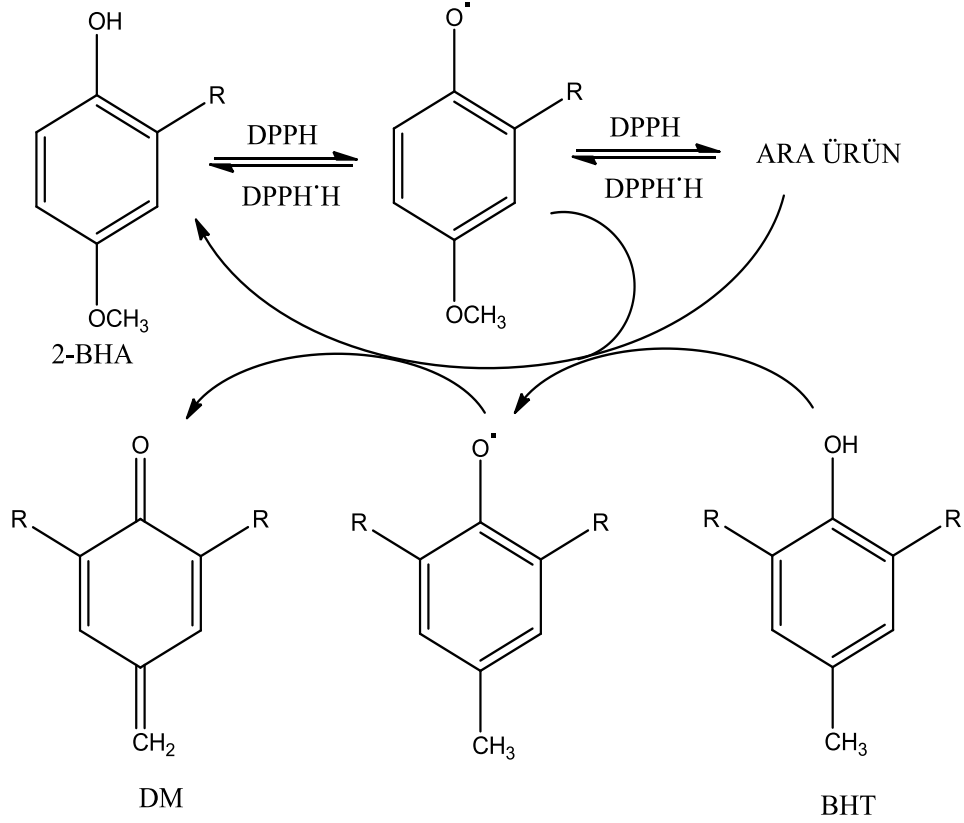
BHT yağlar ve yağ asitlerinin oksidasyonunda okside olmuş lipidlerle verdiği reaksiyon sonucu peroksit radikallerinin etkisini yok eder (Şekil 12).



Şekil 2.12. BHT' nin yağ ve yağ asitlerinin oksidasyonuna etkisi (R: tert-bütül).

#### 2.2.4.3 BHA ve BHT' nin antioksidant aktivitesi

BHT ve BHA sentetik antioksidant madde olarak yaygın kullanılmaktadır. Şekil 2.13' de BHT ve BHA ile DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazin) arasında meydana gelen reaksiyonlar gösterilmiştir. 2-BHA ve BHT ortama hidrojen atomu verebilmesi sonucu farklı radikalik ürünler meydana gelir. DPPH ve 2-BHA DPPH' in aşırı miktarda 2-BHA ile reaksiyonundan DPPH H, 2-BHA ve DM (2,6-di-tertbutilkinon metit) meydana gelir. 2-BHA ile DPPH arasındaki reaksiyondan kararlı ara ürün oluşur (Şekil 2.13). Bu ara ürün peroksit radikalleri 2-BHA nın tekrar oluşumu için BHT ile reaksiyona girer. Bu proses DPPH' in hidrojeni tutması 2-BHA ve BHT arasındaki etkilere bağlıdır (Özen, 2003).



**Şekil 2.13.** BHT ve BHA' nın DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin) ile meydana gelen reaksiyonları.

### 2.3 Diüretikler

Belirli bir zaman diliminde, böbrek nefronlarında idrar oluşumunu artıran ilaçlara diüretikler adı verilir. Diüretiklerin etkisiyle,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının geri emilimindeki azalma, pasif olarak suyun geri emilimini de azaltır ve bunun sonucu olarak da idrar hacmi artar.

Bazı diüretikler, ilave olarak, membranlarda iyon değişimini değiştirerek, damar düz kaslarının intrasellüler sodyum konsantrasyonunu da doğrudan azaltabilirler. İtrasellüler sodyumun azalması, intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunun da azalmasına yol açar ( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  değiş-tokuşu). Sonuçta, vasküler direnci düşürerek antihipertansif etki oluştururlar. Diüretikler, tedavide sodyum ve bunu izleyen su tutulmasıyla karakteristik ödem ve arteriyel hipertansiyon gibi önemli hastalıklarda öncelikle kullanılan ilaçlardır.

Böbreğin tubüler sistemi ve bu sistemin glomerüler yumağı, fonksiyonel bir birim olan nefronu oluşturur (Şekil 2.14.). Böbreklerin organizmada su ve elektrolit

dengeğini koruyabilmesi (homeostasis) için, nefronda başlıca üç olay meydana gelmektedir:

1. Glomerüler Filtrasyon: Plazma sıvısının içeriğı ile birlikte, glomerüllerden süzülmesidir. Plazmadan ayrılan süzüntünün içeriğinde yüksek moleköl ağırlıklı (>70 000 kDa) proteinler dışında, diğere plazma içerikleri de bulunur.

2. Geri Emilme (reabsorbsiyon): Filtrasyonla kandan ayrılan süzüntüden, homeostasis için gerekli olan maddelerin kana geri emilmesidir.

3. Salgılama (sekresyon): Bazı artık ya da yabancı maddelerin tübölüslerde kandan alınıp, idrar içine salınmasıdır.

Nefronun 5 aktif kısmı vardır ve bu aktif kısımlar idrar hacmini kontrol eder:

1. Proksimal Tübüller: Kortekste yer alır. Karbonik anhidraz inhibitörü diüretiklerin etki yeridir. Glikozun tamamı, aminoasitler,  $\text{HCO}_3^-$  ve diğere metabolitler geri emilir. Su, klor ve sodyumun % 60-70'i geri emilir. Organik asit ve bazlar (ürük asit, diüretikler, antibiotikler vb.) kandan lümene sekrete olurlar. Diüretiklerin çoğuu asit yapıda olup, etkilerini gösterebilmeleri için proksimal tübölün orta kısmından lümen içine salgılanmaları gerekir. Kronik böbrek yetmezliğı olan üremili hastalarda, diüretiklerin lümende yeterli konsantrasyona ulaşması için, diüretikler yüksek dozlarda verilirler. Furosemid ve klorotiyazid gibi diüretiklerle oluşan, kanda ürik asit artışının (hiperüriseminin) nedeni de budur.

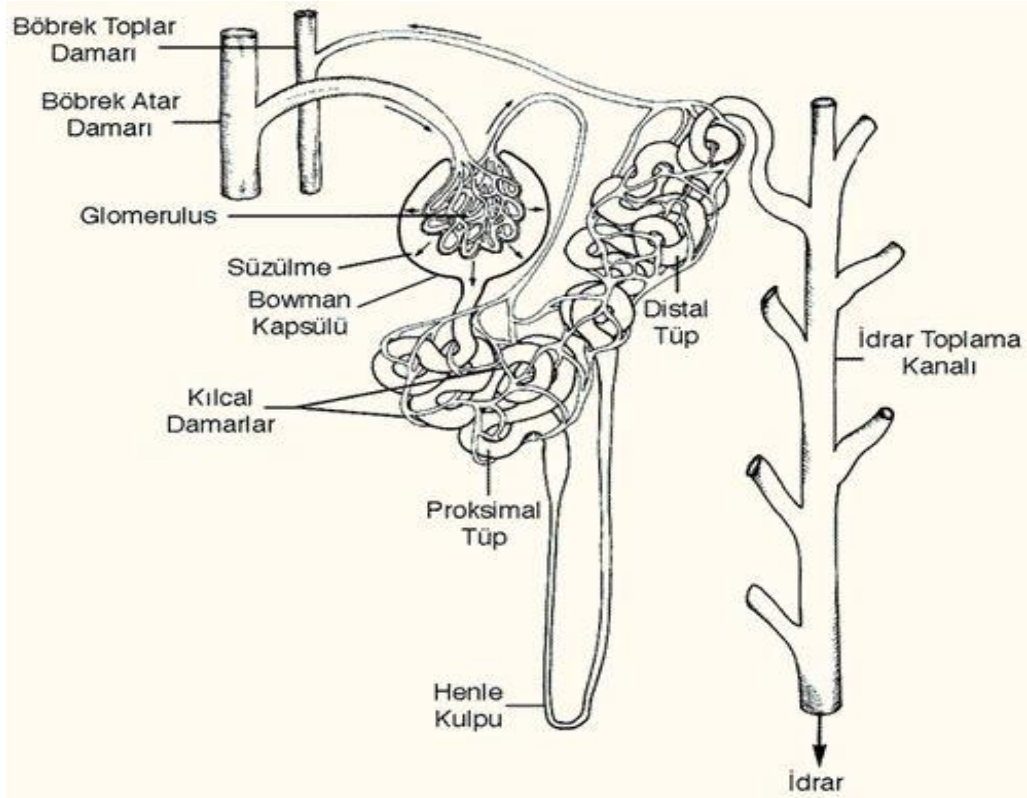
2. Henle Kıvrımının İnen (ince) Kolu: İzotonik filtrat Henle kıvrımıyla medullaya girer.  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  reabsorbsiyonu olmaz; sadece suya karşı geçirgenlik yüksektir ve medullanın hipertonic olması nedeniyle pasif olarak su reabsorbsiyonu olur. Tüböl sıvısının tuz konsantrasyonu üç katına çıkar.

3. Henle Kulbunun Çıkan Kolunun Kalın Kısmı: Önce medulla, sonra korteks içinde seyrederek. En güçlü diüretikler olan kıvrım diüretiklerinin etki yeridir. Suya geçirgen olmayan özel hücrelerle döşelidir. Burada bulunan,  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  kontansportörü ile  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  aktif olarak geri emilir.  $\text{Mg}^{2+}$  ve  $\text{Ca}^{2+}$  gibi iki değerli katyonlar da potansiyel farkı nedeniyle buradan basit difüzyonla geri emilir. Sodyum klorürün % 25-30'u interstisyel sıvıya geri dönerek medullanın yüksek osmolaritesini korumasını sağlar. Buraya etki eden diüretikler, böbreğın hem dilüsyon hem de konsantrasyon yeteneğini azaltırken, sadece distal tüböllere etki edenler yalnız dilüsyon yeteneğini azaltırlar.

4. Distal tübüller: Hücreleri suya geçirgen değildir. Tiyazid grubu ve benzeri diüretiklerin etki yeridir. Sodyum klorürün % 10'u tiyazidlere duyarlı  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-$

taşıyıcısıyla geri emilir. Bu mekanizma, aldosteron etkisinden bağımsızdır. Bu kısımda parathormon etkisi altında,  $Ca^{2+}$  aktif transportla reabsorbe edilir.

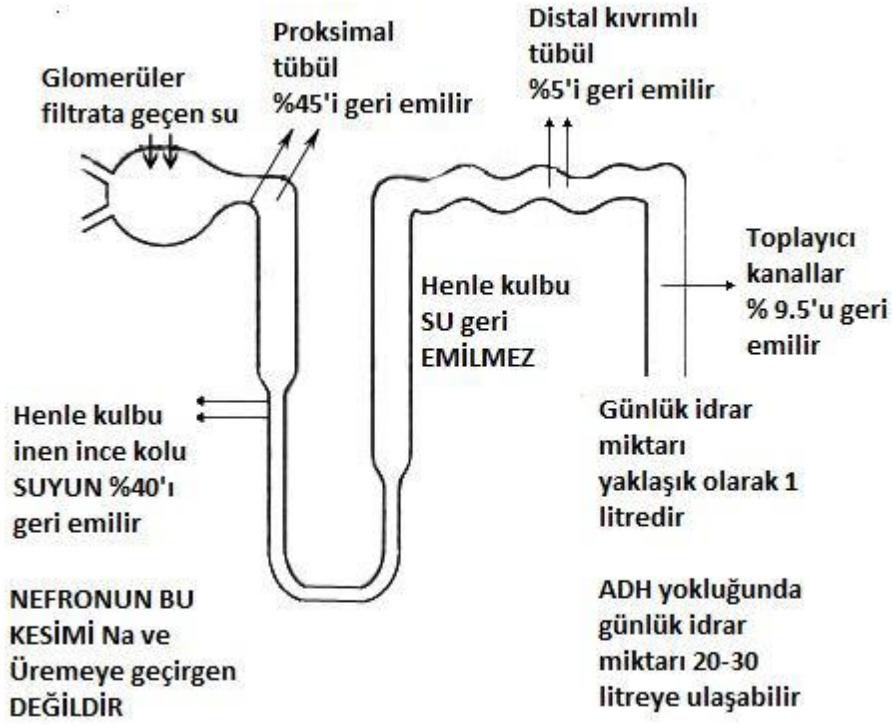
5. Toplayıcı tübüller: Özellikle kortikal bölümde olmak üzere, aldosterona bağımlı şekilde  $Na^+$  geri Emilimi ve  $K^+$  sekresyonu ( $Na^+-K^+$  değişimi) olur. Ana hücreler  $K^+$  ve  $H^+$  sekresyonundan, ara hücreler  $K^+$  reabsorbsiyonundan ( $K^+/H^+$  değişimi) sorumludur. Potasyum tutucu diüretiklerin etki yeridir. Diğer diüretikler ise,  $Na^+-K^+$  değiş tokuşu nedeniyle potasyum kaybına (hipokalemi) neden olurlar. ADH (vazopressin), toplayıcı tübüllerden sAMP aracılığıyla suyun geri Emilimine neden olur (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. Nefron kısımları

### 2.3.1 Böbreklerde su metabolizması

Vücut ağırlığının % 60'ını su oluşturmaktadır. Kadınlarda bu oran % 50 iken çocuklarda % 66-75'tir. Vücutta intraselüler/ekstrasellüler su oranı yaklaşık olarak 55/45'dir. Glomeruler filtrata günde 150-180 L su geçmektedir ve filtre olan suyun %45'i proksimal tübülden, % 40'ı Henle kulpunun inen kolundan, % 5' i distal tübülden, % 10'u toplayıcı tübülden geri emilirken, % 0.5' i idrar şeklinde atılmaktadır (Şekil 2.15.).



Şekil 2.15. Nefronlarda su metabolizması

### 2.3.2 Diüretiklerin sınıflandırılması

Diüretik ilaçlar farmakolojik özelliklerine göre 5 sınıfa ayrılırlar:

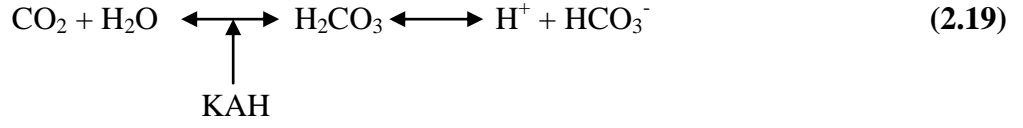
1. Karbonik anhidraz inhibitörleri
2. Ozmotik diüretikler
3. Kıvrım (Loop) diüretikler
4. Tiyazid grubu diüretikler
5. Potasyum tutucu diüretikler

#### 2.3.2.1 Karbonik anhidraz inhibitörleri

Karbonik anhidraz inhibitörleri zayıf natriüretik ve diüretik etki gösterirler. Primer etki yerleri proksimal tübüllerdir, henle kıvrımını etkilemezler. Bu grup ilaçların ilk bulunanı ve prototipi asetazolamid'dir. Karbonik anhidraz inhibitörleri bugün en fazla glokom tedavisinde kullanılırlar.

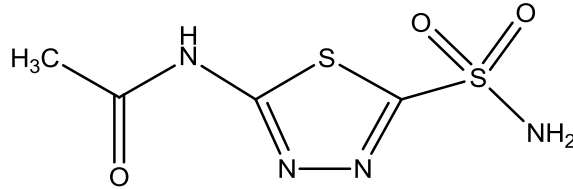
Karbonik anhidraz (KAH), böbreğin alkalileri tasarruf etmesini, asit idrar çıkarmasını ve böylece ekstrasellüler sıvının asit-baz dengesini korumasını sağlayan çok önemli bir enzimdir. Karbonik anhidraz reaksiyonu sonucu  $H_2O$  ve  $CO_2$ 'den  $H^+$

ve  $\text{HCO}_3^-$  oluşur.  $\text{H}^+$  tübül lümenine salgılanır ve bunun karşılığında sodyum iyonu lümeden hücreye alınır ( $\text{H}^+$  - $\text{Na}^+$  değiş tokuşu). Bu sayede idrarla net  $\text{H}^+$  kaybı sağlanır.



KAH inhibitörü olarak kullanılan asetazolamid, sulfonamid yapıdadır. Proksimal tübül epitel hücre içi ve apikal membranda bulunan KAH enzimini inhibe eder. KAH enziminin inhibisyonu sonucu,  $\text{Na}^+$  geri Emilimi azalacağından,  $\text{Na}^+$  ve beraberinde su atılımı sonucu diüretik etki oluşur. Bu etki tübülün ileri kısımlarında telafi edileceğinden KAH inhibitörü ilaçlar zayıf diüretik etkilidirler.  $\text{H}^+$  lümene atılmadığında, bununla birleşemeyip lümeninde kalan  $\text{HCO}_3^-$  idrarla atılır; idrar pH'sı artar ve net  $\text{HCO}_3^-$  kaybı nedeniyle hiperkloremik metabolik asidoz oluşur.

Asetazolamid (Şekil 2.16.), antineoplastik tedavi esnasında ürik asidin idrar yolunda çökmesini önlemek için kalevi diürez oluşturmak amacıyla, diğer antiepileptiklerin etkisini artırmak için, epilepsi tedavisinde, kronik metabolik alkaloz veya respiratuvar alkaloz tedavisinde oral yoldan kullanılabilir.



Şekil 2.16. Asetazolamid formülü

Asetazolamid kullanımı hafif metabolik asidoz,  $\text{K}^+$  kaybı, böbrek taşı, sersemlik ve parestezi gibi genelde çok ciddi olmayan yan tesirleri gösterebilir.

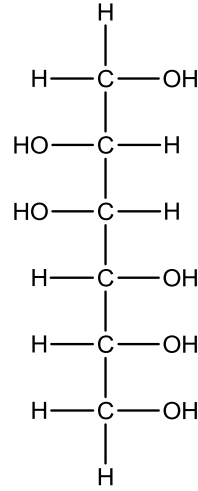
### 2.3.2.2 Osmotik diüretikler

Osmotik diüretikler, glomerüllerden süzülen basit yapıda hidrofilik kimyasal maddelerdir, sodyumdan çok suyun ekskresyonuna ihtiyaç varsa kullanılırlar. Osmotik diüretikler akut ilaç intoksikasyonları sırasında veya böbrek itrah fonksiyonunun azaldığı hastalıklarda gelişen oligüriye karşı, glomerüler filtrasyon hızını yeterli düzeyde sürdürmek ve akut böbrek yetmezliğini önlemek amacıyla, beyin ameliyatlarından önce veya sonra beyin omurilik sıvısı basıncını ve beyin

hacmini azaltmak, beyin iskemisi, tümör ve infeksiyon gibi hastalıklarında, beyin ödemi gidermek ve artmış olan intrakranial basıncı düşürmek amacıyla kullanılırlar.

Osmotik diüretiklerin primer etki yerleri Henle kıvrımının çıkan kalın koludur ve glomerüllerden hızlı bir şekilde süzülür, tübüllerden reabsorbe edilmezler. Başlıca osmotik diüretikler mannitol, isosorbit ve gliseroldür.

Osmotik diüretikler arasında en fazla kullanılan mannitoldür (Şekil 2.17.). Mannitol birçok bitkide bulunan bir karbohidrat alkolüdür. Mannitol, suyun reabsorpsiyonunu azaltır; su ile birlikte sodyum ve klor iyonlarının da reabsorpsiyonu azalır. Mannitolün büyük bir kısmı, vücut tarafından glikoz gibi emilir ve metabolize edilir. Mannitolün en sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, baş ağrısı, baş dönmesi, üşüme, polidipsi, göğüste sıkışma, duyumsama, letarji ve konfüzyondur. Mannitolün yüksek dozda uygulamasına bağlı ölüm olaylarının olduğu bildirilmiştir.



Şekil 2.17. Mannitol formülü

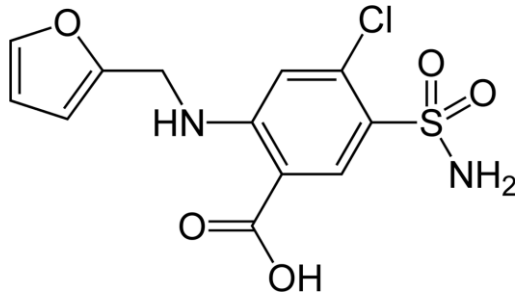
### 2.3.2.3 Kıvrım (Loop) diüretikler

Kıvrım diüretikler en etkili diüretik grubudur ve Henle kıvrımının çıkan kolunun kalın kısmında etkilidirler. Burada,  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$  kotransportunu güçlü şekilde inhibe ederler. Kıvrım diüretikler idrardan  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Mg}^{2+}$  atılımını arttırırlar.

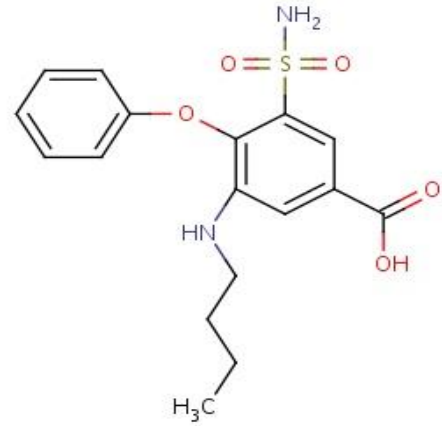
Kıvrım diüretikler arasında en çok kullanılanı, furosemid (Şekil 2.18.) olmakla birlikte bumetanid (Şekil 2.19.) ve etakrinik asitte (Şekil 2.20.) kullanılmaktadır. Furosemid kıvrım diüretikleri içinde fazla tercih edilen ve güçlü bir diüretiktir. Bunun nedenleri, fraksiyonel sodyum itrahını % 40'a kadar

çıkartabilmeleri, diğer kıvrım diüretiklere nazaran toksisitelerinin daha az olması, böbrek fonksiyonları bozuk olan veya diğer diüretiklere yanıt vermeyen hastalarda bile etki göstermeleri, alkaloz yapma eğilimleri daha azdır. Furosemid ve benzeri ilaçlar, kalsiyum reabsorbsiyonunu inhibe ederek kalsiyum atılımını belirgin şekilde artırırılar. Bu nedenle hiperkalsemi tedavisi için yararlı olabilirler.

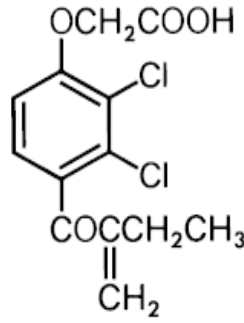
Kıvrım diüretikler, sol kapakçık yetersizliğine bağlı akciğer ödeminde, kronik kalp yetmezliğinde, tiyazit grubu diüretiklerle yapılan tedaviye dirençli hipertansiyon tedavisinde, hiperkalsemi ve ağır böbrek yetmezliğinde kullanılırlar.



Şekil 2.18. Furosemid formülü



Şekil 2.19. Bumetanid formülü



Şekil 2.20. Etakrinik asit formülü

Kıvrım diüretiklerin yan etkileri, hipovalemi, dehidratasyon, hipotansiyon, hiponatremi, hipokloremik alkaloz yapabilir, ayrıca, hipeürisemi, hiperglisemi, reversibl sağırlığa sebebiyet verebilirler. Gut ve diyabet olgularında kıvrım diüretiklerinin kullanılması tavsiye edilmez.

### 2.3.2.4 Tiyazid grubu diüretikler

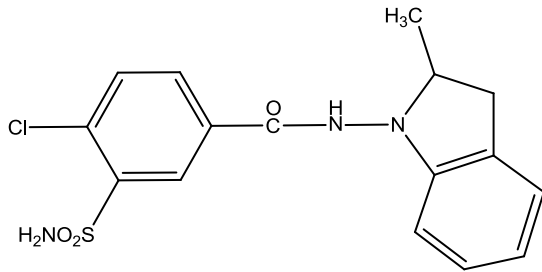
Tiyazid grubu diüretikler en sık kullanılan diüretiklerdendir. Tiyazid grubu diüretiklerin ağız yolundan kullanılabilmesi, yaptıkları diürezin hızlı ve fazla olmaması, vücuttaki sodyumun fazlasını atmaları fakat aşırı derecede sodyum ve su kaybına neden olmamaları, belirgin dehidratasyon yapmamaları, toksisitelerinin düşük olması ve antihipertansif etki göstermeleri başlıca üstünlükleridir.

Tiyazid grubu diüretikler, sodyum ve klorür iyonlarının atılımını artırırken, kalsiyum ve fosfat iyonlarının atılımını da azaltırlar, büyük bir kısmı bağırsaklardan absorblanır ve proksimal tübülden aktif şekilde atılırlar. KAH inhibitörü olan asetazolamidden daha güçlüdürler. Tiyazid grubu diüretikler vücudun asit baz dengesini bozmazlar ve bozukluğundan da etkilenmezler. Potasyum salgılanmasını ve kalsiyum geri emilimini arttırlar.

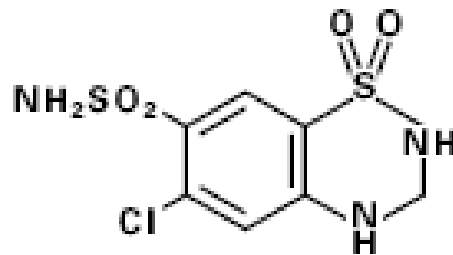
İndapamid (Şekil 2.21.), metolazon, politiyazid, hidroklorotiyazid (Şekil 2.22.), hidroflumetiyazid, klortalidon, bendroflumetiyazid, klorotiyazid, metilklorotiyazid ve tiyazid (sülfamoiltiyazid) türevi gibi diüretikler tiyazid grubuna giren ilaçlardır.

Tiyazid grubu diüretikler hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, hiperkalsüri, diyabetes insipidus (şekersiz diyabet) tedavilerinde kullanılırlar.

Tiyazid grubu diüretiklerin yan tesirleri olarak hipokalemi, hiponatremi, hipomagnezemi, hiperkalsemi, hiperürisemi (ürük asitle yarıştığından atılımını azaltır ve kanda ürik asit artırarak gut ataklarını artırabilir), hiperglisemi, hiperlipidemi, cinsel fonksiyon bozukluğu, LDL-kolesterol ve trigliserid artışı da gözlenebilir.



Şekil 2.21. İndapamid formülü



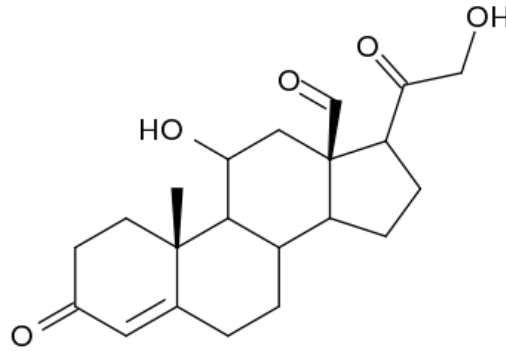
Şekil 2.22. Hidroklorotiyazid formülü

### 2.3.2.5 Potasyum tutucu diüretikler

Potasyum tutucu diüretikler, sodyum ve klorür iyonlarının eliminasyonunu arttırmalarına rağmen potasyum iyonlarının atılımını azaltan diüretiklerdir. Tek başına kullanıldıklarında zayıf etkilidirler. Potasyum tutulmasını sağladıklarından tiyazid veya kıvrım diüretikler ile kombine halde kullanılırlar. Potasyum tutucu diüretiklerin yan etkileri, bacak krampları, ürik asit artışı olasılığı, K<sup>+</sup> retansiyonu, böbrek taşları ve akut böbrek yetmezliğidir.

Potasyum tutucu diüretikler aldosteron antagonistleri ve Na<sup>+</sup> kanalı inhibitörleri olarak ikiye ayrılırlar:

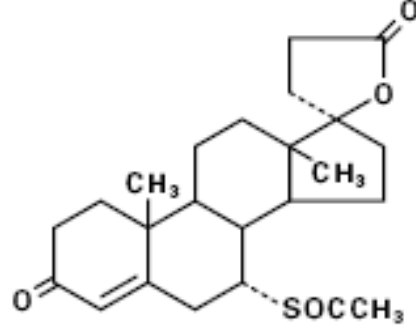
1. Aldosteron antagonistleri 17-spirolakton steroid grubundadır. Bunlardan spironolakton ve onun metaboliti olan karnenon ve potasyum kanreoat tedavide kullanılır. Aldosteron (Şekil 2.23.), adrenal bezdeki adrenal korteksin dış kısmında üretilen, kanda sodyum ve potasyum dengesini düzenleyen bir steroid hormondur.



Şekil 2.23. Aldosteron formülü

Aldosteron, aldosteron sentaz enzimi tarafından kolesterolden sentezlenir. Aldosteron antagonistleri, böbrekleri etkilerek sodyum iyonları yerine potasyum iyonlarının dışarı atılmasına ve su tutulmasına yol açar. Aşırı aldosteron üretilmesi (hiperaldoosteronizm) ödeme ve atardamar basıncı yükselmesine (yüksek tansiyon), yetersiz aldosteron üretilmesi ise su kaybına neden olur.

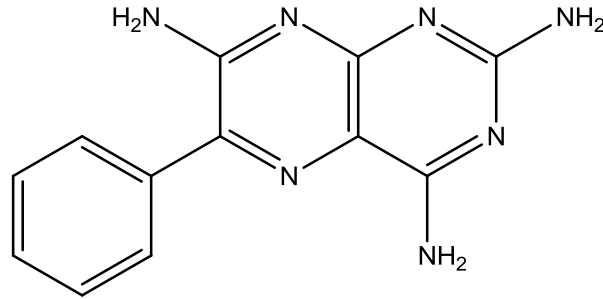
Spironolakton (Şekil 2.24.), spesifik aldosteron antagonistidir. Aldosteron reseptörlerine bağlanarak, distal tübülüslerde potasyumu tutup, sodyumu ve suyu atarak etkisini gösterir.



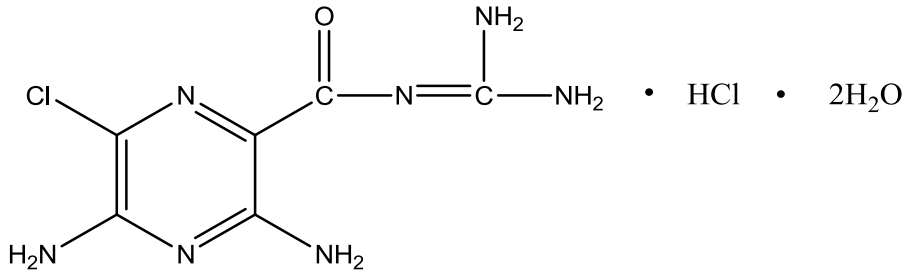
Şekil 2.24. Spirolakton formülü

Spironolaktunun kullanım alanları akut böbrek yetmezliği, hiperpotasemi ve önemli böbrek fonksiyon bozukluklarıdır. Yan etkileri ise, gastrik kanama, ülserasyon, kusma, ve diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklar, uyuşukluk ve uyku hali, halsizlik, baş ağrısı, ciltte kızarıklık ve döküntüler, kadınlarda menstrüasyon bozuklukları, erkeklerde jinekomasti, hiponatremi ve hiperkalemidir.

2.  $\text{Na}^+$  kanalı inhibitörleri, sikloamidin yapısını içeren triamteren (Şekil 2.25.) ve amilorit hidroklorür (Şekil 2.26.) toplayıcı kanalda ve distal tübülün son kısmında sodyum kanallarını bloke ederek etkilerini gösterirler.



Şekil 2.25. Triamteren formülü



Şekil 2.26. Amilorit hidroklorür formülü

$\text{Na}^+$  kanalı inhibitörleri, sodyum iyon proton değişiminide inhibe ederler.  $\text{K}^+$  koruyucu etkileri spironolaktona benzer ve etkileri aldosterondan bağımsızdır.

### 2.3.3 Diüretik özelliğe sahip doğal ilaçlar

Bitkiler binlerce yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu konuyla ilgili en eski bilgiler Halep'in güneyinde Elba yakınında bulunan kraliyet arşivindeki çivi yazısında yazılmış olan tabletlerdir ve bu tabletlere göre en az 5000 yıldan beri tedavi alanında kullanılmaktadır. Bitkisel kökenli droglar çok eski devirlerden beri hastalıkların tedavisinde kullanılmakla beraber etkili bileşikleri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilgiler ancak 19. yüzyıl ortalarından itibaren yaklaşık yüz seneden beri bilinmektedir (Baytop, 1984).

Anadolu'da tıbbi bitkiler ile ilgili bilgilerin temeli Hititler dönemine kadar dayanmaktadır. Bu dönemde Anadolu'da bazı tıbbi bitkilerin yetiştiği, haşhaş, mazi ve safran gibi bazı drogların dış satımının yapıldığı bilinmektedir (Baytop, T., 1984).

Bugün sağlık alanında, genellikle halk ilaçlarının yerini sentetik ilaçların almasına karşın, dünyanın birçok yöresinde doğal ve bitkisel kaynaklı ilaçların kullanılışı hala yaygınlığını sürdürmektedir. Çok zengin bitki örtüsüne sahip Anadolu'da özellikle kırsal kesimde geleneksel halk ilaçları yapımında ve bazı hastalıkların tedavisinde birçok bitkinin kullanıldığı bilinmektedir. Ancak bitkisel halk ilaçlarının bilimsel yönden araştırılarak olumlu veya olumsuz etkilerinin saptanması halk sağlığı bakımından yararlı olacaktır.

Halk arasında çeşitli hastalıkların tedavilerinde kullanılan birçok bitki bulunmaktadır. Bunlar arasında, dut yaprağı, kuşburnu, lahana, mısırpüskülü, roka, pazı, rezene, maydanoz, soğan, kabak, sarımsak, karnabahar, kiraz sapı, nane, yeşilçay ve ıhlamur gibi birçok bitki diüretik özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır. Diüretik bitkiler idrar söktürücü, vücuttaki fazla suyun atılmasında, mide ve renal rahatsızlıklarda ve böbrek taşlarının düşürülmesinde kullanılmaktadır.

## 2.4 Üreaz

Üreaz (üre amidohidrolaz, E.C. 3.5.1.5.), yapısında nikel bulduran bir metaloenzimdir (Kayastha ve diğ., 1999). Bu enzim ürenin hidrolizinden amonyak ve karbondioksit oluşum reaksiyonunu katalizler (Tanaka ve diğ., 2004). Bir molekül ürenin hidrolizi sonucu iki molekül amonyak bir molekül karbondioksit serbest hale gelir (Sırko ve diğ., 2000).



Üreaz enzimine özel ilgi gösterilmesinin başlıca üç nedeni vardır. İlk neden 1926'da Sumner tarafından soya fasulyesinden kristal halde izole edilen ilk enzim olması, ikinci neden proteinlerdeki sülfhidril gruplarının varlığının 1951'de aynı araştırmacı tarafından ilk kez üreaz için tanımlanmış olması, üçüncüsü ise 1975'de Dixon ve arkadaşları tarafından metaloenzimler içerisinde nikel içeren ilk enzim olduğunun bulunmasıdır (Qin ve diğ., 2002).

Üreaz enziminin sistematik adı üre amidohidrolaz olmakla birlikte Uluslar arası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUB) tarafından belirlenen enzim kod numarası E.C. 3.5.1.5.'dir.

Bu sıralamaya göre;

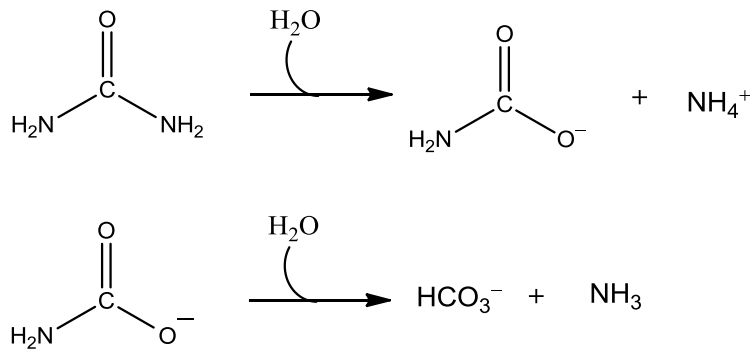
3: Tip no: Enzimin bir hidrolaz sınıfı olduğunu

5: Grup no: Enzimin C-N bağlarına etkili olan amidaz alt grubuna dahil olduğunu

1: Alt grup no: Enzimin bir açilamidaz olduğunu

5: Sistematik ad: Enzimin sistematik adının “*üre amidohidrolaz*” olduğunu gösterir.

Üreaz, ürenin hidroliz reaksiyonunu normal reaksiyonlara göre 1014 kat daha hızlı katalize eder (Kayastha ve diğ., 1999, Hirayama ve diğ., 2000). Normalde ürenin hidrolizi yavaş gerçekleşen bir işlemdir (Blakeyand ve diğ., 1984). Katalizör olmadan gerçekleşen reaksiyonda oluşan ürünler amonyak ve siyanik asittir. Katalizör varlığında gerçekleşen reaksiyonda ise ürünler amonyak ve karbonik asittir. Son olarak karbonik asit kendiliğinden parçalanarak karbondioksit ve suya dönüşür (Şekil 2.27.) (Ciurcu ve diğ., 1999).



**Şekil 2.27.** Ürenin katalizörsüz reaksiyonu

Fizyolojik pH'larda amonyak su varlığında iyonlarına başlarken, karbonik asit protona dissosiyeye olur ve bunun sonucunda net bir pH artışı oluşur (Amtul ve diğ., 2002).





Üreaz birçok bitki, alg, omurgasız, lifli mantarlarda ve bakterilerde bulunan bir enzimdir (Lubbers ve diğ., 1996) ve azot sirkülasyonunda önemli rol oynar (Krajewska ve diğ., 2001). Ayrıca zirai gübrelemede ürenin hidrolizini hızlandırmada, insan ve hayvanlarda gastrointestinal ve renal hastalıkların engellenmesinde önemli rol oynar.

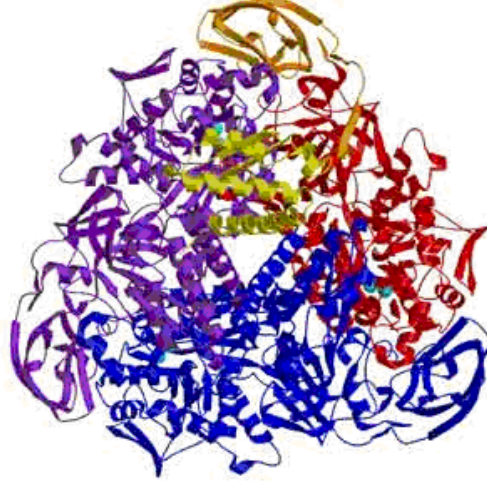
En yaygın üreaz içeren kaynaklar şunlardır;

- *Klesbsiella aerogenes*: Geviş getiren hayvanların sindirim sisteminde yaşayan ve içerdiği üreaz (KAU) sayesinde azot metabolizmasında önemli rol oynayan bir bakteridir.
- *Bacillus pasteurii*: Toprakta, sularda ve pis sularda yaşar. Özellikle ziraat için çok önemlidir. İçerdiği üreaz (BPU) sayesinde bitkiler için toprağı azotça zenginleştirir.
- *Canavalia ensiformis*: Bir tür fasulyedir. Bulunduğı bitkide topraktan azot emiliminin yeterli olmadığı durumlarda azot deposu olarak kullanılan argininin açığa çıkardığı üreyi içerdiği üreaz (JBU) sayesinde amonyaga çevirerek azot kaynağı olarak kullanılmasında yardım eder.
- *Helicobacter pylori*: İnsanlarda mide rahatsızlığına sebep olan bir bakteridir. Midenin asidik yapısını etkileyerek ülser vb. rahatsızlıklara sebep olur (Demiray ve diğ., 2007).

#### 2.4.1 Üreaz enziminin yapısı

Üreaz genellikle bakteri, mantar ve bitki çeşitlerinde yaygın olarak bulunur. Üreazların yapıları, alt birimlerinin yapısı ve sayıları, moleköl ağırlıkları ve aminoasit dizilişleri çeşitli kaynaklardan elde edilişlerine göre farklıdır (Kot ve diğ., 2000). Mantar ve bitki üreazları alt birimlerinin proteinleri homo-hekzamerik yapıda iken, bakteriyel üreazların iki veya üç alt birim kompleksleri multimer yapıdadır (Becker-Ritt ve diğ., 2007).

Üreaz monomer olarak aktiftir ve multimerik yapıda genel olarak trimer ya da hekzamer olarak bulunur (Şekil 2.28.). Polipeptit zincirinin 840 amino asitten oluşan alt biriminin moleköl ağırlığı 90.7 kDa'dır. Üreazın yaklaşık moleköl ağırlığı 545.365 kDa olarak bulunmuştur (Takashima ve diğ., 1988).

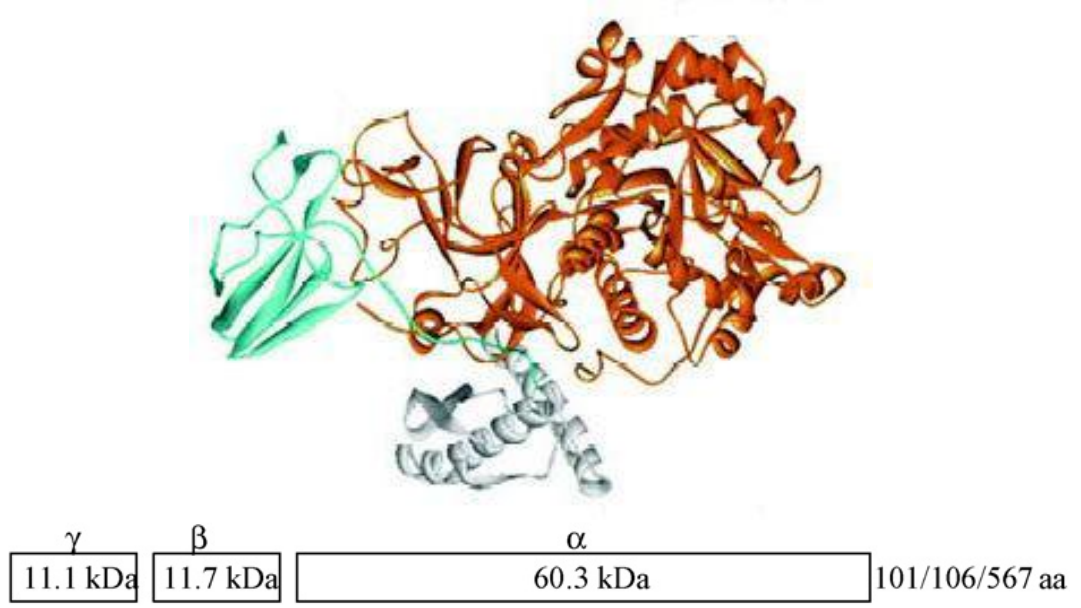


**Şekil 2.28.** Üreaz enzimin üç boyutlu yapısı

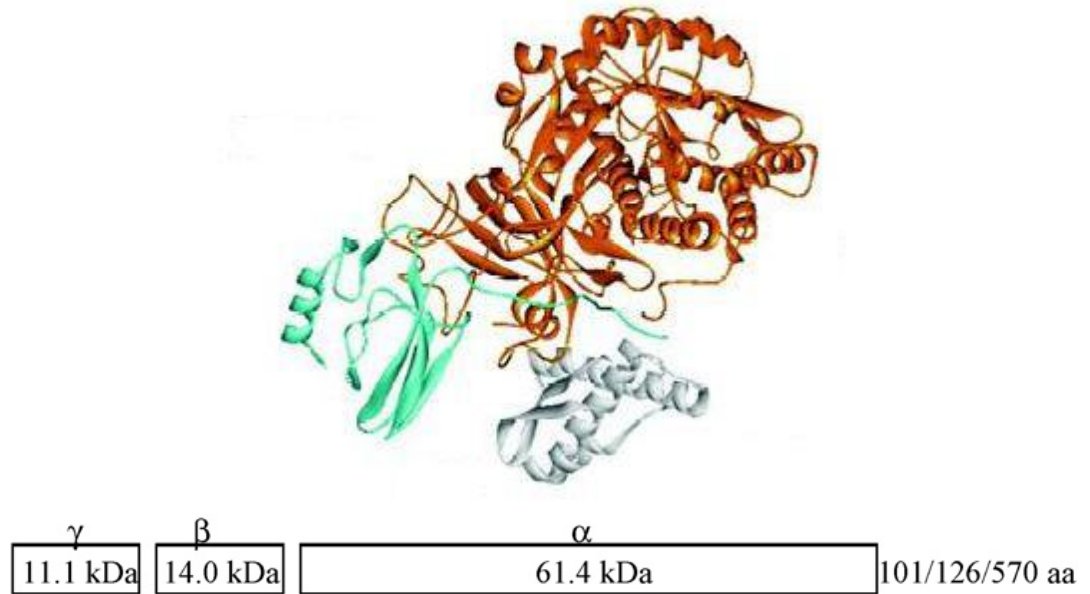
En çok bilinen üreazlar yeşil fasulye ve soya fasulyesi bitkilerinden elde edilenlerdir. En iyi karakterize edilen üreaz ise yeşil fasulye (*Canavalia ensiformis*) bitkisinden elde edilen enzimdir. Yeşil fasulye üreazı kristalize olarak elde edilen ve aynı zamanda yapısında nikel olduğu gösterilen ilk enzimdir (Follmer, C., 2008). Jack bean üreaz 91 kDa molekül ağırlığına sahip, altı benzer monerik alt birimin hegzameri olarak mevcuttur (Weber ve diğ., 2008).

Bitki üreazları ile ilgili en iyi genetik veriler ise soya fasülyesi (*Glycine max*) üreazına aittir. Üreaz, soya fasulyesi ve yeşil fasulye gibi tohumlarda bol miktarda bulunurken diğer tip üreazlar bitkinin vejetatif dokularında daha düşük miktarlarda bulunmaktadır (Sırko ve diğ., 2000).

Bakteriyel kaynaklı üreazlardan en iyi bilinenler, *Klebsiella aerogenes* üreazı (Şekil 2.29.), *Bacillus pasteurii* üreazı (Şekil 2.30.) ve *Helicobacter pylori* üreazı (Şekil 2.31.)'dir. Bu enzimlerin alt birimleri  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  olarak adlandırılan üç alt birimin oluşturduğu bir heteropolimerdir ve aktif merkezleri  $\alpha$  alt birimlerinde bulunur. *Klebsiella aerogenes* üreazının, aktif bölgesinde iki nikel atomu bulunur (Carter ve diğ., 2009). *Klebsiella aerogenes* üreazı üç farklı alt birime sahipken, yüksek ürolitik toprak bakterisi olan *Bacillus pasteurii* üreazının üç alt biriminden bir tanesi heteropolimerik olarak *Klebsiella aerogenes* ile benzer alt birime sahiptir (Amtul ve diğ., 2002).

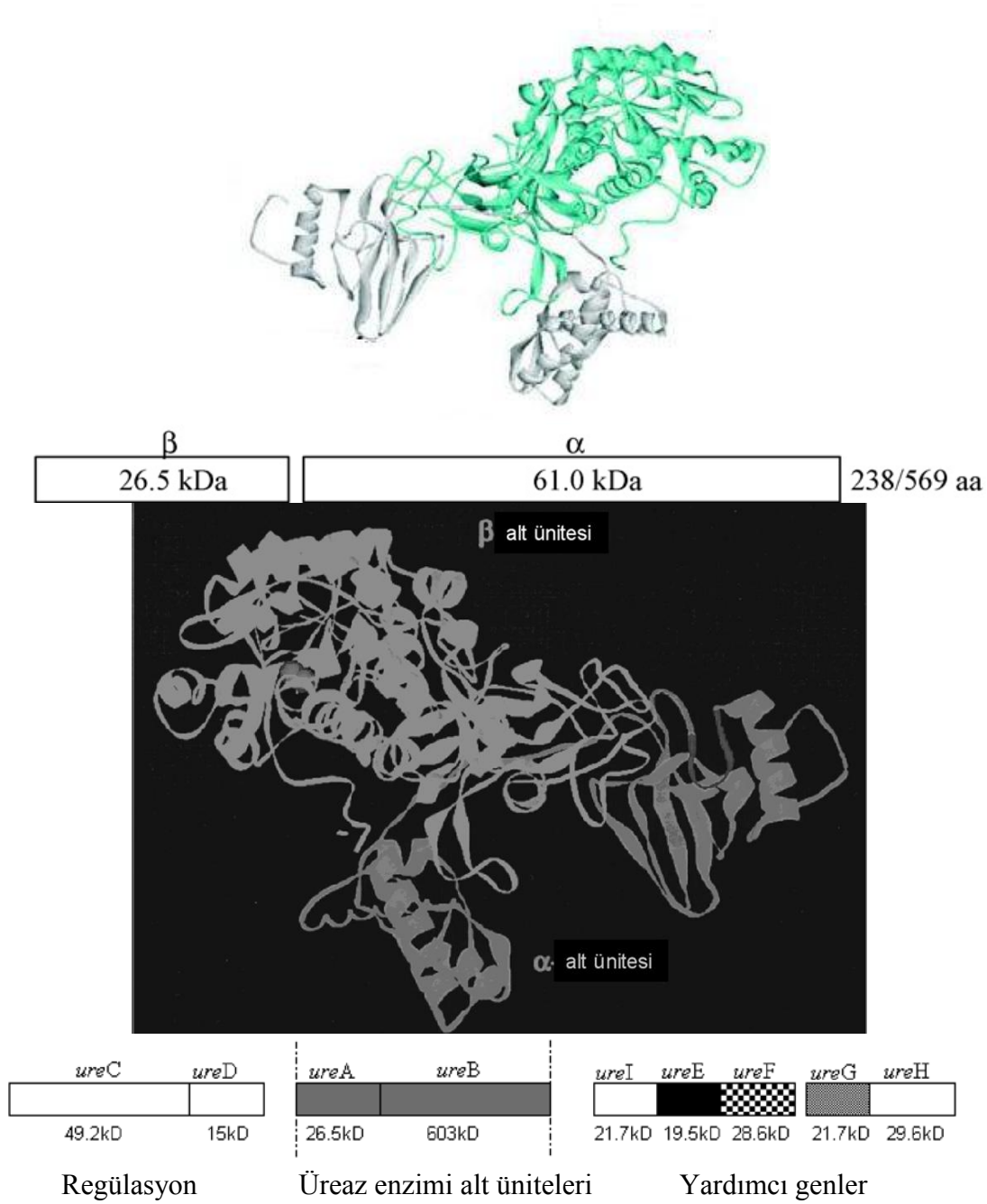


**Şekil 2.29.** *Klesbsiella aerogenes* üreazının üç boyutlu yapısı



**Şekil 2.30.** *Bacillus pasteurii* üreazının üç boyutlu yapısı

Bir diğer bakteriyel kaynaklı üreaz *Helicobacter pylori* üreazıdır (Şekil 2.38.). *Helicobacter pylori*'nin ürettiği üreaz enzimi 550 kDa ağırlığında nikel içerikli bir enzimdir. Ürenin üreaz enzimi tarafından hidrolizi sonucu oluşan amonyak mide asidini nötralize ederek *Helicobacter pylori*'nin kolonizasyonuna yardımcı olur (Dunn ve diğ., 1990). *Helicobacter pylori* üreazı yapısında iki alt birim içermektedir ve heterodimer yapıdadır (Dunn ve diğ., 1990, Becker-Ritt ve diğ., 2007).



**Şekil 2.31.** *Helicobacter pylori* üreazının yapısı

Üreaz enzimi operonu *H. pylori* kromozomunun 34 kb kısmında bulunur. Üre operonu, *UreA* ve *UreB* olan iki yapısal alt üniteyi, *UreC* ve *UreD* olan iki regülatör alt üniteyi kodlar. Ayrıca *Ure-I*, *UreE*, *UreF*, *UreG*, *UreH* olan beş yardımcı proteini kodlar. Regülatör genler *ureC* ve *ureD* bir mRNA transkriptinde, yapısal genler *ureA* ve *ureB* ikinci mRNA transkriptinde ve yardımcı genler *ureI*, *ureE*, *ureF*, *ureG* ve *ureH* üçüncü mRNA transkriptinde gösterildi. (Şekil 2.29) ayrıca, *ureD* ve *ureA* arasında 420 bp *ureB* ve *ureI* arasında ise 200 bp intergenik bir bölge olduğu bildirilmektedir .



### 2.4.3 Üreaz enzim inhibitörleri

Üre, zirai uygulamalarda en yaygın kullanılan gübredir. Ürenin gübre olarak kullanılmasının nedeni, ucuz ve kolay uygulanabilir olması ve yüksek miktarda azot içermesidir. Toprakta yüksek üreaz aktivitesi bitkilerin amonyak zehirlenmesine ve pH artışıyla zarar görmesine sebep olduğu için problem oluşturur. Bazı topraklarda ise amonyak atmosfere verilir ve bu da çevre için tehdit oluşturan ve çözülmesi gereken bir sorundur (El-Sherif ve diğ., 2001). Bu nedenle üreaz inhibisyonu ve buna bağlı stratejiler, üreaz üreten bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlar için tedavi olarak kabul edilir (Ahmad ve diğ., 2008).

Üreaz aktivitesi tarım endüstrisi yanında tıp ve çevresel olarak da zararlı olabilecek birçok klinik durumların olgularında önemli viral bir belirteçdir. Üreaz böbrek taşı rahatsızlıklarının oluşumuyla doğrudan ilişkilendirilerek, hepatik koma, peptik ülser, ürolityaz, gastrit ve piyelonefrit gibi birçok hastalıkların gelişiminde sorumlu olan patojenlerde tehlikeli bir faktör oluşturur (Ahmad ve diğ., 2008, Lodhi ve diğ., 2005).

İnsanlarda ve hayvanlarda üreaz içeren patojenlerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların geliştirilebilmesi ve çevreye verilen bu olumsuz etkilerin onarılabilmesi için üreaz inhibitörü üzerinde yapılacak çalışmalar oldukça önemlidir (Amtul ve diğ., 2002).

Üreaz inhibisyonu üzerindeki çalışmalar fizyolojik durumların çeşitliliğine göre kullanılan ilaçların kullanımında yol gösterene kadar tıp alanındaki araştırmalarda önemi yok sayılmıştır (Ravi Charan Reddy ve diğ., 2006).

Üreaz inhibitörleri iki alt sınıfa ayrılmaktadır.

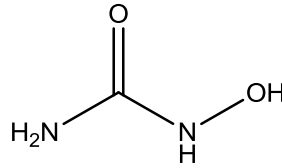
- İnhibitor olarak davranan substratlar: Hidroksiüre ve hidrosamik asit türevleri
- İnhibitörler: Fosfordiamidazlar ve proton pompası inhibitörleri olan Lansaprazol, Omeprazol, Rabeprazol gibi imidazoller (Tanaka ve diğ., 2003).

Bu alt sınıf dışında da diüretik özellik gösteren bazı ilaçlar bulunmaktadır. Bu ilaçlara örnek olarak fenofibrat verilebilir.

Hidrosamik asit türevleri farklı fonksiyonel gruplar içeren kimyasal bileşikler sınıfıdır. Genel formülü  $R-CO-NH-OH$  şeklindedir. Hidroksiüre, antitümör, antifungal, antibakteriyel ve antiinflamatuvar gibi birçok biyolojik aktivitelere neden

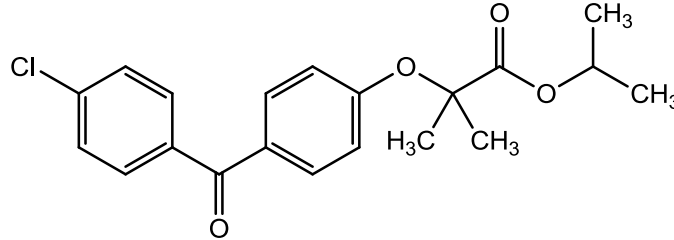
olan demir taşıyan mikrobiyal hücrelerle ilişkilendirilen hidroksamik asitle yapısal olarak bağlantılıdır (Saban ve diğ., 2009).

Hidroksiüre (Şekil 2.33.), *Helicobacter pylori* üreazını içeren çeşitli mikroorganizmaları ve *jack bean* üreazını içeren çeşitli bitkileri inhibe etmesiyle bilinir. *Helicobacter pylori* üreazı, insanlarda mide kanseri oluşumunda yüksek risk oluşturmaktadır (Uesato ve diğ., 2002). Hidroksiüre, antimetabolit ailesine ait olan bir antiülser ilaçtır (Saban ve diğ., 2009).



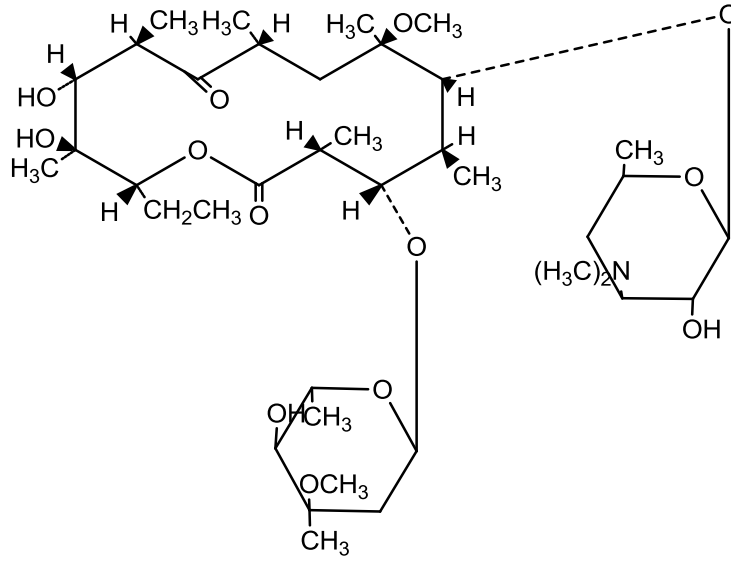
Şekil 2.33. Hidroksiüre formülü

Fenofibrat (Şekil 2.34.), fibrik asit türevidir. Fenofibrat, plazmada trigliseridden zengin partiküllerin emilimini ve lipolizini artırır. Hiperproteinemili hastalarda plazma ürik asit düzeyi % 20 oranında artar. Fenofibratin ürikozürik aktivitesi vardır.



Şekil 2.34. Fenofibrat formülü

*Helicobacter pylori* enfeksiyonunun gastrit, peptik ülser ve gastrik kanser gibi gastroduodenal hastalıklarla olan ilişkisi iyi bilinmektedir. *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde öncelikle proton pompası inhibitörleri ve bunlara ek olarak klaritromisin (Şekil 2.35.) gibi antibiyotikler kullanılmaktadır (Özer ve diğ., 2004).

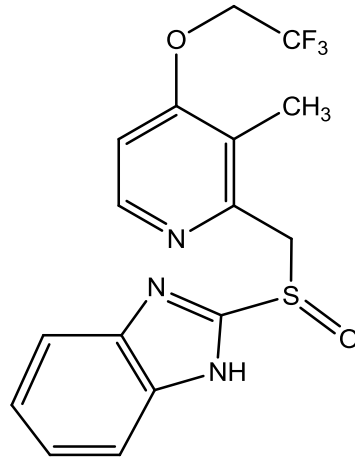


**Şekil 2.35.** Klaritromisin formülü

Peptik ülser tedavisinde proton pompası inhibitörleri (PPI) kullanılır ve PPI'leri mide asit sekresyonunun farmakolojik kontrolünde çok önemli bir kilometre taşı olmuştur. Mide asit sekresyonunu yüksek miktarlarda inhibe etmeleri, en önemli özellikleridir. Ayrıca, PPI'leri; *Helicobacter pylori*'nin gastrik mukoz membranında kolonizasyonunu engeller, bakterinin büyümesini inhibe eder, epitel hücrelerinin adezyonunu ve üreaz aktivitesini inhibe eder (Göral, 2003).

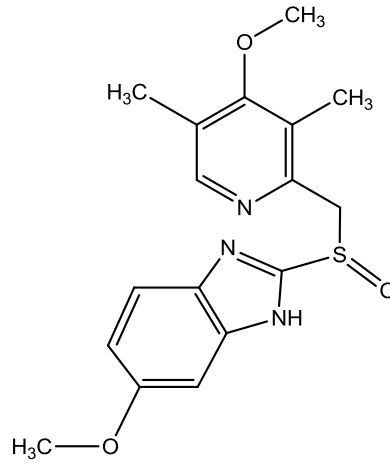
PPI'leri mide asidiyle ilişkili hastalıklar, reflü rahatsızlığı, duodenal ülser ve gastrik ülser tedavisi için seçilen ilaç sınıfıdır. Proton pompası inhibitörlerinin başında lansaprazol (Şekil 2.36.) ve omeprazol (Şekil 2.37.) gelir (Horn, 2000).

Üreaz ürenin hidroliziyle, tahriş edici amonyak oluşturarak ülserojenik etkinliğe katkıda bulunur. Lansaprazol, HP'nin mide mukozasında çoğalmasını ve bu bakterinin üreazının etkinliğini azaltır. Lansaprazol'un yan etkileri, diyare, bulantı, baş ağrısı ve astenidir (Kayaalp, 2005). Lansaprazol, mide ve duodenum ülseri, asitle ilişkili dispepsi, Zollinger-Ellison sendromu, gastroözofajeal reflü hastalığı ve düşük dozda aspirin kullanımı sonucu oluşan peptik ülserinin tedavisinde kullanılır (Kayaalp, 2005, Kam Chuen Lai, ve diğ., 2002).



**Şekil 2.36.** Lansaprazol formülü

Omeprazol, tedaviye ilk giren benzoimidazol türevi PPI ilaçtır. Lansaprazol ile benzer tedavilerde kullanılarak, hemen hepsi aynı yan tesiri gösterir (Kayaalp, 2005).



**Şekil 2.37.** Omeprazol formülü

Üreaz aktivitesini etkilediği bilinen diğer inhibitörler arasında hidrosamik asit türevleri, tioller, borik asit ve boranik asit, bizmut bileşikleri, fosforamidaz ve ağır metal iyonları sayılabilir (Amtul ve diğ., 2002, Zhang ve diğ., 2006, Ravi Charan Reddy ve diğ., 2006).

Bizmut bileşikleri, uzun zamandan beri tüm dünyada dispepsi, diyare ve peptik ülser hastalıklarında tedavi edici etken olarak kullanılmaktadır (Zhang ve diğ., 2006). Çeşitli çalışmalarda *Helicobacter pylori*'nin oluşturduğu bakteriyel etkilere karşı birçok bizmut bileşiklerinin etkili olduğu gösterilmektedir (Zhang ve diğ., 2006).

#### 2.4.4 Üreaz enziminin kullanım alanları

Üreazın kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir;

- Biyolojik sıvılarda üre miktarının hesaplanmasında
- Yapay böbrekte ürenin kandan uzaklaştırılmasında
- Atık sularda ürenin temizlenmesinde
- Gıda endüstrisinde üreyi meyve suyu ve yiyeceklerden uzaklaştırmakta kullanılır (Akgöl ve diğ., 2002).

Biyolojik sıvılarda üre miktarının hesaplanmasında; üre vücudumuzda metabolik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan ve böbreklerden idrar yoluyla sürekli atılan en önemli toksik maddelerden biridir (Akgöl ve diğ., 2002). Amino asitlerin başlıca  $\alpha$ -amino asidinden türeyen amonyak insanlarda potansiyel olarak toksik etkilidir. Vücut bu toksik olan amonyaktan toksik olmayan üreyi meydana getirir. Amonyakın üreye çevrilişi ve üre döngüsündeki metabolik yolun normal işleyişi sağlığın korunması için esastır. Bazı sirozlu hasta bireylerde ve ağır hepatitli hastalarda karaciğer fonksiyonları ciddi bir şekilde etkilendiğinden amonyak kanda birikir ve klinik semptom ve belirtilere yol açar. Amonyak zehirlenmesinin semptomları, konuşmanın peltekleşmesi, görmede bulanıklık, ağır vakalarda koma ve ölümü kapsar. Tedavi, kan amonyak düzeyini düşürmek üzere tasarlanan tedbirleri kapsar (Murray ve diğ., 1993).

Üreazın biyokatalizör olarak üre biyosensörlerinde kullanımının geliştirilmesi biyokimya ve klinik analizcilerin ilgisini çekmeye devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda genel prensip immobilize üreaz ile membran yüzeyi kaplanarak oluşturulan biyosensörlerde ürenin amonyum ve bikarbonata dönüştürülerek ürün miktarını gözlemektir (Singhal ve diğ., 2002).

Yapay böbrekte ürenin kandan uzaklaştırılmasında; böbrek bir boşaltım organıdır. Vücutta biriken üre, ürik asit gibi metabolizma atıklarını dışarı atarak elektrolit ve su kaybını düzenler. İnsan vücudu günde yaklaşık 1,4 L suyu idrar yoluyla atar. Bu şekilde vücut idrarda bulunan zararlı madde olarak adlandırılan çeşitli kimyasal maddeleri atmış olur. Bu zararlı maddelerin vücuttan atılmasıyla böbrekler organizmadan zararlı zehirli maddelerin atılması gibi hayati öneme sahip işlevini yerine getirir. Böbrek fonksiyonlarının göstergesi olarak kandaki üre ve kreatinin seviyesi önemlidir. Böbreğin fonksiyonunu yerine getiremediği durumlarda kanda üre birikir. Böbrek yetmezliği çeken hastalarda ürenin fazlasının ortamdaki

uzaklaştırılması büyük bir problemdir. Böbreğin fonksiyonlarını yürütemediği durumlarda hasta hayatının devamını sağlamak için bu fonksiyonları üstlenen çeşitli yapay böbrek sistemleri geliştirilmiştir (Kayastha ve diğ., 1999).

Atık sulardaki ürenin temizlenmesinde, üre diyaliz çözeltisinde bulunan bir atıktır. Her kullanımda yaklaşık 100 ile 300 L diyaliz suyu oluşur. Hem çevrenin korunması hem de bu suyun tekrar kullanılabilmesi için ürenin bu ortamdan uzaklaştırılması gerekir (Chen ve diğ., 2000).

## **2.5 H. Pylori'nin tarihçesi**

1983'de Barry Marshall ve Robin Warren tarafından mide biyopsi örneklerinde H. Pylori'nin üretildiğinin bildirilmesine dek, bazı hayvan çalışmalarında spiral bakterilerin saptanmasına karşın, birçok araştırmacı tarafından asit ortamı nedeni ile steril kabul edilen midede, bakteriyel çalışmalar gözardı edilmiştir (Marshall ve diğ., 1984).

Midedeki bakteriyel çalışmaların tarihine bakıldığında ilk kez 1893' de köpek midesinde, 1896' da ise fare ve kedi midesinde spiral şeklinde mikroorganizmaların varlığı bildirilmiştir. 1906' da Krenitz, insanlarda benzer mikroorganizmalar tanımlamış, mide kanserli hastaların mide içeriklerinde bakteri bulunduğunu belirtmiştir. 1938' de Donges, otopsilerden aldığı mide içeriklerinde bu bakterinin sıklığını % 43 olarak saptamış, ancak mide hastalıkları ile ilişkisini bulamamıştır. 1940'larda Freedburg ve Barron ülser veya kanser nedeni ile parsiyel mide rezeksiyonu yapılan 35 hastadan 13'ünde spiral bakteri saptamışlardır. H. Pylori' nin salgıladığı üreaz enzimini ise ilk kez 1924 yılında Luck ve Seth tanımlamıştır. 1955'de Kornberg ve Davies, gastrik üreaz aktivitesinin genelde korpusa lokalize ve bakteriyel kaynaklı olduğunu göstermişlerdir. 1975' de Steer ve Collin-Jones, mide ülserli hastaların mide mukozalarından alınan biyopsilerde, mukus tabakası altında bakteri varlığını göstermişler, bu bakterinin mukozal direnci kırarak ülserle neden olabileceğini belirtmişlerdir. Fakat bakteriyi kültüre edemedikleri için konu tartışmalı olarak kalmıştır (Dooley, 1993). 1980' li yıllarda Warren (Marshall ve diğ., 1984), Avustralya'da aktif gastritli 135 hastanın mide mukozasında, Campilobakter Jejuni benzeri kıvrımlı spiral basili gözlemiş, 1982'de ise Warren ve Marshall, standart Campilobakter kültür ortamına ve seçici olmayan besiyerlerine antral biyopsi örneklerini ekerek bakteriyi izole etmeyi başarmıştır (Marshall ve diğ., 1983-1984).

Önceleri Campilobakter benzeri mikroorganizmalar olarak isimlendirilen bakteri, daha sonra öncelikle antrumda yerleşmesi nedeni ile Campilobakter Pylori adını almış ancak enzimatik ve fonksiyonel açıdan farklı özelliklerinin saptanması sonrasında helikal görünümünden dolayı Helikobakter Pylori adını almıştır (Dooley, 1993).

### **2.5.1 Mikrobiyolojik özellikleri**

H.Pylori, gram (-), unipolar, kıvrımlı veya spiral, hareketli, kunt ve yuvarlak uçlu, 4-6 unipolar kirpiğe sahip, mikroaerofilik, 0.5-1 mikrometre genişliğinde 2.5-4 mikrometre boyunda bir bakteridir. H.Pylori, canlıda spiral şekillidir. Üremesi için uygun olmayan koşullarda ise yuvarlak, düzensiz çubuk şeklinde görülür. Campilobakterlerin tersine flageli kılıflıdır ve distalde yine Campilobakterlerde görülmeyen uç şişkinlikler ve disklerle sahiptir. H.Pylori'nin, hücre duvarı 12-15 nm çapında altünitelerden oluşmaktadır (Goodwin ve diğ., 1993). Bakteriler üreaz, katalaz ve oksidaz (+) dirler. Zorunlu mikroaerofildirler. H.Pylori' nin üremesi için ortama eklenen karbondioksit yanında optimal oksijen konsantrasyonu % 2-8 dir (Goodwin, ve diğ., 1993). H.Pylori enerjisini muhtemelen aminoasit ve yağların metabolizmasından sağlamaktadır (Goodwin ve diğ., 1993).

H.Pylori'yi doku kesitleri ve yayma preparasyonlarda görüntüleyebilmek amacı ile, hematoksileneosinin yanısıra, Warthin-Starry gümüş boyası, akridin oranj, gram boyama ve giemsa kullanılmaktadır. Bakteriler dokuda mukus altında, epitel hücrelerinin yüzeyinde ve lümende görülürler (Goodwin ve diğ., 1993).

### **2.5.2 Epidemiyoloji**

H.Pylori enfeksiyonu dünyada sık olarak gözlenmektedir. Duodenal ülserli hastaların %95 inde, gastrik ülserlilerin ise % 70-80 inde saptanmıştır. Ülseri olmayan dispepsili hastalarda oran % 50 ' dir. H.Pylori taşıyan hastalarda peptik ülser riski taşımayanlara göre yüksektir. Benzer şekilde mide kanseri ve lenfomalara % 90 oranında H.Pylorinin eşlik ettiği gözlenmiştir (Forman, 1995). Genel olarak H.Pylori yalnızca insanlar için patojendir. H.Pylori enfeksiyonu birincil olarak çocukluk çağında edinilmekte, ancak seroprevalansı yaşla birlikte artmaktadır. H.Pylori'ye rastlanma oranı sosyo-ekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha yüksek bulunmuştur. Batılı ülkelerde 40 yaşın altındaki kişilerin % 20 si, 60 yaş

üzerindekilerin de % 50 si H.Pylori ile enfektidir. 20 yaşın altındakilerde prevalans % 20 nin altındadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise prevalans % 80 e ulaşmaktadır (Megraud, 1993).

Buna göre sosyoekonomik durum, genetik özellikler, hijyen durumu, aile içi yaşam alışkanlıkları H.Pylori'nin farklı popülasyonlardaki dağılımını yakından etkilemektedir. H.Pylori'nin eşler arasında geçişi olasıdır, fakat seksüel aktivite bir risk faktörü değildir. Endoskopistler, üst gastrointestinal sistem salgıları ile temas eden sağlık personeli, diş hekimleri risk gruplarını oluşturur (Megraud, 1993). Yapılan bazı çalışmalarda bakteri dental plak ve tükürükten izole edilmiştir. Bu bulgular bakterinin oral geçişini göstermektedir. Bununla birlikte H.Pylori'nin feçesten üretilmesi fekal-oral geçişi de doğrulamaktadır (Megraud, 1993).

### **2.5.3 Patogenez**

Bakterinin patojenite özellikleri, konakçıda yerleşmesini sağlayan kolonizasyon faktörleri, kolonizasyonun devamı ve bakterinin yaşamını sağlayan devamlılık faktörleri, mide mukozasında hasar yaratan hastalık oluşturuçu faktörler ile ilişkilidir (Peek ve diğ., 1995). Sadece mide epitelinde kolonize olabilen H.Pylori, metaplastik mide epitelinin varlığında özofagus ve duodenumda da yerleşebilir (Elitsur ve diğ., 1997).

H.Pylori'nin tam olarak hangi mekanizmalarla mide epitelinde zarar oluşturduğı anlaşılamamıştır. Mikroorganizma, sitotoksin, üreaz, müsinaz, lipaz, fosfolipaz A, hemolizin gibi bir çok enzim ve toksin salgılamaktadır. Organizmanın ayrıca kişinin mukus bariyerini zayıflatan bir proteaz ve doku kültüründe hücrelerde vakuolizasyona neden olan bir sitotoksin salgıladığı da bilinmektedir (Vac A). Bu sitotoksin H.Pylori vakalarının % 60'ında gösterilebilen 87 Da ağırlığında bir proteindir. 128 kDa ağırlığında bir başka protein ise Cytotoxin associated gene A (Cağ A) olarak adlandırılmıştır (Correa ve diğ., 1990). Cağ A proteini taşıyan suşların, Cağ A taşımayanlara göre daha virulan oldukları bilinmektedir (Blaser, 1998). Bu iki protein ve onları kodlayan gen lokusları yanında İce A olarak isimlendirilen üçüncü bir genetik lokus da saptanmıştır (Rudi ve diğ., 1999). Bu belirteçler, birbirlerinden bağımsız olmamakla birlikte farklı mide hastalıklarında risk derecesini yansıtabilmektedir. Gelecekte H.Pylori genotiplerinin bilinmesi farklı

hastalık gruplarında risk altında bulunan kişilerin saptanmasına olanak sağlayacaktır (Rudi ve diğ., 1999).

Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar sonucunda bakterinin E. Coli'ye benzeyen yapışma ayakçıkları ve bazı adhezyon proteinleri ile hücre zarına yapışabildiği ve direkt mekanik etki ile hücre ayrışmasına yol açabildiği düşünülmüştür (Wadström ve diğ., 1996). Son yıllarda infeksiyon sırasında ortaya çıkan iltihap ve iltihap medyatörlerinin hücresel zararı oluşturduğu görüşü ağırlık kazanmaktadır (Crabtree, 1996).

#### **Patogenetik Mekanizmalar:**

**Spiral şekil, flagel ve motilite:** H.Pylori flagelleri sayesinde sahip olduğu hareket yeteneği ve spiral şekli nedeni ile kolaylıkla mukus tabakasını delip altına geçebilir. H.Pylori'nin hareketliliği en önemli virulans faktörü olarak karşımıza çıkar. Domuzlarda yapılan çalışmalarda en virulan suşların en hareketli suşlar olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde flageli olmayan mutant suşların virulan olmadığı saptanmıştır (Goodwin ve diğ. , 1993).

**Spesifik fosfolipidlere bağlanma:** Mukus tabakasının penetrasyonunu takiben, organizmalar burada bulunan fosfatidiletanolamin, gangliozid GM3 ve O kan grubu taşıyan kişilerde bulunan LewisX antijeni gibi özel bazı fosfolipidlere bağlanarak mukus sekrete eden epitelyal hücrelerin arasındaki sıkı bileşkelerde selektif olarak kolonize olurlar (Logan, 1996).

**Üreaz:** H.Pylori üreaz enzimi 550 kDA ağırlığında heksamerik bir moleküldür. Ürenin amonyum iyonu ve suya hidrolizini sağlar. Üreaz enzimi, mide mukozasında konağın direnç mekanizmalarını ortadan kaldırarak enzim bazik bir ortam oluşturarak bakterinin midenin asit ortamından korunmasını sağlar. Ayrıca bu bazik ortam negatif feed-back etkiyi ortadan kaldırarak, G hücrelerinden Gastrin salınımını uyarır ve artan asit sekresyonu ile gastrit oluşumuna katkıda bulunur (Did ve diğ., 1994) ya da direkt ve immünolojik yollar ile hasar oluşturur (Moblely, 1996).

#### **2.5.4 H. Pylori tanı yöntemleri**

H.Pylori'nin tanısı için kullanılan testleri başlıca iki grupta toplayabiliriz.

1-İnvaziv testler

2-Non invaziv testler

#### **2.5.4.1 İnvaziv testler**

##### **Hızlı üreaz testi**

Endoskopik biyopsi örneklerinde, bakterinin üreaz aktivitesinden yararlanılarak yapılan bir testtir. Ortamda bulunan ürenin, bakteri tarafından amonyağa çevrilmesi ile değişen ortam pH sınır renkli bir belirteç ile gösterilmesi esasına dayanır. CLO test ilk kullanıma çıkan üreaz testidir. Bugün kullanılan hızlı üreaz testi % 85 in üzerinde duyarlılık ve % 95 in üzerinde özgüllük değerlerine sahiptir (Chey ve diğ., 1999).

##### **Histolojik inceleme**

H.Pylori, mide mukozasında yaygın olarak yerleşmesine karşın yamalı bir dağılım gösterir. Bu nedenle endoskopik biyopsi örneklerinin alındığı alan ayrıca öneme sahiptir. Son dönemde yapılan bazı çalışmalarda biyopsilerin korpus ve antrumun ortaları ile bu iki alanın küçük ve büyük kurvatura yakın bölümlerinden alınması gerekliliği üzerinde durulmaktadır (Sato ve diğ., 1996). Histopatolojik inceleme %90 in üzerinde duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (Chey ve diğ., 1999).

##### **Kültür**

Kültür, histopatoloji ile birlikte en iyi tanı yöntemlerinden biridir. H.Pylori için uygun besiyerleri kanlı ağız, çikolatalı ağız, Columbia besi yeri, Skirrov besi yeri ve Tayer- Martin besi yeridir. H.Pylori'nin üremesi için en uygun ortam ılık, nemli, mikroaerofilik bir çevredir. Kültürün duyarlılığı % 70-95, özgüllüğü ise % 100 olarak bildirilmektedir (Chey ve diğ., 1999).

##### **Polimeraz zincir reaksiyonu ve moleküler tipleme**

Mukoza biyopsi örneklerinin PCR ile incelenmesi maliyetinin yüksek olması ve koşulların zorluğu nedeni ile bugün daha çok araştırmaya yönelik çalışmalarda kullanılan bir yöntemdir. Biyopsi örneklerinde, mide sıvısında ve dışkıda PCR ile H.Pylori tespit edilebilir. Yöntemin duyarlılığı ve özgüllüğü % 95 in üzerindedir.

Moleküler tiplemede kullanılan teknikler arasında PCR-RFLP (kısıtlayıcı parçacık uzunluk polimorfizmi), yüksek yinelenebilirlik özelliği nedeni ile en yararlı yöntemlerden biridir. Esas olarak üreaz genleri kullanılmıştır (Evans ve diğ., 1995).

#### **2.5.4.2 Non invaziv testler**

##### **Seroloji**

Kronik H.Pylori infeksiyonu Ig G ve Ig A sekresyonu ile karakterize bir dizi lokal ve sistemik immün reaksiyona yol açar. İnfeksiyonun varlığını araştırmada daha çok Ig G tayini tercih edilir. Antikor düzeyini kantitatif olarak değerlendirmek için ELISA, kalitatif değerlendirme için ise diğer immüno yöntemlerinden yararlanılır (Osawa ve diğ., 1996).

##### **Üre-nefes testi**

Non invaziv, hızlı ve kolay bir testtir. Radyoaktif karbon ile işaretli üre ağızdan verilir. Bir saat içinde nefesle atılan işaretlenmiş karbondioksit (CO<sub>2</sub>) tespit edilir. Spesifitesi % 95 ve sensivitesi % 85 tir (Chey ve diğ., 1999).

#### **2.5.5 Gastrik kanser - H. Pylori ilişkisi**

H.Pylori infeksiyonu ile kronik gastrit ve ülser arasındaki ilişki bildirildikten sonra gastrik kanser ile ilgili çalışmalar yoğunluk kazanmıştır, 1965 yılında Lauren mide karsinomunu, birbirlerinden yalnızca morfolojik özellikleri ile değil aynı zamanda klinik ve epidemiyolojik karakterleri açısından da farklılık gösteren iki gruba ayırmıştır, intestinal tip ve diffüz tip. İntestinal metaplazi ve gastrik karsinom arasındaki ilişki kesin olarak saptanamamakla birlikte çoğu araştırmacı tarafından, intestinal tip mide karsinomlarının, intestinal metaplazi zemininden, diffüz tip karsinomların ise prekürsör bir lezyon olmaksızın, normal mukozadan kaynaklandığı görüşü kabul görmektedir (Craanen ve diğ., 1992). Yapılan bazı histopatolojik çalışmalara göre kronik aktif gastrit ile başlayarak, kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve displazi ile karsinoma uzanan süreç 16-24 yıl gibi uzun sürede gerçekleşmektedir (Craanen ve diğ., 1992).

Kanser gelişiminde ana etkenin infeksiyonun edinildiği yaş olduğu ve karsinogenez için uzun bir indüksiyon zamanı gerektiğini düşündüren sonuçlar vardır. Kuipers ve diğ. (1995) uzun süren H.Pylori infeksiyonunun kanser gelişiminde önemli bir risk faktörü olan, atrofi ve intestinal metaplaziye yol açtığını göstermişlerdir. Correa (Correa, 1985), H.Pylori'nin gastrit, intestinal metaplazi ve sonra mide kanseri için önemli bir risk faktörü olduğunu vurgulamıştır. Japonya'da yapılan bir çalışmada genç yaştaki mide kanserlilerde H.Pylori ile güçlü bir ilişki

olduğu bildirilmiş, yaşın ilerlemesi ile antikorlar azaldığından H.Pylori'nin saptanamadığı öne sürülmüştür (Correa ve diğ., 1990).

Histolojik olarak intestinal tip mide karsinomunun prevalansının üçüncü Dünya ülkelerinde H.Pylori ile birlikte artış gösterdiği epidemiyolojik çalışmalarda bildirilmektedir. Bununla birlikte H.Pylori (+) ligi ile karsinomun histolojik alt tipi arasında bağlantı olmadığı da bildirilmiştir (Wee ve diğ., 1992). Değişik çalışmalarda H.pylori antikorlarının mide kanseri vakalarında kontrol grubuna oranla, anlamlı olarak yüksek bulunması önemli bir bulgudur. Kan örneklerinin alınması ile mide kanseri tanısı arasındaki zamanı Parsonnet 14.2, Nomura 19-22 yıl olarak bildirmektedir (Parsonnet ve diğ., 1991). Formann kontrollerde % 47, mide kanserlilerde % 69, Parsonnet, kontrollerde % 61, mide kanserlilerde % 84, Nomura, kontrollerde % 76, mide kanserlilerde % 94 oranında H. Pylori antikorunu tespit etmiştir (Megraud, F., 1993, Nomura, A. ve diğ., 1991, Parsonnet, J. ve diğ., 1991). Eurogast çalışma grubu, H.Pylori (+) olan grupta, karsinom gelişme riskinin, H.Pylori (-) olanlara oranla 6 kat arttığını göstermiştir (Blaser, 1998). H.Pylori seropozitifliği ve bakterinin kolonize olduğu mide mukoza örneklerinin histopatolojik incelenmesine dayanan çalışmalar H. Pylori'nin mide kanseri gelişimindeki rolüne ilişkin güçlü kanıtlar ortaya koymaktadır (Blaser, 1998).

H.Pylori ile kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve gastrik asit sekresyonundaki bozukluk ilişkili bulunmuştur (Levi ve diğ., 1989). H.Pylori, üreaz enzimi aracılığı ile lokal pH artışına neden olur. Bu lokal pH değişikliği Gastrin üzerindeki feed back engellemenin kalkması için yeterli olabilir. H.Pylori infeksiyonu kan Gastrin düzeyini yükseltir. Bakteri, antral mukozada G ve/veya D hücreleri, oksintik mukozada ise parietal hücreler üzerinde direkt yada indirekt (infeksiyona karşı gelişen iltihabi yanıtı bağlı) yollarla etkili olarak asit sekresyonunu. Asit salgısının azalması, diyetle bulunan nitratların N-nitroso bileşiklerine dönüşümüne ve mide ortamında oksidasyon-redüksiyon dengesinin bozulması ile mide mukozasında oksidatif zarara yol açar (Ruiz ve diğ., 1996).

Normal mide, bir konsantrasyon gradientine karşı lümene, nitrit ve reaktif oksijen metabolitlerinin güçlü bir inhibitörü olan askorbik asit salgılar (Stemmermann ve diğ., 1994). Houben ve Stockbrügger atrofik gastrit gelişen bölgede, midede askorbik asit düzeylerinin düşmesi, intestinal metaplazi ve N-nitroso bileşiklerinin göreceli katkılarını incelemiştir. H.Pylori infeksiyonunun midenin askorbik asit salgısını azalttığı, midedeki tüm serbest C vitamininin, inaktif

dehidroaskorbik asit şeklinde bulunduğu gösterilmiştir. Ek olarak gastrit ve metaplazi ile birlikte mukus üretimindeki değişiklikler, karsinogenez veya luminal faktörlere mukozal yatkınlığı arttırabilirler. Bütün bu karsinogenik faktörler H.Pylori'nin neden olduğu epitel hücre proliferasyonu ile birleştiğinde karsinogenez için gerekli zeminin oluştuğu düşünülmektedir (Hurlimann ve diğ., 1994). H.Pylori ile mide mukozasının kolonizasyonu hemen her zaman lokal iltihap ile sonuçlanır. Kalıcı iltihap ise atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve distal yerleşimli mide kanseri riskini arttırır (Parsonnet ve diğ., 1992). H.Pylori infeksiyonunun tüm dünyada yaygın olması ve çok fazla sayıda insanı etkilemesine karşın, infekte hastaların ancak küçük bir bölümünde mide kanseri gelişmesi, özel bakteriyel ürünlerin salınmasına, konağın bakteriye cevabındaki farklılıklara ya da konak ve bakteri arasındaki etkileşim farklılıklarına bağlı olabilir.

Çag adacığı içeren suşların mide mukozasında daha güçlü iltihaba neden olmasının yanısıra, daha fazla epitel zararına, dolayısıyla da daha çok hücre proliferasyonuna yol açtığı saptanmıştır. Benzer şekilde TNF-a, IL-1 ve IL-8 gibi sitokinler epitel proliferasyonunu arttırır. Direkt H.Pylori ya da üreaz enziminin bağlanması ile proliferatif aktiviteyi arttıran MHC genotipindeki değişkenlik de proliferatif yanıt farklılıklarını açıklayıcı olabilir (Peek ve diğ., 1995).

Kanserlerin zemininde yatan hücresel değişiklikler ve bu değişiklikleri oluşturan biyolojik süreçler uzun zaman önce patolojinin ilgi alanına girmiştir. Deneysel bir sürecin bugünkü noktasında araştırmacıların ilgisi iki yöne kanalize olmuştur: Genler ve hücredeki efektör moleküller. Onkogen ve hücre büyüme faktörleri gibi bir takım moleküler yapılar bir çok hücrenin normal yapısında bulunurlar. Bunlarda meydana gelebilecek mutasyonlar veya dışa vurumlarındaki artış tümör oluşum sürecine katkıda bulunur. Diğer yandan tümör baskılayıcı özellikte bir takım genlerinde bulunduğu ve mutasyonlar sonucu bunların da tümör oluşumunda rol oynayabilecekleri uzun süredir bilinmektedir (Ersoy, 1999).

Erken ve ilerlemiş mide kanserinde yapılan genetik çalışmalar, üç ayrı karsinogenetik yolun varlığını düşündürmüştür (Solcia, 1999).

**a)** DNA hasarının tamirinde bozulma mikrosatellit instabilitesine neden olur. Mikrosatellit instabilitesi ile ilişkili kanserler kural olarak glanduler (intestinal) tipte olup, metaplastik antral mukozadan kaynaklanır. Mikrosatellit odakçıkları, içinde sitozinadenin dinükleotid tekrarlarının da bulunduğu, basit tekrarlayan dizilerdir (Semba ve diğ., 1991). Bazı kanserlerde DNA çiftlenmesi sırasında, bu dinükleotid

tekrarları, mikrosateilit odakçıklarında genlere eklenir ya da silinir. Bu genetik değişiklik replikasyon kusuru "replication error" (RER) olarak isimlendirilir. Mikrosateilit instabilitesi sıklıkla transforming growth factor (TGF) II reseptörü, insulin-like growth factor (IGF) II reseptörü veya proapoptotik BAX genini içerir.

b) p53 geni mutasyonu, displazi, glandüler veya mikşj kanserler ile diffüz kansere neden olabilir.

c) Cadherin E geninde oluşan mutasyonlar, hücreler arası bağlantıların glandüler yapı ve hücre polaritesinin kaybı ile diffüz ve mikst kanserlere neden olur.

d) Tanımlanan diğer genetik değişiklikler, örneğin 18q21 (DCC/DPC geni), 11q22-23 (ATM geni), 7q31 (c-met geni) veya 21q21-22 bölgelerinde heterozigosit kaybı, trofik faktörler ve bu faktörlerin reseptörlerinin aşırı dışa vurumu, ön planda ilerlemiş kanserde görülür. Bazen erken kanser ile de birlikte olabilir. Displastik değişiklikler ve erken kanserdeki genetik değişiklikler ile H. Pylori infeksiyonu ilişkisi konusunda ise sahip olunan bilgi henüz yeterli değildir (Solcia, 1999).

## 2.6 Bitkiler

Bitkiler binlerce yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle tıbbi bitkiler ile bunların tedavi alanındaki kullanışları ile ilgili araştırmalar ve gözlemler hala devam etmektedir. Anadolu tıbbi bitkileri ile ilgili bilgilerin kaynakları çok eski tarihlere dayanmaktadır.

Türkiye florasının yaklaşık olarak 8.500 kadar tür taşıdığı bilinmektedir. Buna karşılık ilaç, baharat veya sebze olarak kullanılan türlerin miktarı hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır.

Türk halkının çoğunluğunun kırsal bölgelerde yaşaması nedeniyle, yabancı bitkiler ile yakından ilgilidirler. Halk yabancı bitkilerin bir bölümünden;

- Gıda,
- Baharat,
- Boyar madde,
- İlaç olarak yararlanmaktadır (Baytop,1984).

Sanayi devrimi ve organik kimyanın geliimiyle birlikte, sentetik ürünler farmakolojik tedavinin kaynağı haline gelmiştir. Çünkü saf bileşiklerden, yapısal modifikasyonlarla daha sağlıklı ve güvenilir ilaçlar elde edilebilmektedir. Mesela enfeksiyona karşı tedavinin gelişmesinde kullanılan penisilinin

mikroorganizmalardan elde edildiği düşünülürse doğal ürünlerin önemi daha iyi anlaşılabilir. Dünyada yaygın olarak kullanılan ilaçların % 25 i doğal ürünlerden elde edilmekte ve bu ürünlerin 121 tanesi de aktif madde olarak doğal ürünler içermektedirler. Ancak hastalıkları tedavi etmek, hangi bitkinin hangi hastalığa iyi geldiğini bulmak, hangi ilacın hangi işlemlerden geçtikten sonra hangi dozda kullanılması gerektiğini bilmek gibi sorular, insanlığın yıllardır cevabını aradığı sorulardır (Rates, 2001).

Ayrıca sentetik ilaçların yan etkilerinden dolayı, bitkisel kaynaklı ilaçlara yönelim özellikle son yıllarda artmıştır. Dünya üzerinde yaklaşık olarak 750.000 – 1.000.000 arasında bitki türünün bulunduğu tahmin edilmektedir. Bunların 500.000 kadarı tanımlanıp isimlendirilmiştir. Ayrıca her yıl yaklaşık olarak 2.000 kadar tohumlu bitki türü tanımlanıp isimlendirilmektedir.

Günümüzde ise üzerinde durulan bitkilerin başında, insan vücudunun kendini koruma gücünü artıran ve her türlü zorluğa karşı vücudun direncini artıran bitkiler gelmektedir. Bu özellikte olan bitkilerin kullanılması her geçen gün artmakta ve bu bitkileri yetiştiren ülkelere geniş bir ticari gelir sağlamaktadır (Stace, 1980).

Şifalı bitkilerin, gelişim süreleri boyunca bünyelerinde oluşturdukları ve depoladıkları çeşitli etken maddeler vardır. Tıbbi bitkilerde bulunan bu etken maddeler, bitkinin;

- Botanik türüne,
- Yıl içindeki durumuna,
- Coğrafi bölgesine,
- İklim şartlarına,
- Toplama ve kurutma usullerine,
- Kuruduktan sonra muhafaza durumuna göre değişiklik göstermektedir (Baytop, 1984).

### **2.6.1 Bitki seçimi**

Bir farmakolojik çalışma için uygun bitkinin seçimi son derece önemlidir. Geleneksel kullanım, kimyasal bileşim, zehir etkisi, rastgele seçim veya farklı kombinasyonlar gibi unsurlar göz önünde bulundurulmalıdır. Bitki seçiminde kullanılan en yaygın yöntem etnofarmakolojik ve etnobotanik olarak bilinen farklı kültürlerdeki doğal kaynakların kullanımının dikkatle incelenmesidir. Bitkinin

toplum tarafından nasıl kullanıldığının bilinmesi son derece önemlidir. Çünkü bu bilgi ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinde yol gösterir. Bitkinin ağız yoluyla kullanılıp kullanılmaması ve uygulanan doz miktarı gibi kriterler farmakolojik aktiviteleri hakkında bilgi vermektedir.

Bitki seçiminde kullanılan diğer bir yöntem ise; önceden yapılan çalışmaların aktif türlerinin değerlendirilerek, en iyi bilinen farmakolojik aktivitelerinin araştırılarak karar verilmesidir. Antitümör ilaçların araştırılması gibi alanlarda kullanılan strateji bu örneğe uygundur (Rates, 2001).

### **2.6.2 Bitki materyallerinin hazırlanması ve aktif bileşiklerin saflaştırılması**

Bitki belirlendikten sonra ilk aşama bitkinin toplanması ve hazırlanmasıdır. Bitkilerin toplanması profesyonel botanikçi tarafından yapılmalı ve bitkinin toplanma tarihi ile toplandığı yer mutlaka kaydedilmelidir. Bitkileri kurutmak için en uygun yöntem sıcaklık ve hava kontrollü fırınların kullanılmasıdır. Ancak bu durum söz konusu değilse; bitkiler gölgede ve oda sıcaklığında da kurutulabilir.

Bitkiler kurutulduktan sonra yapılacak iş bitki materyallerini toz haline getirmektir. Bitki materyalleri toz haline getirildikten sonra uygun ekstraksiyon yöntemi uygulanır. Uygulanacak ekstraksiyon yöntemi; bitkinin içerdiği bileşiklerin kimyasal yapısı bilindiğinde, daha yüksek verimde ve saflıkta ürün elde edilmesiyle sonuçlanır. Bitkinin bileşimi bilinmiyorsa; ekstraksiyon yöntemine, halk arasında bitkinin nasıl kullanıldığına bakılarak karar verilebilir veya ekstraksiyon işlemi polaritesi artan çözücüler kullanılarak yapılabilir. Günümüzde alkol, sodyum bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), karboksimetilselüloz, sitrik asit, dimetil sülfoksit (DMSO), polietilenglikol, propil glikol ve tuz türevleri gibi yardımcı maddeler; ekstraksiyon işlemi ve izole edilen bileşiği çözmede yaygın olarak kullanılmaktadır.

Genelde bitki ekstraktları düşük konsantrasyonda aktif bileşikler ve hassas biyokimyasal deneyler gerektiren miktarı çok düşük çeşitli bileşikler içerir. Bundan dolayı, farklı ihtiyaçlarda kullanılabilen ve doğal ürünlerle ilgili klasik farmakolojik çalışmaları modifiye edilebilen yeni teknikler araştırılmalıdır.

Bitkiden izole edilen aktif bileşiğin saflık derecesi belirlendikten sonra, yapısı ultraviyole (UV), infrared (IR), nükleer manyetik rezonans (NMR) veya kütle spektrofotometresi (MS) gibi spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilir. Bir bitkinin tedavi edici olarak kullanılabilmesi için; bitki ile ilgili araştırmalarda istenilen

sonuçlar alındıktan sonra toksikolojik çalışmalarının da mutlaka yapılması gerekir (Şekil 2.38.) (Rates, 2001).



Şekil 2.38. Bitkilerdeki aktif bileşiklerin elde edilmesi ve biyokimyasal uygulamalar

### 2.6.3 Bitki materyallerinde bulunan bileşikler

Bitkisel ilaçlarda selüloz, nişasta, pektin, protein, şeker vb. tedavi yönünden etkisiz maddelerin yanında; çok az miktarlarda bile farmakolojik etkilere sahip bileşikler de bulunmaktadır. Bitkisel ilaçlarda tedavi özelliği veren bu maddeler kimyasal yapılarına göre sınıflandırılabilir.

#### 2.6.3.1 Glikozitler

Enzim veya seyreltik asitlerin etkisiyle şeker olmayan bir kısım ile bir veya daha fazla şeker molekülüne ayrılan bileşiklerdir. Tedavi etkisi şeker olmayan kısımlara aittir. şeker kısımları ise bu maddenin suda çözünürlüğünü sağlamaktadır. Bitkilerde bulunan glikozitlerin pek çoğunun tedavi yönünden bir önemi bulunmamakla beraber, bazıları yüksek farmakolojik etkiye sahiptirler. Kalp kuvvetlendirici olarak kullanılan ykskotu yapağında (*Digitalis purpurea* L.) digitalin denilen glikozitler bulunmaktadır.

#### 2.6.3.2 Organik asitler

Bitkilerde karbohidratların oksidasyonu ile meydana gelen asit reaksiyonlu organik bileşiklerdir. Bitkilerde serbest veya tuz halinde bulunurlar. Ekşi tadında sıvı veya katı halde bulunan bu maddelerin önemli tedavi etkileri bulunmamaktadır.

#### 2.6.3.3 Tanenler

Fenol yapısında olan bu katı bileşikler suda znrliler. Bitkiler aleminde çok yaygındırlar ve özellikle bitkilerin kabuklarında bulunurlar. Tedavi ve deri sanayinde

kullanılan tanen en çok meşe mazısı ve meşe palamudundan elde edilir. Tanenler antiseptik ve kabız etkilere sahip bileşiklerdir.

#### **2.6.3.4 Alkolitler**

Yapılarında azot bulunan bazik karakterli bileşiklerdir. Katı ve genellikle renksiz maddeler olup, asitler ile tuz meydana getirerek suda çözünürler. Alkolitler küçük dozlarda kuvvetli etki gösteren bileşiklerdir. Halen tedavi alanında birçok alkolit (morfin, kodein, kafein, atropin, kokain vb.) kullanılmaktadır.

#### **2.6.3.5 Sabit yağlar**

Gliserin ile yağ asitlerinin esterleşmesi sonucu meydana gelmiş bileşiklerdir. Katı veya sıvı halde olup, suda çözünmezler ancak organik çözücülerde kolayca çözünürler. Bilhassa meyva ve tohumlarında bulunurlar.

#### **2.6.3.6 Uçucu yağlar (Esanslar)**

Esas itibariyle terpenlerden yapılmış karışımlardır. Genellikle sıvı olup, kuvvetli kokulu ve uçucu maddelerdir. Suda çözünmezler ancak organik çözücülerde çözünürler. Özellikler meyva ve çiçeklerde bulunurlarsa da bitkinin diğer kısımlarında da sık sık karşımıza çıkmaktadırlar. Ülkemizde özellikle gül, yasemen ve nane uçucu yağları elde edilmektedir.

#### **2.6.3.7 Reçineli bileşikler**

Karmaşık kimyasal yapıya katı veya sıvı maddelerdir. Suda çözünmeyen bu bileşikler ancak organik çözücülerde çözünürler. Balmeler bu gruba dahil olan ve tedavi amacıyla kullanılan bileşiklerdir. Ülkemizde terementi (Kızıl çam" dan) ve sığla yağı (Sığla ağacından) elde edilip kullanılmaktadır.

#### **2.6.3.8 Vitaminler**

Genellikle insan vücudunda yapılmayan fakat insanın sağlıklı yaşaması için gerekli olan bileşiklerdir. Bitkisel veya hayvansal kaynaklar tüketilerek elde edilirler. Suda çözünenler (B grubu, C ve P vitamini) ve yağda çözünenler (A grubu, D grubu, E, F ve K vitaminleri) olmak üzere iki büyük gruba ayrılırlar. Vitaminlerin eksikliklerinde büyük sağlık problemleri meydana gelmektedir.

### 2.6.3.9 Antibiyotikler

Canlılar tarafından meydana getirilen ve çok seyreltik çözeltilerde bile bazı mikroorganizmaların üremelerini durduran veya onları öldüren bileşiklerdir. Mikroplar nedeniyle meydana gelen hastalıkların tedavisinde kullanılan bir madde grubudur. İlk olarak keşfedilen penisiline bu madde grubunda yer almaktadır. Ülkemizde de tetrasiklin grubu antibiyotikler elde edilmektedir (Baytop,1984).

### 2.7 Güz Yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.)



Şekil 2.39. Güz yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.)

#### 2.7.1 Özellikleri

- Güz yemişi, Asya orijinli olup anavatanı Çin, Japonya ve Kore'dir.
- Çok yıllık ve çalı formundaki bitkileri hızlı büyür, kolay çoğalır, erken meyve verir ve 5 m boylanabilir.
- Gümüş yeşil yaprakları vardır.
- Koyu kırmızı meyveleri hafif buruk ve domates tadındadır, Ekim-Kasım aylarında olgunlaşır.
- Geç çiçek açar, -40 °C soğuğa ve kurak koşullara dayanıklı bir bitkidir.
- Her toprakta yetişir, özellikle verimsiz ve yüzey alkali toprakları sever. Köklerindeki nodülleri ile havanın serbest azotunu toprağa bağlar ve ceviz gibi bazı kültür bitkilerinin arasına dikilerek güz yemişinin bu özelliğinden yararlanmaları sağlanmaktadır.
- Tam güneş alan veya hafif gölge alanlarda yetişebilir.

- Çıplak, verimsiz ve toprak tabakasının az olduğu özellikle kıraç alanların ağaçlandırılması, erozyonun kontrol edilmesi amacıyla kullanılan gz yemişi, çok yoğun olan çiçekleri ile bal arılarını cezp ederek yüksek oranda nektar sağlayabilmektedir.
- Son yıllarda alternatif bitki olarak yetiŐtiriciliĐi önerilmekte ve fonksiyonel gıda olarak tknetimi yaygınlaŐmaktadır.
- Ceviz yetiŐtirilen alanlarda ara bitki olarak önerilmektedir.

### 2.7.2 Kullanım alanları

- KuŐlar ve diğer memeli hayvanların tükettiği meyvelerindeki çekirdekleri ile kolayca yayılır. Kontrol edilmezse bulunduğu alanı istila edebilir, ancak ekolojiye, toprağa ve yaban yaŐamına yararlı olan gz yemişi farmakolojik olarak da kullanılan bir türdür.
- Karayollarındaki meyilli alanların korunmasında, yol kenarlarında ss bitkisi olarak, it bitkisi, rüzgar kıran, evre düzenlemede geçiŐleri engelleme, alan ayırıcı veya maden alanlarının ıslahında kullanılmaktadır.
- Meyveleri taze veya kurutulularak tketelebildiği gibi pestil, meyve suyu, reel, jöle ve sos yapımında da kullanılmaktadır.
- Erozyon kontrolü için 1800'l yıllarda Amerika'ya götürülen gz yemişi, egzotik bir meyve olup uzak doğuda geleneksel besin kaynağı olarak kullanılmaktadır.

### 2.7.3 Faydaları

- Yaban yaşamdaki hayvanlar ve kuŐlar için iyi bir besin kaynağıdır.
- Gz yemişi likopen bakımından çok zengindir. Likopen domates, karpuz, pembe greyfurt ve guava'da bulunur. Ancak, 100 gram taze domateste 3 mg likopen varken gz yemişinin 100 gramında 54 mg kadar likopen bulunmaktadır. Dolayısıyla domatese göre yaklaşık olarak 18 kat daha fazla likopen içeren gz yemişi antibakteriyel özellik de taşımaktadır.
- Prostat kanseri baŐta olmak üzere pankreas kanseri gibi birçok kansere yakalanma riskini azaltabilen gz yemişi, kolesterolü düzenleyebilmekte ve kalp kasları üzerine kolesterolün etkisini en aza indirebilmektedir.
- Gözlerdeki kataraktı engelleyebilen gz yemişi gz mercekleri ile makulayı

korumaktadır.

- Bağışıklık sistemini güçlendiren güz yemişi hücrelerin yenilenmesini sağlamaktadır. Biyoaktif bileşikler, esansiyel yağ asitleri, beta karoten, lutein, A, C ve E vitaminleri ile yağ asitlerince zengin olan güz yemişinin erkek kısırlılığına da iyi geldiği belirtilmektedir (Çelik ve diğ., 2012).

#### **2.7.4 Zararları**

- Yoktur.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

**Sigma Aldrich:** Metanol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, deoksiriboz, E vitamini, linoleik asit, ABTS, amonyum molibdat, AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, kateşin, Folin & Ciocalteu's reaktifi, BHA, BHT, gallik asit, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaNO<sub>2</sub>, etanol, hekzan, sodyum fosfat, FeCl<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, aseton, TBHQ.

**ABCR:** 2,6 dikloroindofenol.

**Merck:** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NADH, askorbik asit, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, FeCl<sub>3</sub>, metafosforik asit, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, sodyum karbonat, sodyum hidroksit, sodyumbikarbonat, salisilik asit, TBA, Aseton, potasyum persülfat (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), fenol, üreaz (E.C.3.5.1.5.) (5 U/mg).

**Kimetsan:** n-bütanol, potasyum iyodür, Sodyum tiyosülfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

**Carlo erba:** EDTA, TCA (trikloroasetik asit), FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O.

**Riedel-de Haen:** Hidroklorik asit, sodyum nitroprussid.

**Fluka:** DPPH', tween 20, Troloks [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit].

**Acros:** PMS, ferrozin.

**Serva:** NBT.

**Güldal:** Sodyum hipoklorit.

#### 3.2 Kullanılan Cihazlar

Evaporator (Rotary RE 100), pH metre (Eutech Instruments pH 700), liyofilizatör (Alpha 1-2 LD Plus), Laboratuvar blender (Waring Commercial), Ayarlanabilir ısıtmalı karıştırıcı (EMS 300 HS), Ultrasonik banyo (Kudos), Vorteks (Velp Scientifica), Etüv, Isıtıcı (Electomantle), Soxhlet cihazı, Santrifüj (MSE Mıstral 2000), Sallantılı su banyosu (Clifton), UV-Vis spektrofotometre (Unıcam UV/Vis UV2), 0.0001 g duyarlılıkta terazi (Avery Berkel).

### **3.3 Güz Yemişi Örnekleri**

Güz yemişinin meyve ve yaprakları sonbahar mevsiminde Samsun'un İlkadım ilçesi Doğu Park'tan toplandı. Güz yemişinin meyve ve yaprakları fanlı etüvde kurutuldu. Laboratuvar blenderından geçirilip toz haline getirildi. Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri kullanıma hazır halde -20 °C' de saklandı.

### **3.4 Yöntemler**

#### **3.4.1 Ekstraksiyon**

Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri Soxhlet cihazı ile renk açılana kadar etanol, metanol, etilasetat, aseton ve hekzan ile ekstraksiyon yapıldı ve Watman no:1 süzgeç kağıdında süzme işlemi yapıldı. Elde edilen berrak karışım, 40 °C' de evaporatöre edildi. Sulu ekstrakt için deiyonize su kaynatıldı ve güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri yavaş yavaş eklendi, beş dakika daha karıştırıldı ve Watman no:1 süzgeç kağıdında süzme işlemi yapıldı. Daha sonra elde edilen ham ekstrakt liyofilizatörde tamamen kurutuldu ve -20 °C' de çalışmalarda kullanılmak üzere saklandı.

#### **3.4.2 Örneklerin hazırlanması**

Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ile 50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlandı. Standart antioksidant madde olarak kullanılan BHT, BHA, Troloks, TBHQ ve E vitaminin etanol ile C vitaminin su ile 50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri de hazırlandı. Ayrıca metal şelat aktivitesinde kullanmak için standart maddelere ek olarak EDTA' nın etanol ile 50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri de hazırlandı.

Tez çalışmasında yapılan bileşen analizleri, antioksidant aktivite tayinleri ve enzim inhibisyonu için yapılan ölçümler üç kez tekrarlanarak hesaplamalar yapıldı.

#### **3.4.3 Bileşen analizleri**

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam fenol, toplam flavonoid, toplam antosiyanin, β-karoten, likopen ve askorbik asit (C vitamini) bileşen analizleri spektrofotometrik olarak yapıldı.

### 3.4.3.1 Toplam fenolik bileşiklerin tayini

Toplam fenolik bileşiklerin tayininde Singleton ve arkadaşlarının (1965) metodu kullanılmıştır. Gallik asidine eşdeğer ifade edilen numune içerisindeki toplam fenolik bileşik içeriği tayin edilmektedir. Toplam fenol miktarı belirtilen standart maddeye göre belirlenir. 1 mL uygun çözücüde çözülmüş farklı konsantrasyonlardaki örnek çözeltileri (50-500 µg/mL) ve 1 mL farklı konsantrasyonda hazırlanmış gallik asit çözeltileri (0,00157-0,2 mg/mL), 46 mL ddH<sub>2</sub>O ilave edilerek kapaklı 100 lük erlen içerisinde karıştırılır. Örnek ve standart erlenlerine 1 er mL Folin & Ciocalteu's reaktifi ilave edilir ve ışıktan bozunacağından dolayı karanlıkta karıştırma işlemi yapılır. 3 dakika sonra, % 2' lik 3 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi ilave edilir ve iyice karıştırılır. Bütün çözeltiler üzerine hemen karıştırılarak 25 mL ddH<sub>2</sub>O ilave edilir. Karışım 2 saat ve 25 °C' de karanlıkta sallantılı su banyosunda inkübe edildikten sonra köre karşı 760 nm' de farklı konsantrasyonlardaki örnek karışımlarının ve standart gallik asit çözeltilerinin absorpsiyonu okunur. ddH<sub>2</sub>O kör olarak kullanılır. Gallik asit çözeltisi için kalibrasyon eğrisi çizilir. Örneğin toplam fenolik içeriği kalibrasyon eğrisinin denkleminde (y=mx+n) toplam fenolik miktar hesaplanır. Örnekleri toplam fenolik içerikleri Denklem 3.1'de verilen formüle göre hesaplanarak "mg gallik asit (GAE)/g kuru madde" olarak ifade edilir (Singleton ve diğ., 1965).

$$C = c \times V / m \quad (3.1)$$

C : Toplam fenol içeriği, mg/g kuru materyal

c : Kalibrasyon eğrisinde bulunan konsantrasyon, mg/L

V : Toplam ekstrakt hacmi, L

m : Ekstrakt miktarı, g

### 3.4.3.2 Toplam flavonoid tayini

Toplam flavonoidler Zhishen, Mengcheng ve Jianming (1999) tarafından geliştirilen yöntemle göre tayin edilmektedir. Uygun çözücüde çözülmüş 250 µl farklı konsantrasyonlardaki örnek çözeltileri (50-500 µg/mL) ve kateşin çözeltileri (0,00006-1 mg/mL) içerisine 1,25 mL ddH<sub>2</sub>O ve 75 µL %5 lik NaNO<sub>2</sub> ilave edilerek kapaklı kap içerisinde iyice karıştırılır ve zaman tutulur. Beş dakika sonra 150 µL %10 luk AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O çözeltisi ilave edilir. Altı dakika içerisinde 500 µL 1 M NaOH karışıma ilave edilir ve karışım iyice karıştırılır. Kapalı kaplardaki reaksiyon

karışımına 275 µL ddH<sub>2</sub>O ilave edilir. Hemen karışım iyice karıştırılır. Karışımın absorbansı 510 nm de suya karşı okunur. ddH<sub>2</sub>O kör olarak kullanılır Kateşin için kalibrasyon eğrisi çizilir. Denklem 3.2’de verilen formüle göre ekstrakt örneklerinin toplam flavonoid içeriği hesaplanarak mg kateşin/g kuru madde olarak ifade edilir (Zhishen ve diğ., 1999).

$$C = c \times V / m \quad (3.2)$$

C : Toplam flavonoid içeriği, mg kateşin/g kuru materyal

c : Kalibrasyon eğrisinde bulunan konsantrasyon, mg/L

V : Toplam ekstrakt hacmi, L

m : Ekstrakt miktarı, g

### 3.4.3.3 Toplam antosiyanin tayini

Ekstraktların toplam antosiyanin içeriği Padmavati, Sakthivel, Thara and Reddy (1997) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek tayin edilmektedir. 1 g öğütülmüş güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri 12 mL, % 1' lik HCl çözeltisi ile karanlıkta 2 saat oda sıcaklığında sallantılı su banyosunda karıştırılır. 1000 x g da 15 dakika santrifüjlenir. Üst faz alınarak sırasıyla sırasıyla 530 nm ve 657 nm için absorbans değerleri ölçülerek tayin edilir. 530 ve 657 nm için absorbans değerleri siyanidin-3-glukozid için spesifiktir. Geçirgenlik katsayısı (31,6 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) ile absorbans değerleri antosiyanin konsantrasyonuna dönüştürülür. Antosiyanin içeriği, 31,6 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> geçirgenlik katsayısı kullanılarak güz yemişi örnekleri gram başına mikrogram siyanidin-3-glukozid eşdeğer (µg siyanidin-3-glukozid/g kuru madde) olarak ifade edilir ve aşağıda Denklem 3.3’de verilen formül ile hesaplanır (Chung ve diğ., 2005; Padmavati ve diğ., 1997).

$$\text{Toplam antosiyanin miktarı} = [(A_{530} - 0,33 \times A_{657}) / 31,6] \times (VT/m) \times MA \quad (3.3)$$

VT: Toplam hacim (mL)

m: Kullanılan örnek miktarı (g)

MA: Siyanidin-3-glukozid molekül ağırlığı (449,2 g/mol)

### 3.4.3.4 β-karoten ve likopen tayini

β-karoten ve likopen tayini Nagata ve Yamashita (1992) tarafından geliştirilen yöntemle göre tayin edilmektedir. 100 mg güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları 10 mL aseton-hekzan karışımı (6:4) ile 1 dakika şiddetli karıştırılır ve karışım Watman

no:1 süzgeç kağıdında süzülür. Süzüntünün absorbanansı 453, 505, 645 ve 663 nm de okunur. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $\beta$ -karoten ve likopen içeriği Denklem 3.4 ve Denklem 3.5' de verilen formüllere göre hesaplanır. Kör olarak aseton-hekzan karışımı kullanılır (Nagata ve Yamashita, 1992).

$$\beta\text{-karoten miktarı (mg/100mL)} = 0,216 \times A_{663} - 0,304 \times A_{505} + 0,452 \times A_{453} \text{ (3.4)}$$

$$\text{Likopen miktarı (mg/100mL)} = -0,00458 \times A_{663} + 0,372 \times A_{505} - 0,00806 \times A_{453} \text{ (3.5)}$$

### 3.4.3.5 Askorbik asit tayini

Askorbik asit tayininde A.O.A.C. (1980) yöntemi kullanılmaktadır. 20 mg öğütülmüş güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri 5 mL metafosforik asit çözeltisi ile ekstrakte edilir. Karışım 30 dakika 25 °C' de karanlıkta inkübe edilir ve 2000 x g de 15 dakika santrifüjlenir. Elde edilen üst fazdan 2 mL alınır ve metafosforik asit çözeltisiyle 7 mL ye seyreltilir. Karışım 2,6-dikloroindofenol ile renk açılıncaya kadar titrasyon yapılır. Tayin için standart madde olarak askorbik asit kullanılır. Farklı (0-1000 mg/L) konsantrasyonlarda askorbik asit çözeltileri hazırlanır. Farklı konsantrasyonlardaki askorbik asit çözeltilerine yukarıda belirtilen yöntem uygulanarak kalibrasyon eğrisi çizilir. Farklı konsantrasyonlardaki güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri için de aynı şekilde uygulanarak Denklem 3.6' da verilen formüle göre askorbik asit miktarı belirlenir (A.O.A.C., 1980).

$$\text{Askorbik asit miktarı (mg askorbik asit/g kuru madde)} = (X-B) \times (F/E) \times (V/Y) \text{ (3.6)}$$

X: 2,6 dikloroindofenol ile titre edilen karışım hacmi (7 mL)

B: 7 mL su (kör) ile 2,6 dikloroindofenol ile titre edilen karışım hacmi

F: kalibrasyon eğrisinde dikloroindofenole karşılık gelen askorbik asit miktarı

E: kullanılan örneğin miktarı, g

V: başlangıçta kullanılan çözelti hacmi, 5 mL

Y: kullanılan örneğin hacmi, 2 mL

### 3.4.4 Antioksidant aktivite tayinleri

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart maddelerin toplam antioksidant aktivite, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktivitesi, hidroksil radikali giderme aktivitesi, süperoksit radikali giderme aktivitesi, indirgeme gücü aktivitesi, serbest radikal giderme aktivitesi, metal-şelat aktivitesi, lipid peroksidasyon inhibisyonu,

deoksiriboz aktivitesi ve ABTS<sup>•+</sup> radikali giderme aktiviteleri tayin edilerek antioksidant aktiviteleri tespit edildi.

#### 3.4.4.1 Toplam antioksidant aktivite tayini

Amonyummolibdeniyum yöntemiyle toplam antioksidant aktivite tayininde Prieto ve arkadaşlarının (1999) metodu kullanılmaktadır. Maddelerin antioksidant kapasitesi örnek karışımının Mo (VI) in Mo(V) e indirgenme ve 695 nm de yeşil fosfat / Mo(V) bileşiğinin oluşumu esasına bağlı amonyumolibdeniyum yöntemi ile spektroskopik olarak tayin edilir. 0,1 mL farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) hazırlanmış güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları ve standart antioksidant maddelere, 1 mL reaktif çözeltisi ile (0,6 M sülfirik asit + 28 mM sodyum fosfat + 4 mM amonyum molibdat) karıştırılır ve 90 dakika, 95 °C de su banyosunda kapaklı tüp içerisinde inkübe edilir. Uygulama bütün çözeltiler için aynı şekilde uygulanır. Karışım oda sıcaklığında soğutulurak 2000 x g de 20-25 dakika plastik tüpte santrifüjlenir ve 695 nm de köre karşı her bir karışımın absorbansı okunur. Kör çözelti 1 mL reaktif çözeltisi ve örnek hacmi kadar metanol ile karıştırılır. Antioksidant aktiviteyi karşılaştırmak için BHT, BHA, troloks, TBHQ, E vitamini, C vitamini gibi standart antioksidant maddeler kullanılır. Standart antioksidant maddeler ile güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin absorbanslarına bakılarak karşılaştırılması yapılır (Prieto ve diğ., 1999; Mohamed ve diğ., 2007).

#### 3.4.4.2 Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) giderme aktivitesi tayini

Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) giderme aktivitesi Zhao ve arkadaşları (2006) tarafından geliştirilen yöntemle göre modifiye edilerek tayin edilmektedir. 1,0 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,1 mM) ve 1,0 mL farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) hazırlanmış güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarından ve standart antioksidant maddelerden hazırlanmış çözeltilerden ilave edilerek iyice karıştırılır. Daha sonra sırası ile 0,1 mL % 3 amonyum molibdat, 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2M) ve 7,0 mL KI (1,8 M) eklenir. Karışım Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (5 mM) ile yeşil renk yok olana kadar titre edilir. Yüzde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktivitesi Denklem 3.7' de verilen formüle göre hesaplanır (Zhao ve diğ., 2006).

$$\% \text{H}_2\text{O}_2 \text{ giderme aktivitesi} = [(V_0 - V_1) / V_0] \times 100 \quad (3.7)$$

V<sub>0</sub>: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nin bulunduğu ortamda (ekstrakt veya standart madde olmadan; dd H<sub>2</sub>O kullanılır) harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hacmi (mL)

V<sub>1</sub>: ekstrakt veya standart maddenin bulunduğu karışımda harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hacmi (mL)

#### 3.4.4.3 Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>) giderme aktivitesi tayini

Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>) giderme aktivitesi Simirmoff ve Cumbes (1989) tarafından geliştirilen yönteme göre modifiye edilerek tayin edilmektedir. Hidroksil radikalleri FeSO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> karışımı ile oluşturulur ve salisilik asit etkisi ile aktivite belirlenir. 3,0 mL lik reaksiyon karışımı; 1,0 mL FeSO<sub>4</sub> (1,5 mM), 0,7 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6 mM), 0,3 mL salisilik asit (20 mM) ve 1,0 mL güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktı veya standart antioksidant maddelerden hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) çözeltilerden ilave edilir. Karışım 37 °C de 1 saat inkübe edildikten sonra, hidroksitlenmiş salisilat kompleksinin absorbansı 562 nm de tayin edilir. Yüzde OH<sup>·</sup> giderme aktivitesi Denklem 3.8'de verilen formüle göre hesaplanır (Simirmoff ve Cumbes, 1989).

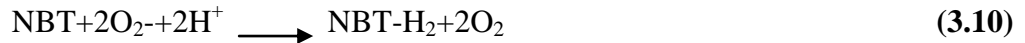
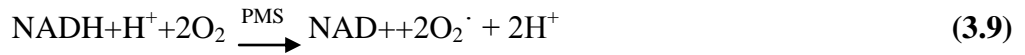
$$\% \text{ OH}^{\cdot} \text{ giderme aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.8)$$

A<sub>0</sub>: kontrol absorbansı (ekstrakt veya standart madde olmadan; dd H<sub>2</sub>O kullanılır)

A<sub>1</sub>: ekstrakt veya standart maddenin absorbansı

#### 3.4.4.4 Süperoksit anyonu giderme aktivitesi tayini

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin süperoksit anyonu giderme aktivitesi Nishimiki ve arkadaşlarının (1972) metoduna göre tayin edilmektedir. Süperoksit radikali NBT' nin indirgenmesi ile ve NADH' nin oksidasyonu ile PMS –NADH sistemi ile üretilir. Denklem 3.11 net reaksiyon Denklemine göstermektedir.



Reaksiyon karışımı NBT (156 µM, 1 mL), NADH (468 µM, 1 mL) ve 1 mL farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) hazırlanmış güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları ve standart antioksidant madde çözeltileri ile iyice karıştırılır. Reaksiyon karışımına PMS (100 µM, 0,4 mL) ilave edilmesiyle reaksiyon başlatılır. Reaksiyon karışımı inkübe edilir ve 5 dakika ortam sıcaklığında bekletilir. Karışımın absorbansı

560 nm’ de okunur. K r için potasyum fosfat tamponu kullanılır. Örneklerin ve standart antioksidant maddelerin radikal giderme aktivitesi Denklem 3.12’de verilen formüle göre hesaplanır (Nismiki ve diğ., 1972; Yang ve diğ., 2008).

$$\text{Süperoksit giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (3.12)$$

A<sub>0</sub>: kontrolün absorbanst

A<sub>1</sub>:  rnek absorbanst

#### 3.4.4.5 İndirgeme gücü aktivitesi tayini

İndirgeme gücü aktivitesini tespit etmede Oyaizu (1986) yöntemi kullanılmaktadır. 1 ml farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış g z yemişi meyve ve yaprak ekstraktları ve standart antioksidant maddeler 2,5 mL 0,2 M fosfat tamponu, pH 6,6 ve 2,5 mL % 1 lik K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] ile karıştırılır. Karışım 50  C deki su banyosunda 20 dakika inkübe edilir. 2,5 mL % 10’luk trikloroasetik asit (TCA) eklenir ve karışım 2500 x g de 10 dakika santrifüjlenir. Elde edilen üst fazın 2,5 mL si ile 2,5 mL dd H<sub>2</sub>O ve % 0,1 lik 0,5 mL FeCl<sub>3</sub> karıştırılır. Ekstraktların indirgeme gücü ile ilişkili olan çözeltilerin absorbanst 700 nm de ölçülür. Reaksiyon karışımındaki absorbsiyon artışı indirgeme gücü kapasitesinin artıŐını gösterir (Oyaizu, 1986; Huang ve diğ., 2005).



#### 3.4.4.6 Serbest radikal giderme aktivitesi tayini

G z yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin serbest radikal giderme aktivitesi Blois (1958) metoduna göre tayin edilmektedir. 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH<sup> </sup>, 0,1 mM 100 mL etanolde)  zeltisinin 1 mL si ile 3 ml farklı konsantrasyonda (50-500  g/mL) hazırlanmış ekstrakt ve standart antioksidant maddelerin çözeltileri ile iyice vortekslenerek karıştırılır. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilir. 517 nm de absorbandsdaki değişiklikler kaydedilir. K r olarak etanol kullanılır. Örneklerin radikal giderme aktivitesi Denklem 3.14’ de verilen formüle göre hesaplanır (Blois, 1958).

$$\text{DPPH}^{\cdot} \text{ giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (3.14)$$

A<sub>0</sub>: kontrolün absorbanst (ekstrakt ve standart madde ilave etmeden çözeltinin absorbanst)

A<sub>1</sub>:  rnek absorbanst (ekstrakt ve standart madde)

#### 3.4.4.7 Metal şelat aktivitesi tayini

Metal şelat aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının (1994) metoduna göre teyin edildi. Farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) hazırlanmış ekstrakt ve standart antioksidant maddelerin Fe<sup>+2</sup> ile kompleksleşme özelliği 562 nm de Fe<sup>+2</sup>-ferrozin kompleksinin absorbansı ölçülerek değerlendirilir. 0,4 mL örnek yada standart ile 0,05 mL, 2 mM FeCl<sub>2</sub> iyice vorteks ile karıştırılır. Reaksiyon 0,2 mL, 5 mM ferrozin eklenerek başlatılır. Toplam hacim etanol ile 4 mL ye tamamlanır. Karışım vorteksle iyice karıştırılır ve 25 °C de 10 dakika bekletilir. Karışımın absorbansı 562 nm de okunur. Fe<sup>+2</sup>-ferrozin kompleks oluşumun % inhibisyonu Denklem 3.15’de verilen bağıntıya göre hesaplanır. Kör olarak etanol kullanılır (Dinis ve diğ., 1994).

$$\text{Metal şelat aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.15)$$

A<sub>0</sub>: kontrolün absorbansı (dd H<sub>2</sub>O, FeCl<sub>2</sub> ve ferrozin içeren karışım)

A<sub>1</sub>: Örnek absorbansı (ekstrakt ve standart madde)

#### 3.4.4.8 Lipid peroksidasyonu inhibisyonu tayini

Lipid peroksidasyon inhibisyonu tayini Choi ve arkadaşları (2002) tarafından belirtilen yöntemle göre tayin edilmektedir. 1 mL farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları ve standart antioksidant madde çözeltileri, 2 mL linoleik asit 0,5 mL fosfat tamponu (100 µM, pH 7,4) ve 150 µL askorbik asit (10 µM) eklenerek homojen karışması için vorteksle karıştırılır. 1 mL ekstrakt çözeltileri yerine kontrol karışımı hazırlanmaktadır. Kontrol ekstrakt veya standart çözeltiler hangi çözücüde hazırlanmış ise o çözücü kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu 0,1 mL FeSO<sub>4</sub> (10 µM) ün eklenmesi ile başlatılır. Reaksiyon karışımı vortekslenir ve 37 °C de 60 dakika sallantılı su banyosunda inkübe edilir. Reaksiyona 1,5 mL, % 0,5 HCl de hazırlanmış soğuk % 10 luk TCA çözeltisi ilave edilir. Daha sonra 3 mL 50 mM NaOH de hazırlanmış % 1 lik TBA çözeltisi ilave edilir. TBA/örnek karışımı 95 °C de 60 dakika sallantılı su banyosunda inkübe edilir. Karışım soğutulduktan sonra karışımdan 3 mL alınır ve 3 mL n-bütanol ilave edilir. Homojen karışım 3000 x g de 30 dakika santrifüjlenir ve renkli üst faz spektrofotometre küvetine aktarılır. Kör olarak n-bütanol kullanılır. Absorbsiyon 532 nm de okunur ve lipid peroksidasyon inhibisyon yüzdesi Denklem 3.16’de verilen formüle göre hesaplanır (Choi ve diğ., 2002).

$$\% \text{ Lipid peroksidasyon inhibisyonu} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.16)$$

$A_0$  : kontrol, ekstrakt numunesi yerine (veya standart)çözücü karışımının absorbanı

$A_1$  : ekstrakt veya standart karışımının absorbanı

#### 3.4.4.9 Deoksiriboz aktivite tayini

Deoksiriboz yöntemi,  $\text{OH}^\cdot$  giderme aktivitesine benzer bir yöntem olarak uygulanmıştır. Deoksiriboz aktivitesi için sırasıyla 200  $\mu\text{L}$  deoksiriboz (15 mM), 200  $\mu\text{L}$  potasyum fosfat tamponu (100 mM pH:7,4), 200  $\mu\text{L}$   $\text{FeCl}_3$  (500  $\mu\text{M}$ ), 100  $\mu\text{L}$  EDTA (1mM), 100  $\mu\text{L}$  askorbik asit (1mM), 100  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (10mM), 100  $\mu\text{L}$  örnek veya standart madde ilave edilerek 37 °C de 1 saat sallantılı su banyosunda inkübe edilir. Üzerine 1 mL TBA (% 1 lik, 50 mM NaOH de hazırlanmış) ve 1 mL TCA (% 2,8 lik) ilave edilerek 80 °C de 20 dakika inkübe edilir. 532 nm de absorbanı okunur. Kör olarak potasyum fosfat tamponu kullanılır. Deoksiriboz aktivitesi Denklem 3.17’de verilen formüle göre hesaplanır (Motamed ve Naghibi, 2010; Özyürek ve diğ., 2008).

$$\% \text{ Deoksiriboz Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.17)$$

$A_0$  : kontrol, ekstrakt numunesi yerine (veya standart)çözücü karışımının absorbanı

$A_1$  : ekstrakt veya standart karışımının absorbanı

#### 3.4.4.10 ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi tayini

Troloks eşdeğeri antioksidant kapasite (TEAC) tayini, Re ve arkadaşlarının (1999) belirlediği yöntemle yapılmaktadır. 7 mM ABTS’nin destile sudaki çözeltisinden 50 ml ve 2,45 mM potasyum persülfat çözeltisinden 25 ml alınarak karıştırılır ve karanlıkta 12-16 saat bekletilir. Kullanıma hazır hale gelen mavi-yeşil renkli ABTS<sup>+</sup> çözeltisi, 734 nm de absorpsiyon 0,7 olacak şekilde etil alkolle 1:80 oranında seyreltilir. Tüplere 1’ er ml ABTS<sup>+</sup> çözeltisi ilave edilip üzerlerine 10  $\mu\text{l}$  örnek çözeltilerinden eklenir. 1. ve 6. dakika sonunda 734 nm’ de absorban değerleri okunur. 1. dakikadaki absorban değerinden ( $A_1$ ) 6. dakikadaki absorban değeri ( $A_6$ ) değeri çıkarılarak  $\Delta A$  değerleri elde edilir.  $\Delta A$  değerleri kullanılarak Denklem 3.18’ de verilen formüle göre % inhibisyon değerleri hesaplanır (Re ve diğ., 1999).

$$\% \text{ ABTS}^{\cdot+} \text{ giderme aktivitesi} = [(A_6 - A_1) / A_1] \times 100 = (\Delta A / A_1) \times 100 \quad (3.18)$$

$A_1$  : 1. dakikadaki absorbans değeri

$A_6$  : 6. dakikadaki absorbans değeri

$\Delta A$  :  $A_6 - A_1$

### 3.4.5 Enzim inhibisyonu tayini

#### 3.4.5.1 Üreaz inhibisyon tayini

Üreaz ( E.C. 3. 5. 1. 5.) inhibisyonu indofenol yöntemi ile tayin edildi. 125  $\mu\text{L}$  üreaz (100 mM fosfat tamponunda hazırlanan (pH 6,8)), 25  $\mu\text{L}$  tiiyöre veya güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları veya standart maddeleri (BHA, BHT, TBHQ, Troloks, E vitamini, askorbik asit ve tiiyöre) (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) ve 275  $\mu\text{L}$  üre (100 mM fosfat tamponunda hazırlanan (pH 6,8)) eklendi ve karışım 30 °C' de 15 dakika sallantılı banyoda inkübe edildi. 225  $\mu\text{L}$  fenol reaktifi (% 1 w/v fenol ve % 0,005 w/v sodyum nitropruside) ve 350  $\mu\text{L}$  alkali reaktif (% 0,5 w/v NaOH ve % 0,1 NaOCl) eklenerek son karışımın 1 mL olması sağlandı. Karışım 30 °C' de 50 dakika sallantılı banyoda inkübe edildi. Kör olarak fosfat tamponu kullanıldı. 630 nm' de absorbans ölçüldü.  $\text{IC}_{50}$  ve üreaz inhibisyonu denklem 3.19' a göre hesaplandı (Zhang, L., ve diğ., 2006).

$$\text{Üreaz inhibisyonu (\%)} = 100 - \{[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\} \quad (3.19)$$

$A_0$ : Kontrol absorbansı (tiiyöre ile hazırlandı)

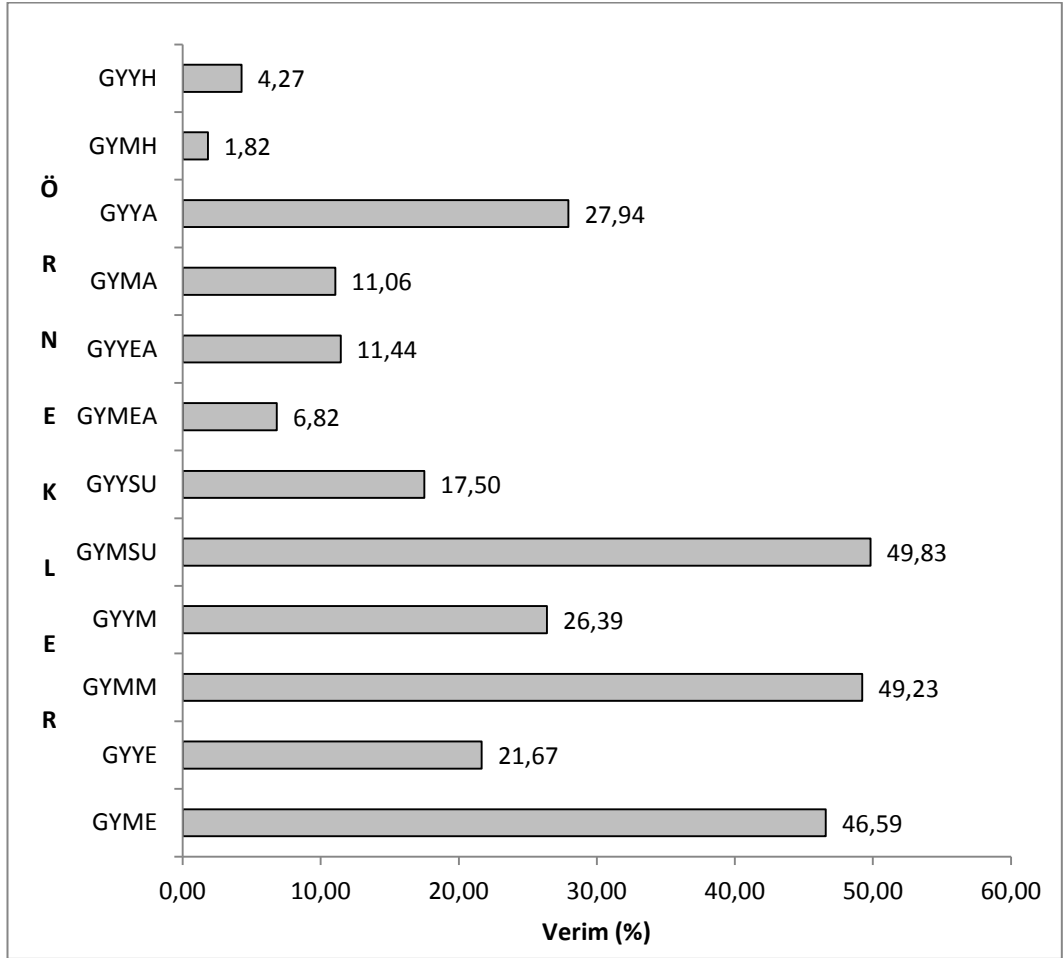
$A_1$ : Ekstrakt veya standart maddenin absorbansı



## 4. BULGULAR

### 4.1 Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının verimleri

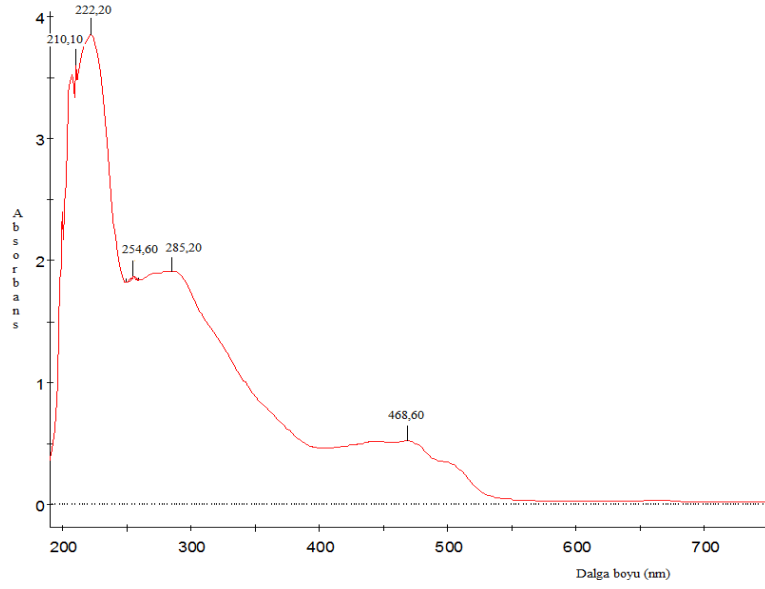
Samsun'un İlkadım ilçesi Doğupark'tan toplanan güz yemişi meyve ve yapraklarının etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen ekstrakt verimleri % olarak Şekil 4.1'de verilmektedir.



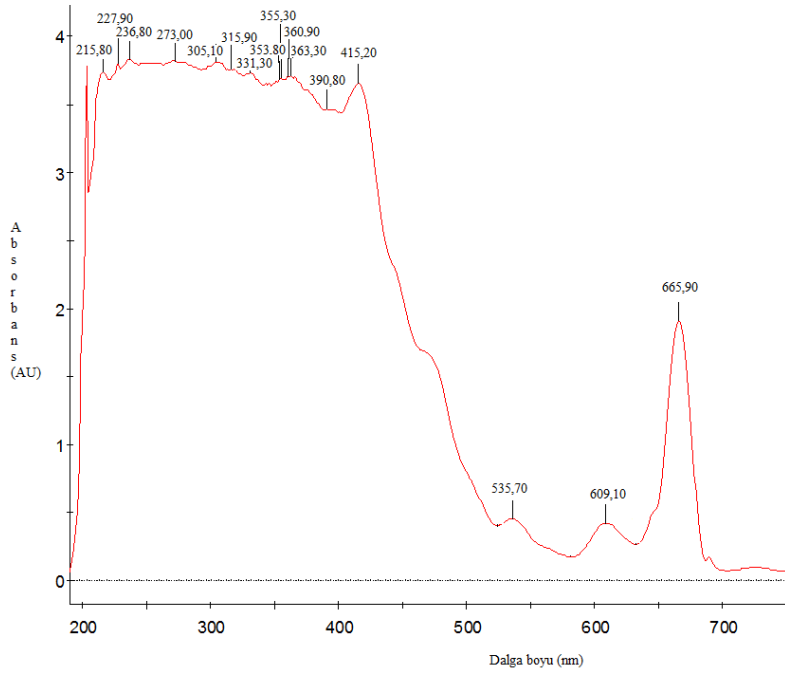
Şekil 4.1. Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının verimleri

## 4.2 Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının UV-Vis taramaları

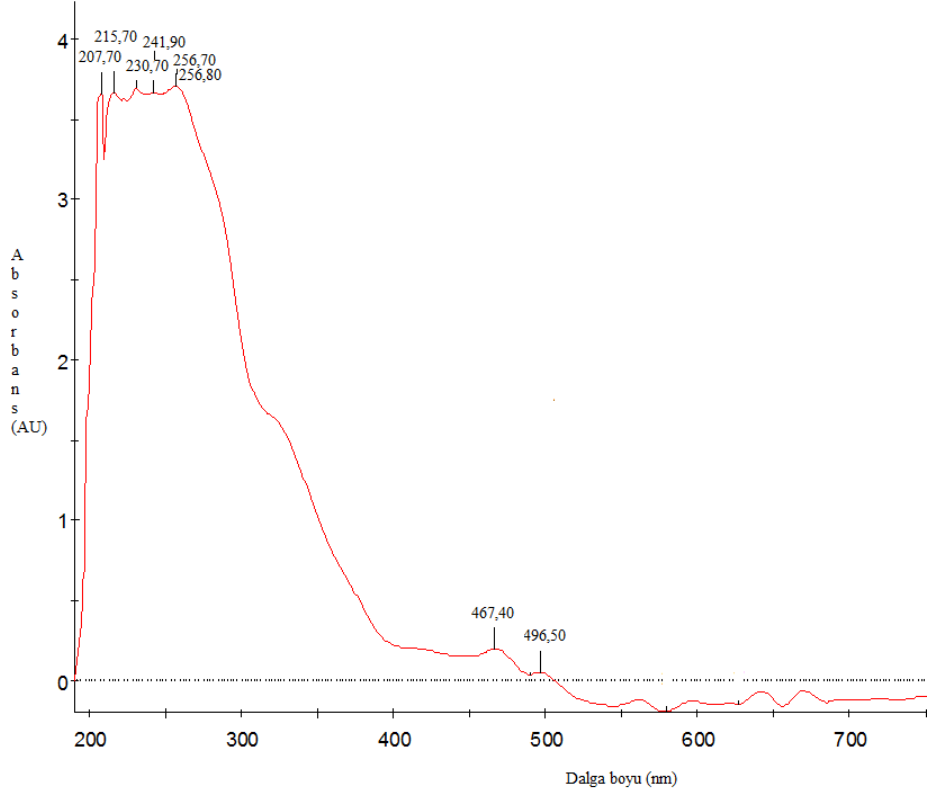
Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan çözeltilerinin fenolik bileşiklerinin karakterizasyonu için 200-750 nm arasında UV-Vis spektrofotometresi ile taramaları yapıldı ve Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12 ve 4.13'de verilmektedir.



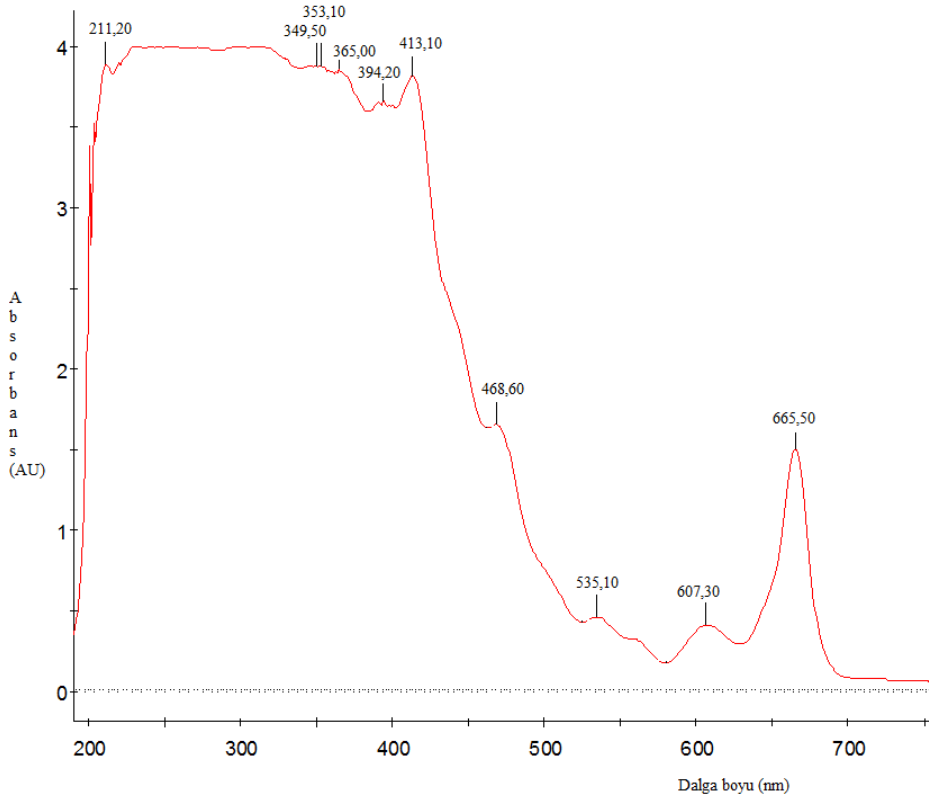
Şekil 4.2. Güz yemişi meyve etanol ekstraktının UV-Vis taraması



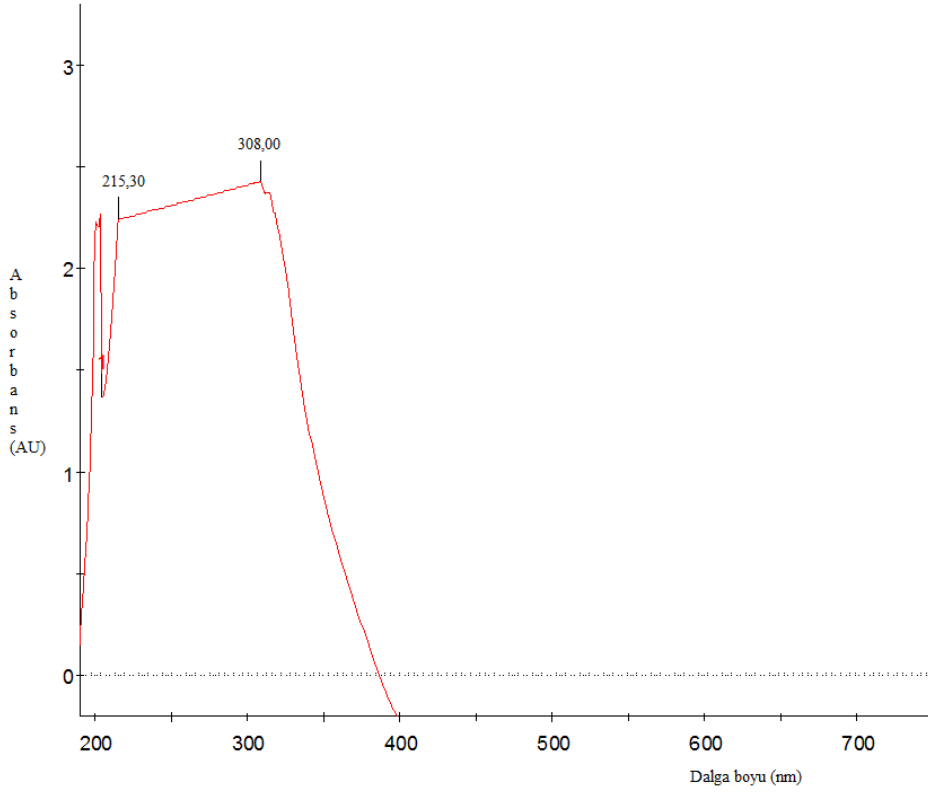
Şekil 4.3. Güz yemişi yaprak etanol ekstraktının UV-Vis taraması



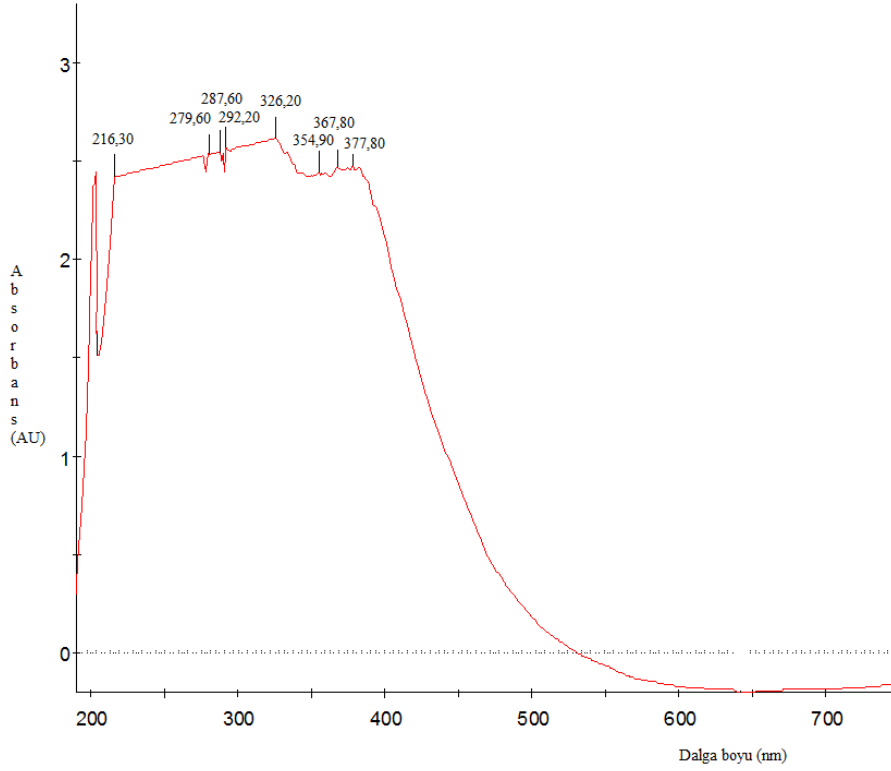
Şekil 4.4. Güz yemişi meyve metanol ekstraktının UV-Vis taraması



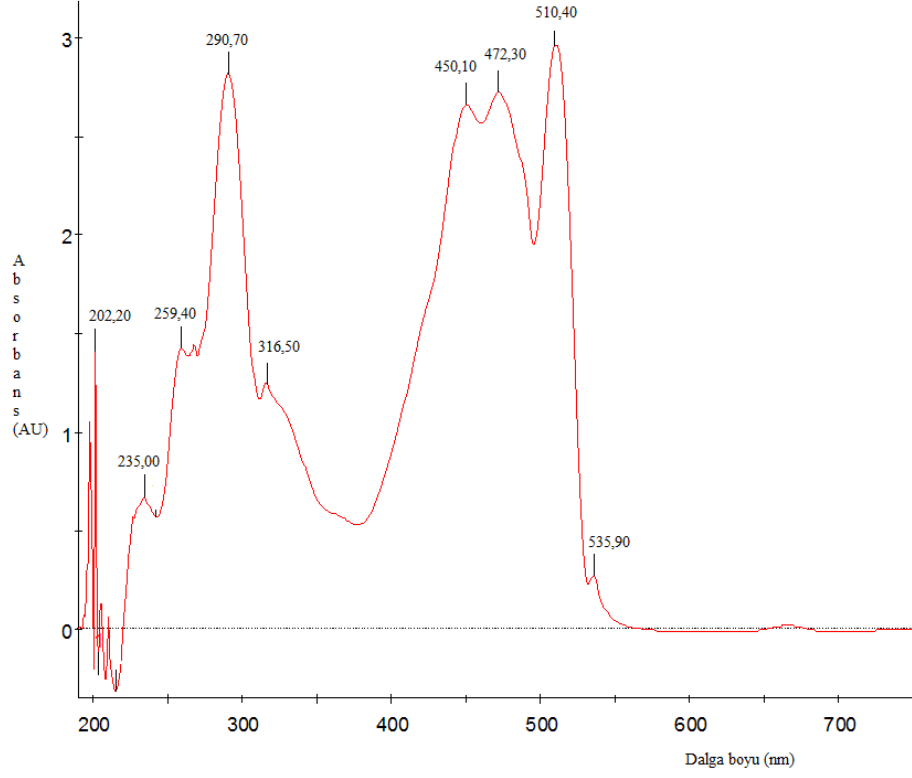
Şekil 4.5. Güz yemişi yaprak metanol ekstraktının UV-Vis taraması



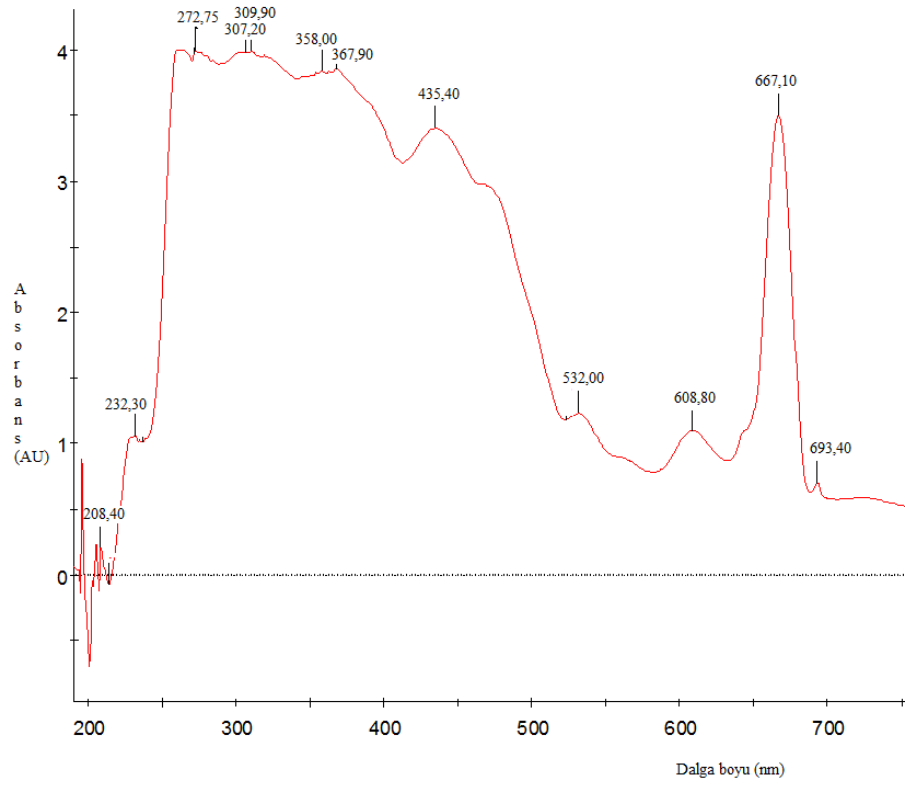
Şekil 4.6. Güz yemişi meyve su ekstraktının UV-Vis taraması



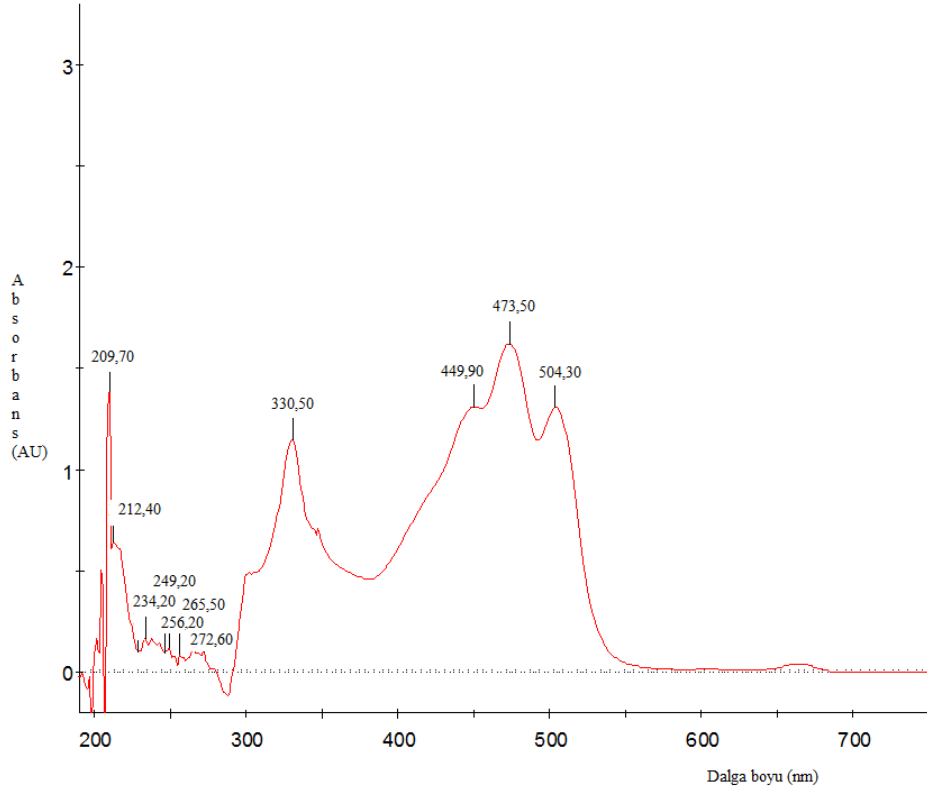
Şekil 4.7. Güz yemişi yaprak su ekstraktının UV-Vis taraması



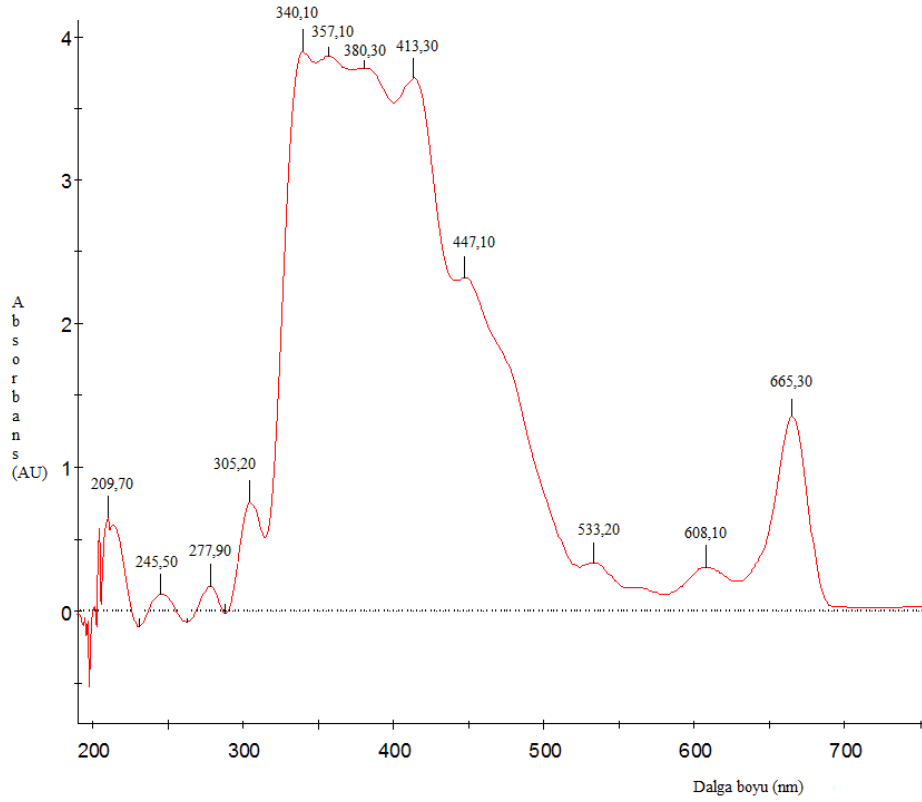
Şekil 4.8. Güz yemişi meyve etilasetat ekstraktının UV-Vis taraması



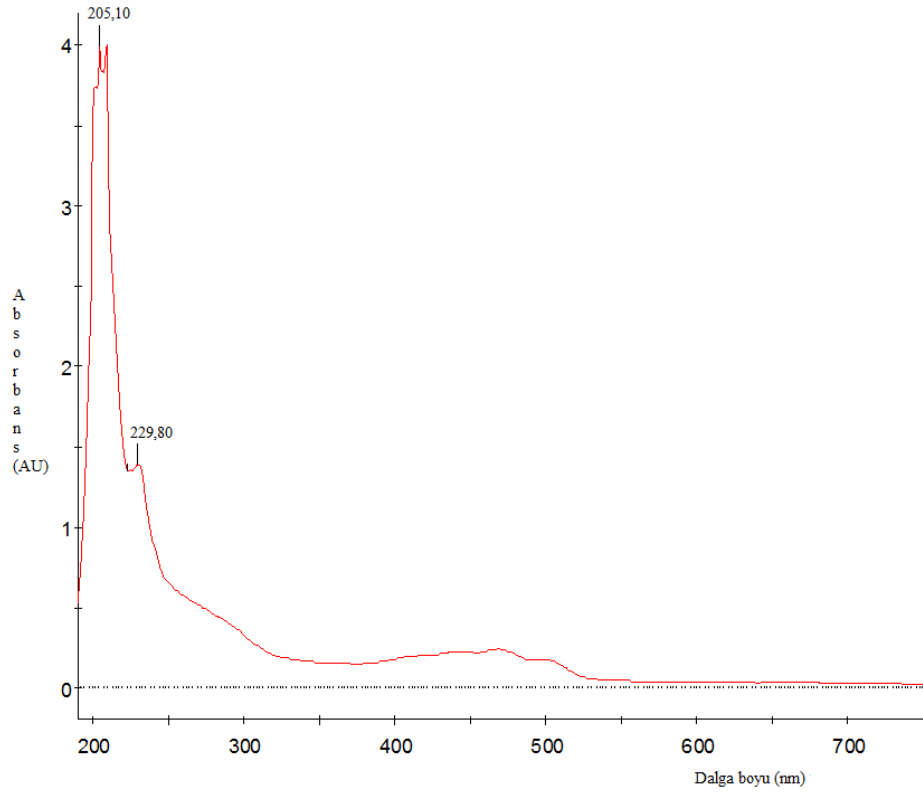
Şekil 4.9. Güz yemişi yaprak etilasetat ekstraktının UV-Vis taraması



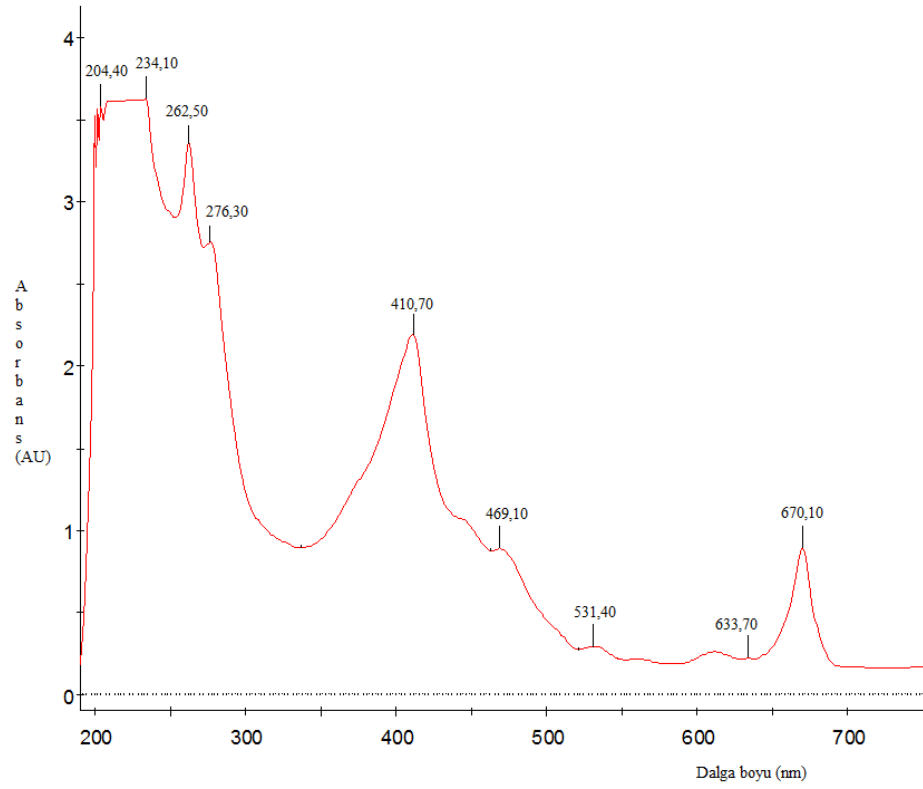
Şekil 4.10. Güz yemişi meyve aseton ekstraktının UV-Vis taraması



Şekil 4.11. Güz yemişi yaprak aseton ekstraktının UV-Vis taraması



Şekil 4.12. Güz yemişi meyve hekzan ekstraktının UV-Vis tarması

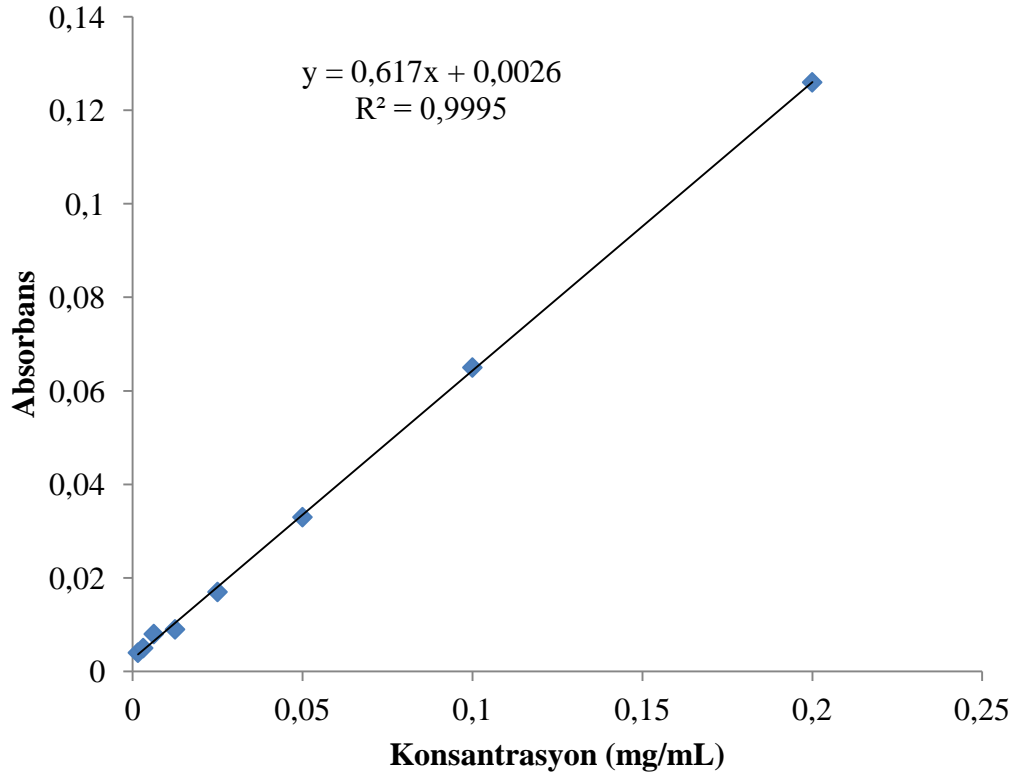


Şekil 4.13. Güz yemişi yaprak hekzan ekstraktının UV-Vis taraması

### 4.3 Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının bileşen analizleri

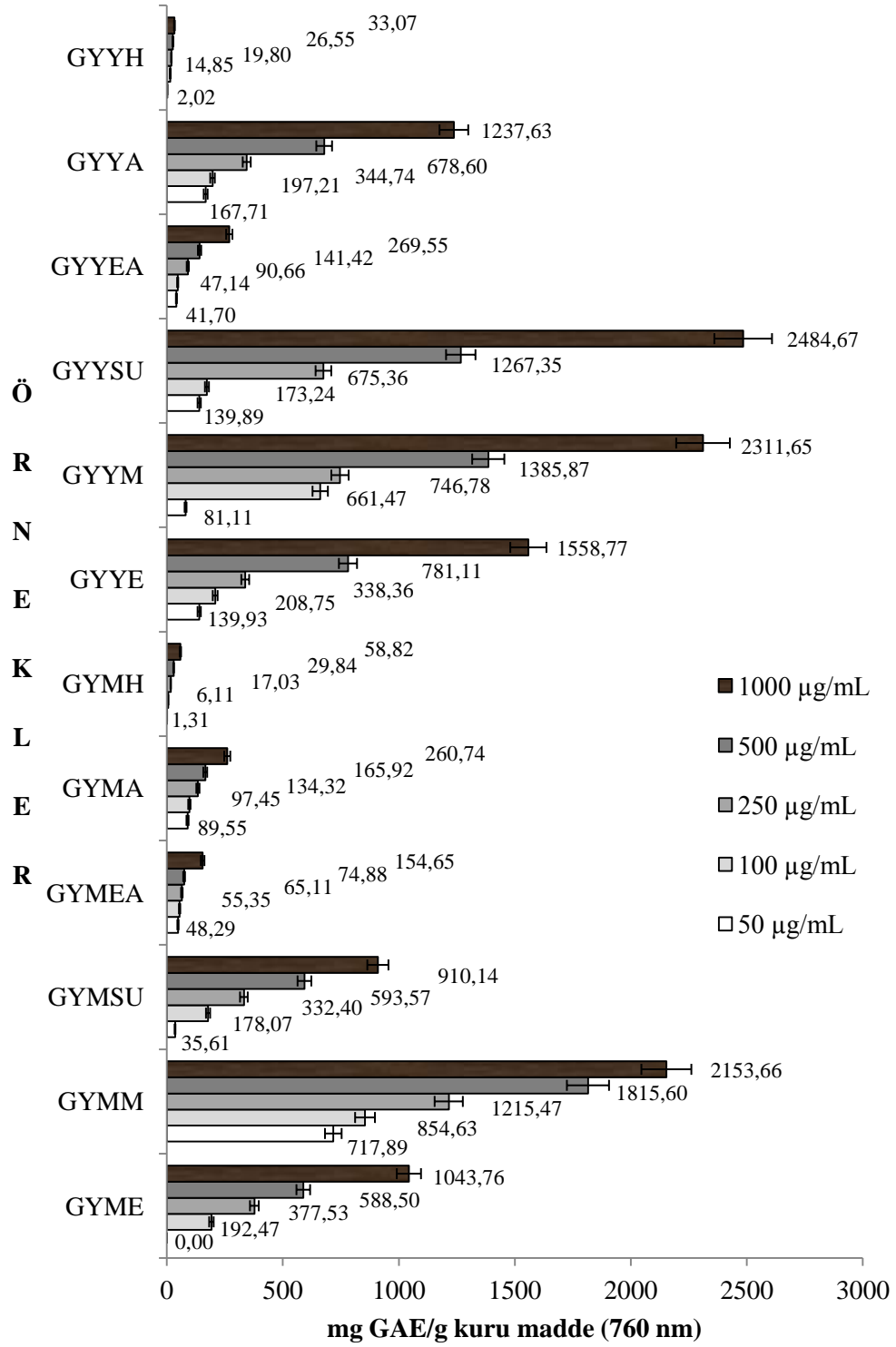
#### 4.3.1 Toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri 3.4.3.1 konu başlığında verilen yönteme göre belirlendi. Standart madde olarak gallik asit kullanıldı. Gallik asitin farklı konsantrasyonda hazırlanmış çözeltilerinin, Folin & Ciocalteu's reaktifi kullanılarak belirlendi. UV-Vis spektrofotometresi ile 760 nm'de gallik asit çözeltilerinin absorpsiyonu okundu. Gallik asit için kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.14). Kalibrasyon eğrisinin ( $y=mx+n$ ) denkleminde yararlanılarak gallik asite karşılık gelen x değeri hesaplandı.



Şekil 4.14. Gallik asit çözeltilisinin kalibrasyon grafiği

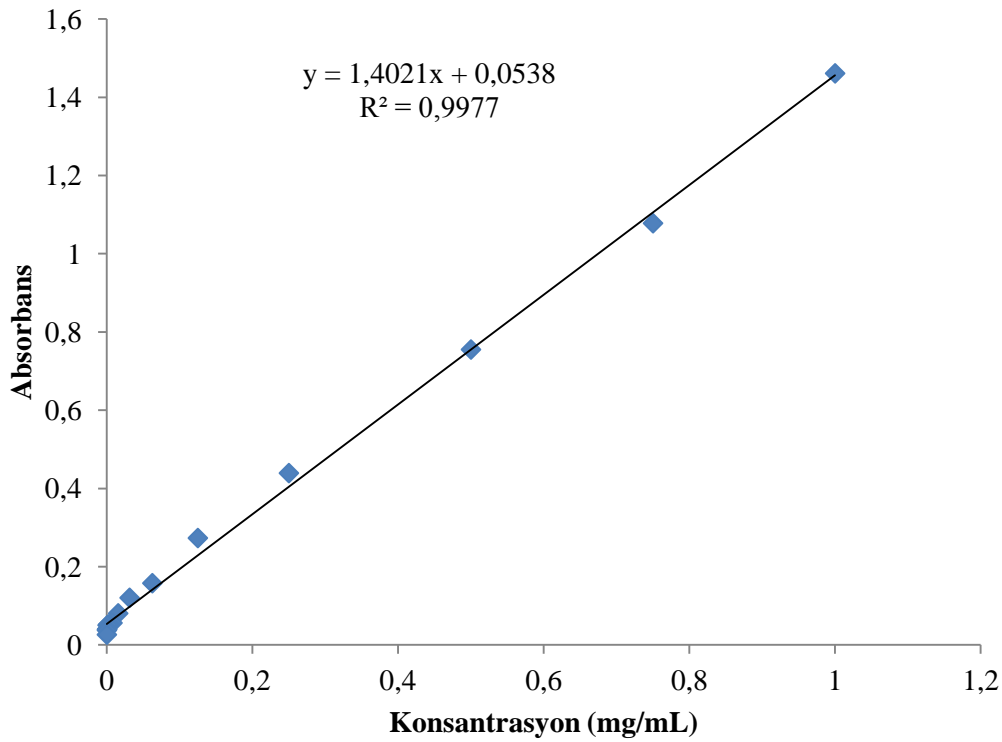
Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam fenolik içeriği kalibrasyon eğrisindeki x değerinden yararlanılarak Denklem 3.1' e göre toplam fenolik bileşik içeriği hesaplandı. Örnekleri toplam fenolik içerikleri “mg gallik asit (GAE)/g kuru madde” olarak ifade edildi. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinin karşılaştırılması Şekil 4.15' de gösterildi.



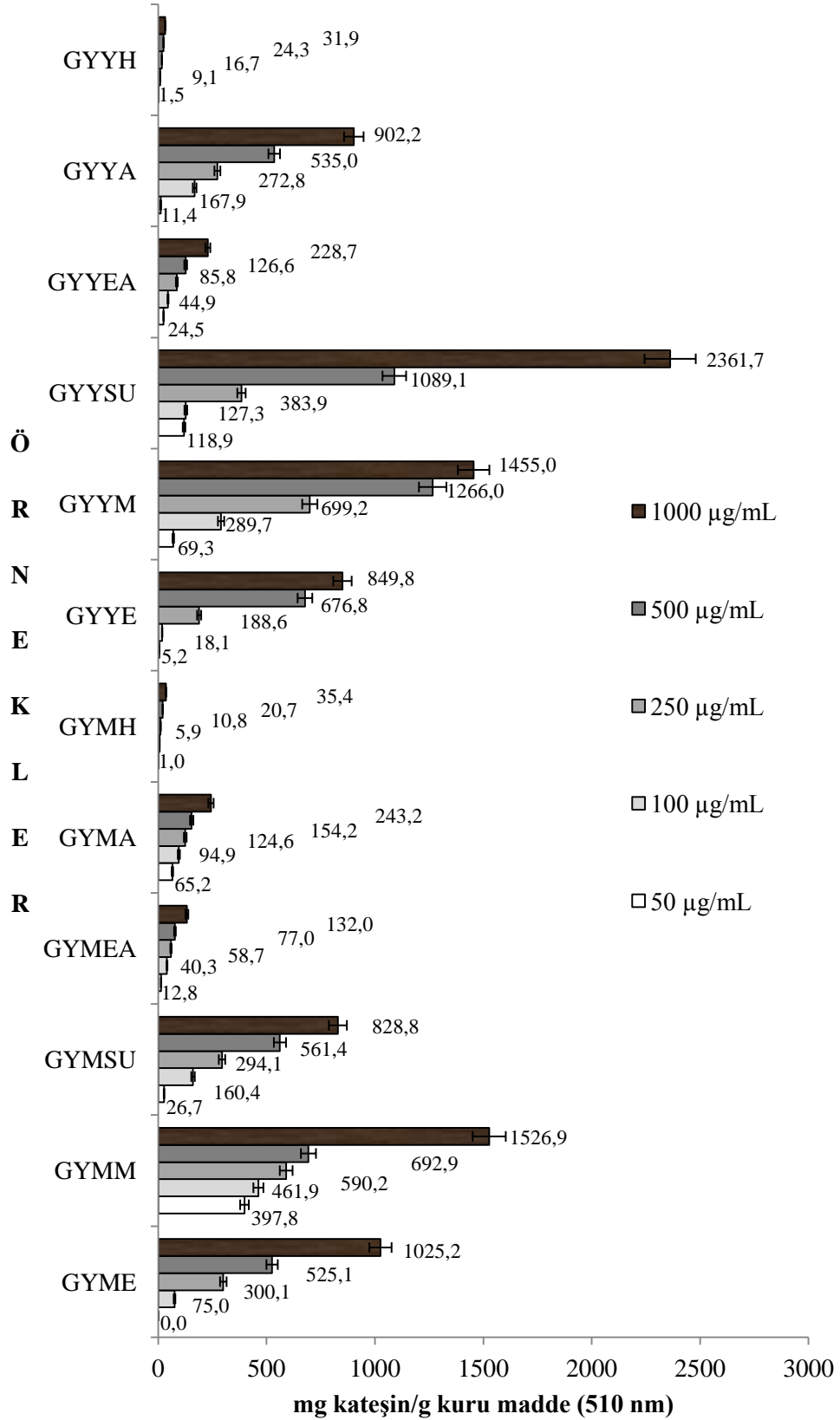
Şekil 4.15. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinin karşılaştırılması

### 4.3.2 Toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam flavonoid içerikleri 3.4.3.2 konu başlığında verilen yönteme göre belirlendi. Standart madde olarak kateşin çözeltisi kullanıldı. Kateşin çözeltisinin farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlandı. Farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerin UV-Vis spektrofotometresi ile 510 nm de suya karşı absorbansı okunarak kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.16). Kalibrasyon eğrisinin ( $y=mx+n$ ) denkleminde yararlanarak kateşine karşılık gelen x değeri hesaplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam flavonoid içeriği kalibrasyon eğrisindeki x değerinden yararlanarak Denklem 3.2' de verilen formüle göre hesaplandı. Örneklerin toplam flavonoid içerikleri "mg kateşin/g kuru madde" olarak ifade edildi. Ekstrakt örneklerinin toplam flavonoid içeriklerinin karşılaştırılması Şekil 4.17' de gösterildi.



Şekil 4.16. Kateşin çözeltisinin kalibrasyon grafiği



Şekil 4.17. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam flavonoid içeriklerinin karşılaştırılması

### 4.3.3 Toplam antosiyanin içeriklerinin belirlenmesi

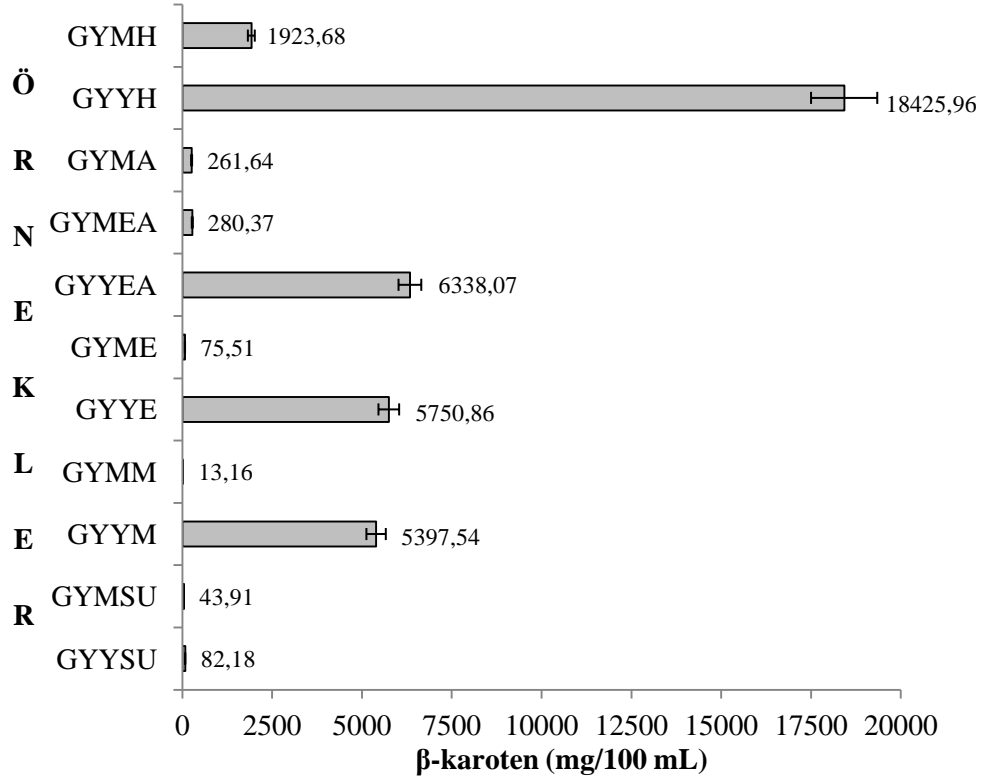
Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam antosiyanin içerikleri 3.4.3.3 konu başlığında verilen yöntemle göre belirlendi. Hazırlanan çözeltilerde öğütülmüş güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri kullanıldı. Hazırlanan çözeltilerin üst fazları alınarak UV-Vis spektrofotometresi ile sırasıyla 530 nm ve 657 nm için absorban değerleri ölçüldü. Geçirgenlik katsayısı ( $31,6 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) ile absorban değerleri antosiyanin konsantrasyonuna dönüştürülerek Denklem 3.3' de verilen formüle göre antosiyanin içeriği hesaplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam antosiyanin içerikleri gram başına mikrogram siyanidin-3-glukozid eşdeğer olarak ifade edildi. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam antosiyanin içeriklerinin karşılaştırılması Çizelge 4.1' de gösterildi.

**Çizelge 4.1.** Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam antosiyanin içeriklerinin karşılaştırılması

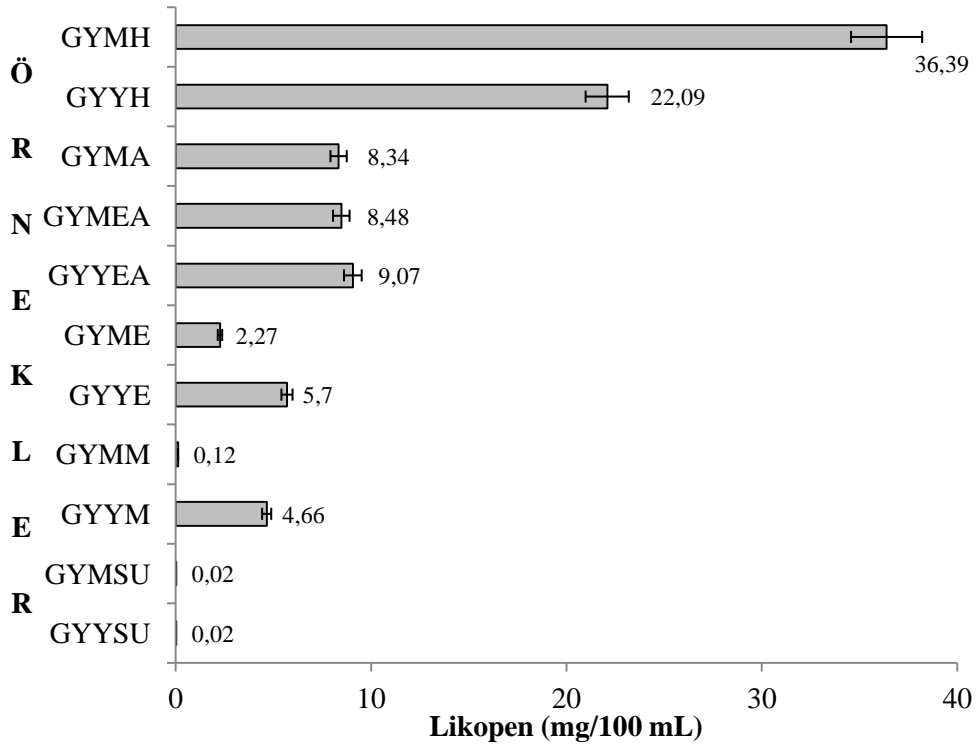
| <b>Örnekler</b>   | <b>Toplam antosiyanin miktarı</b>                     |
|-------------------|---|
| Güz yemişi yaprak | 290,27 $\mu\text{g}$ siyanidin-3-glikozid/kuru yaprak |
| Güz yemişi meyve  | 48,06 $\mu\text{g}$ siyanidin-3-glikozid/kuru meyve   |

### 4.3.4 $\beta$ -karoten ve likopen içeriklerinin belirlenmesi

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $\beta$ -karoten ve likopen içerikleri 3.4.3.4 konu başlığında verilen yöntemle göre belirlendi. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerin ekstraktları kullanıldı. Yönteme göre hazırlanan karışımlar Watman kağıdında süzülerek, süzütünün UV-Vis spektrofotometresi ile 453, 505, 645 ve 663 nm de absorbanı okundu. Güz yemişi meyve ve yapraklarının  $\beta$ -karoten miktarı Denklem 3.4' de verilen formül ile likopen miktarı ise Denklem 3.5' de verilen formül ile hesaplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $\beta$ -karoten içeriklerinin karşılaştırılması Şekil 4.18' de, likopen içeriklerinin karşılaştırılması Şekil 4.19' de gösterildi.



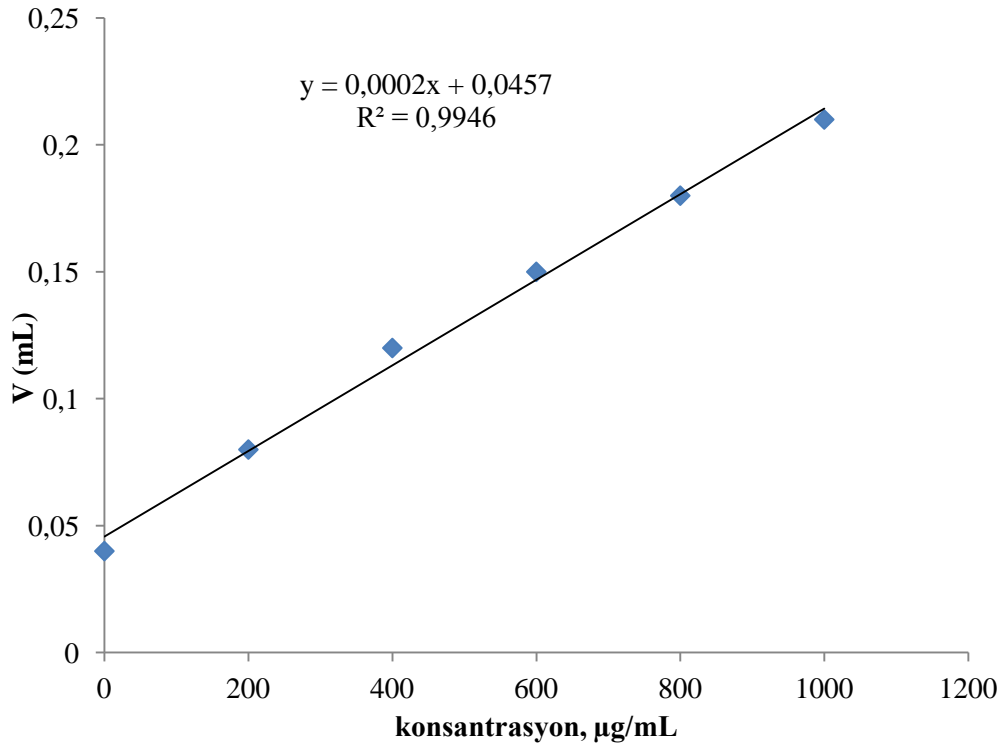
Şekil 4.18. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $\beta$ -karoten içeriklerinin karşılaştırılması



Şekil 4.19. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin likopen içeriklerinin karşılaştırılması

#### 4.3.5 Askorbik asit içeriklerinin belirlenmesi

Güz yemişı meyve ve yaprak örneklerinin askorbik asit içerikleri 3.4.3.5 konu başlığında verilen yöntemle göre belirlendi. Öğütülmüş güz yemişı meyve ve yaprak örnekleri kullanıldı. Askorbik asitin farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı ve askorbik asit çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.20). Güz yemişı meyve ve yaprak örneklerinin belirtilen yöntemle göre çözeltileri hazırlandı ve Denklem 3.6' da verilen formüle göre askorbik asit içerikleri hesaplandı. Güz yemişı meyve ve yaprak örneklerinin askorbik asit içeriklerinin karşılaştırılması Çizelge 4.2' de gösterildi.



Şekil 4.20. Askorbik asitin kalibrasyon grafiği

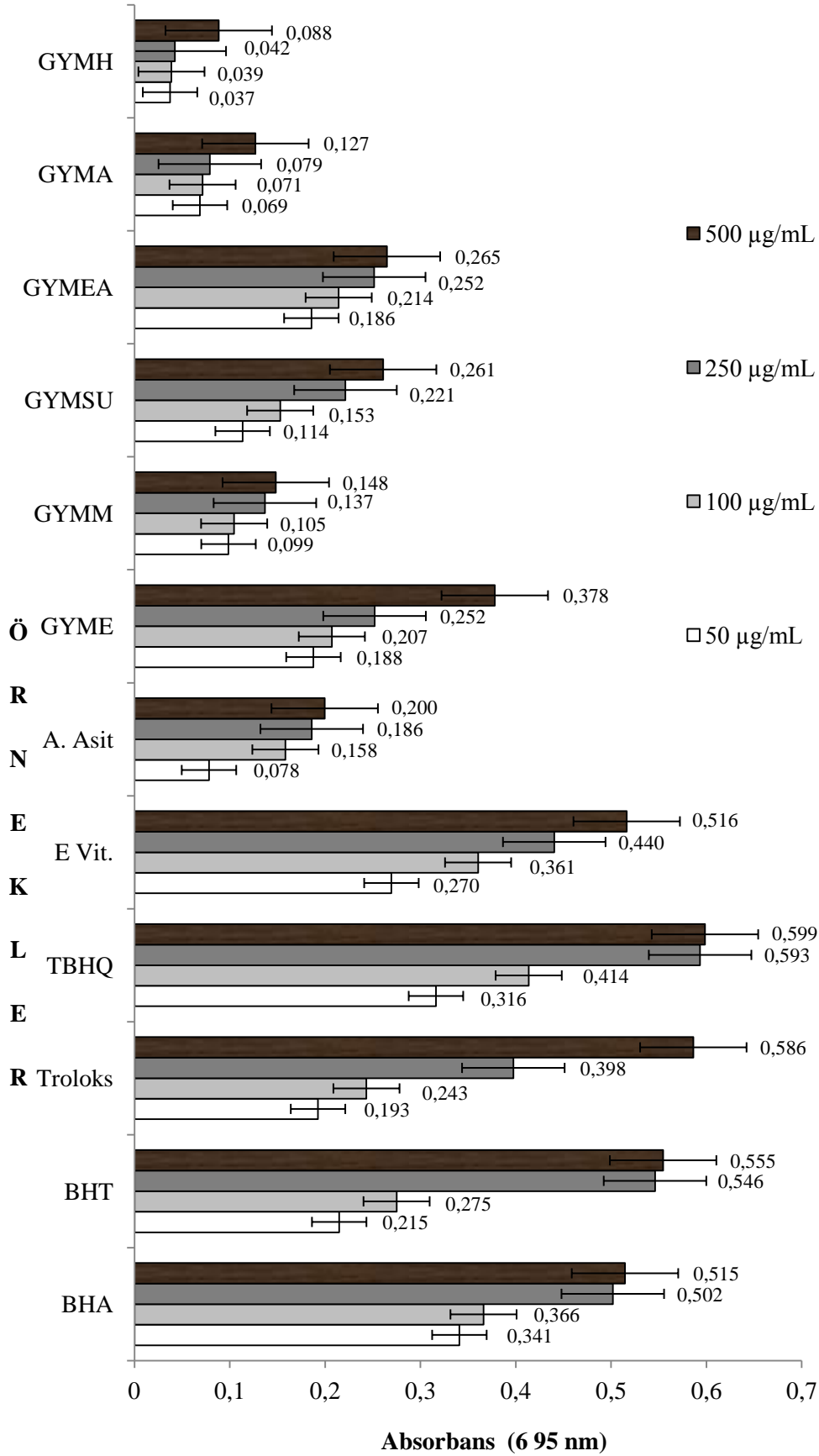
Çizelge 4.2. Güz yemişı meyve ve yaprak örneklerinin askorbik asit içeriklerinin karşılaştırılması

| Örnekler          | Askorbik asit miktarı   |
|-------------------|-------------------------|
| Güz yemişı yaprak | 268,44 mg/g kuru yaprak |
| Güz yemişı meyve  | 138,13 mg/g kuru meyve  |

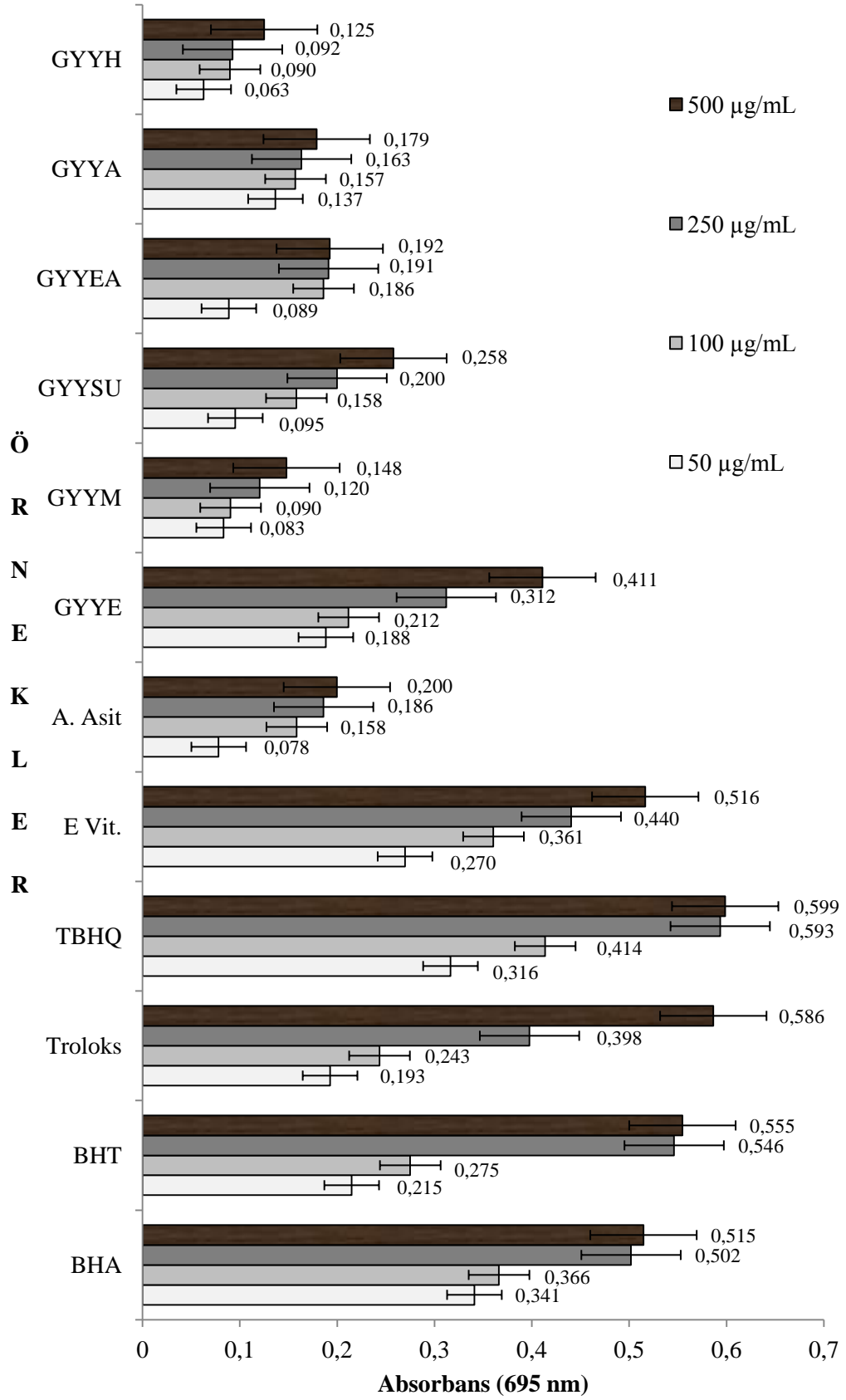
#### **4.4 Güz yemişi örneklerinin antioksidant aktiviterinin belirlenmesi**

##### **4.4.1 Toplam antioksidant aktiviterinin belirlenmesi**

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin toplam antioksidant aktiviteri 3.4.4.1 konu başlığında verilen yönteme göre amonyummolibdeniyum yöntemiyle tayin edildi. Maddelerin antioksidant kapasitesi örnek karşımının Mo (VI) in Mo(V) e indirgenme ve 695 nm de yeşil fosfat / Mo(V) bileşiğinin oluşumu esasına bağlı amonyumolibdenum yöntemi ile UV-Vis spektrofotometresi ile spektroskopik olarak tayin edildi. Standart antioksidant maddeler ile güz yemişi örneklerinin toplam antioksidant aktiviterinin karşılaştırılması Şekil 4.21 ve 4.22' de gösterildi.



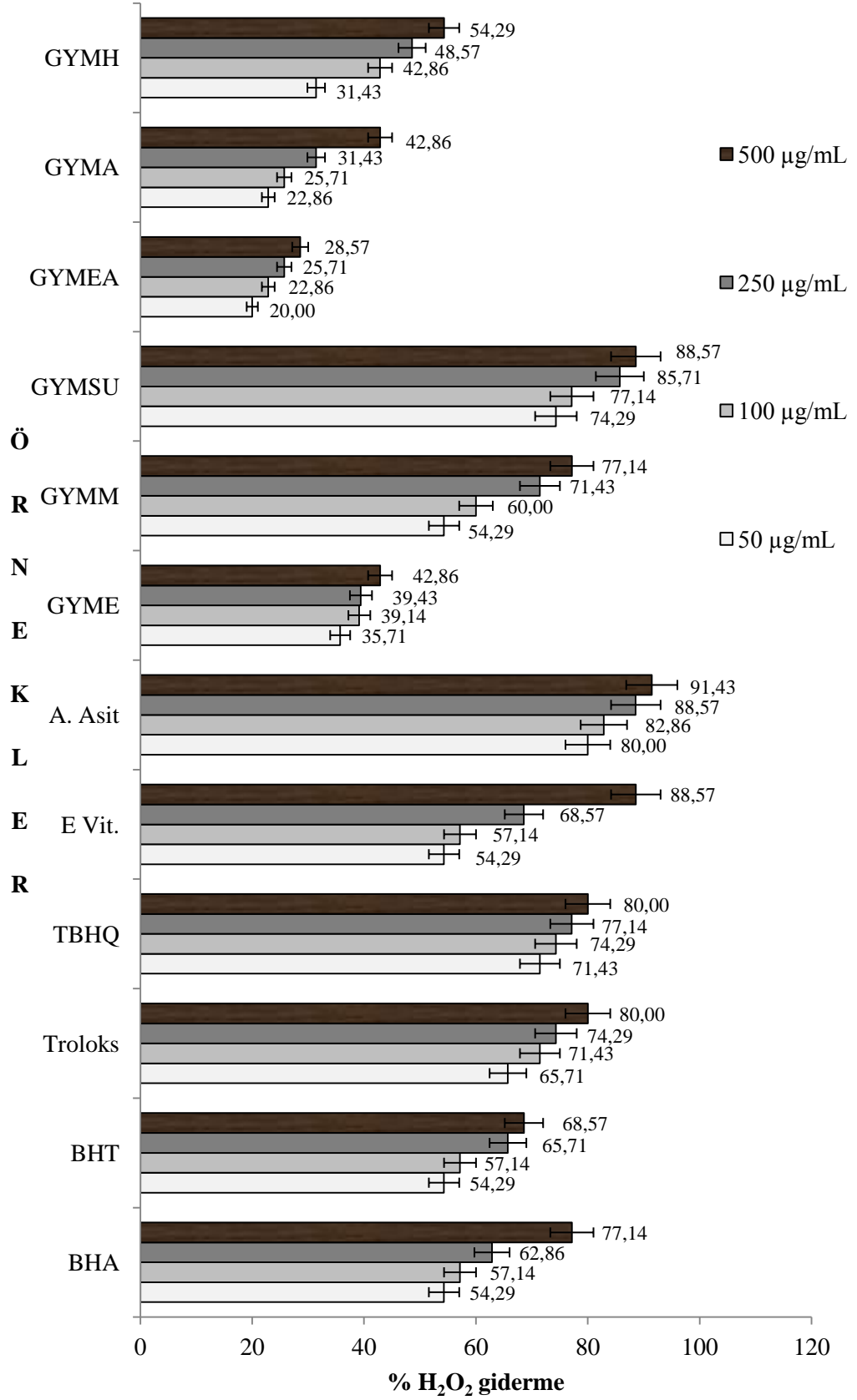
Şekil 4.21. Güz yemişi meyve örneklerinin toplam antioksidant aktivitelerinin karşılaştırılması



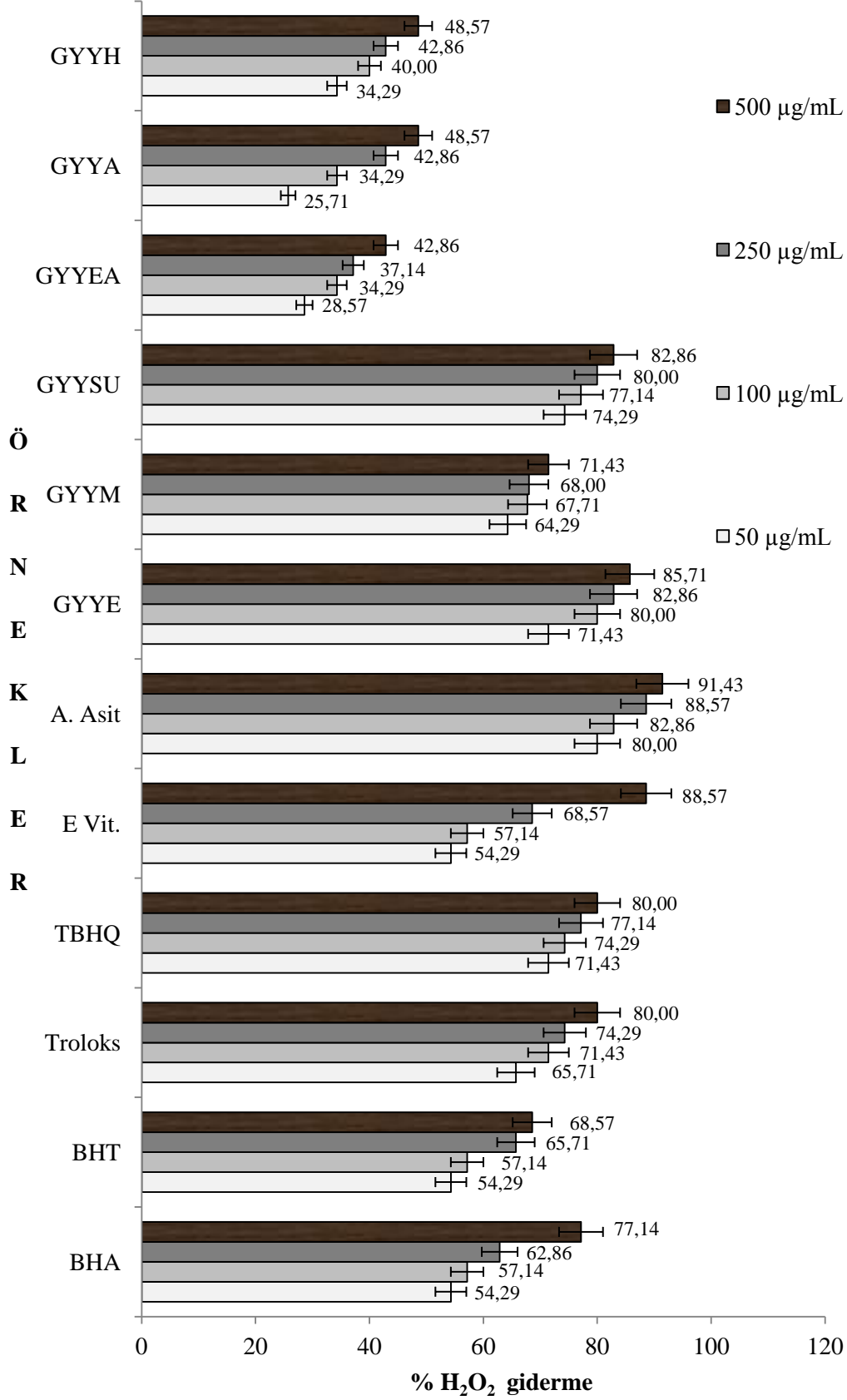
Şekil 4.22. Güz yemişi yaprak örneklerinin toplam antioksidant aktivitelerinin karşılaştırılması

#### **4.4.2 Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) giderme aktivitesinin belirlenmesi**

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri 3.4.4.2 konu başlığında verilen yönteme göre tayin edildi. Farklı konsantrasyonlarda belirtilen yönteme göre hazırlanan güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin çözeltileri hazırlandıktan sonra, yeşil renk kaybolana kadar titre edildi. % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktivitesi hesaplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktivitelerinin karşılaştırması Şekil 4.23 ve 4.24' da gösterildi.



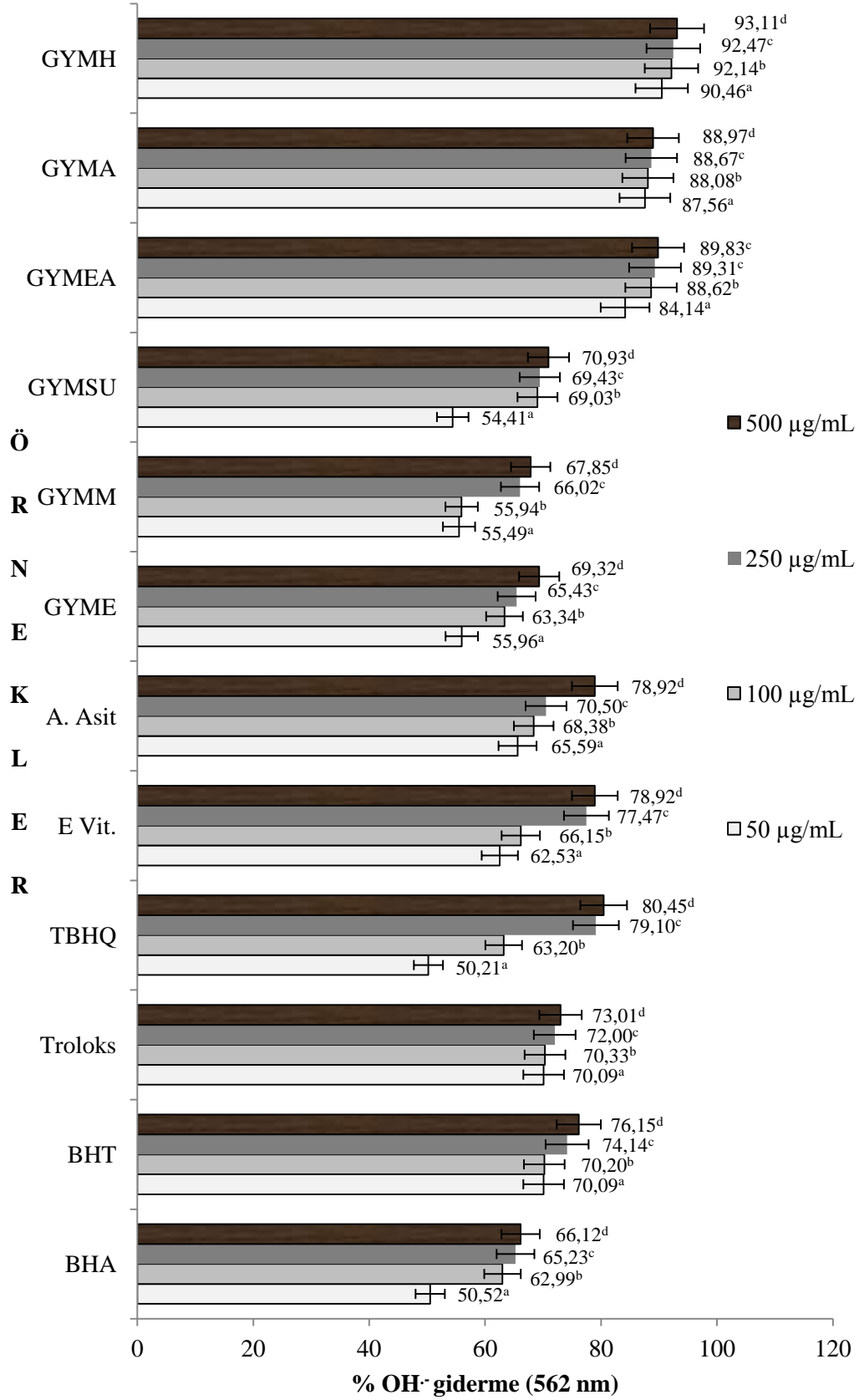
Şekil 4.23. Güz yemişi meyve örneklerinin hidrojen peroksit aktivitelerinin karşılaştırılması



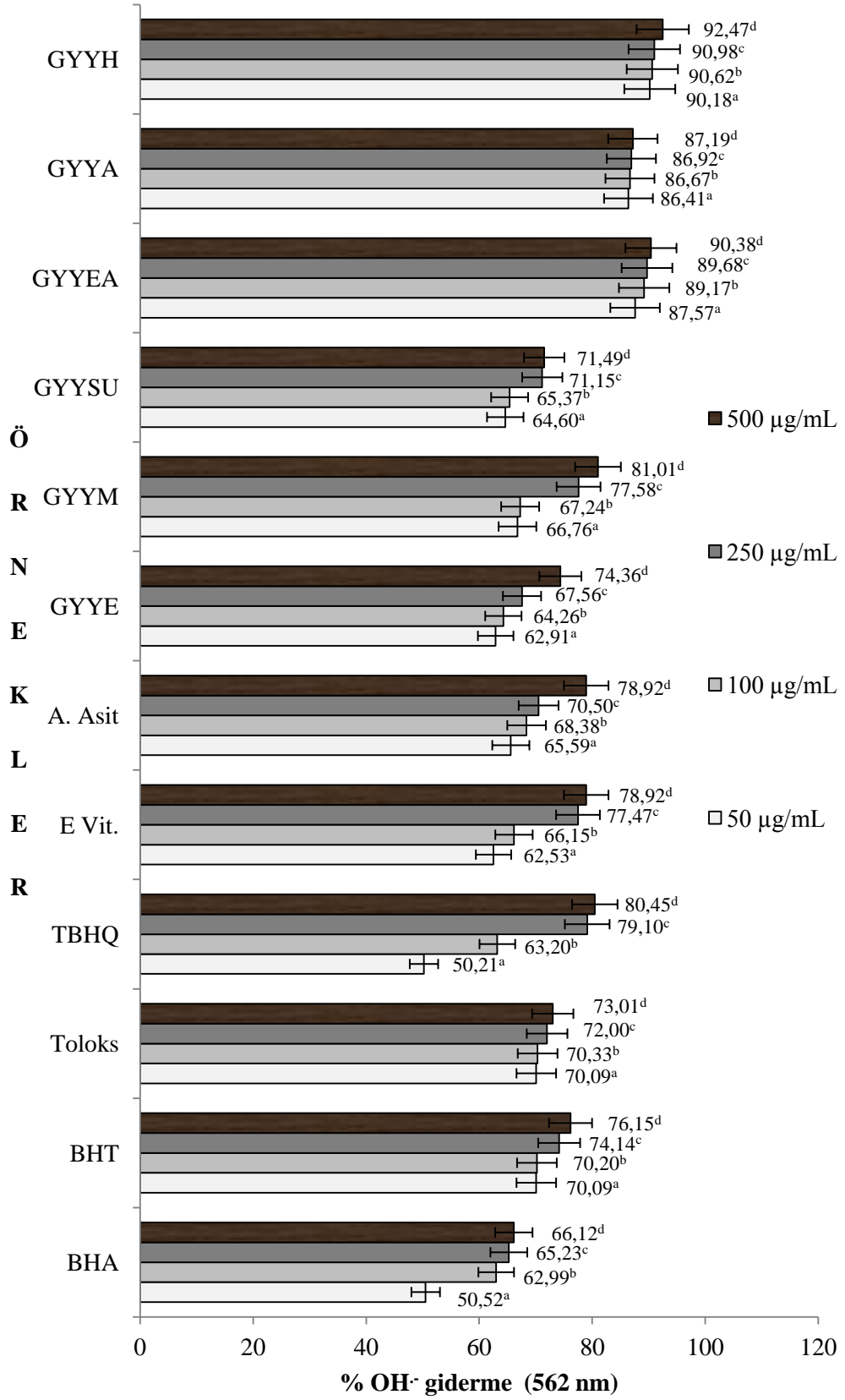
Şekil 4.24. Güz yemişi yaprak örneklerinin hidrojen peroksit aktivitelerinin karşılaştırılması

#### **4.4.3 Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>) giderme aktivitesinin belirlenmesi**

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin % OH<sup>·</sup> giderme aktiviteleri 3.4.4.3 konu başlığında verilen yönteme göre tayin edildi. Hidroksil radikalleri FeSO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> karışımı ile oluşturuldu. Salisilik asit etkisi ile aktivite belirlendi. Hidroksitlenmiş salisilat kompleksinin UV-Vis spektrofotometresi ile 562 nm de absorbansı ölçüldü. Hidroksil radikali giderme aktivitesi hesaplanarak, güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin % OH<sup>·</sup> giderme aktivitelerinin karşılaştırılması Şekil 4.25 ve 4.26' de gösterildi.



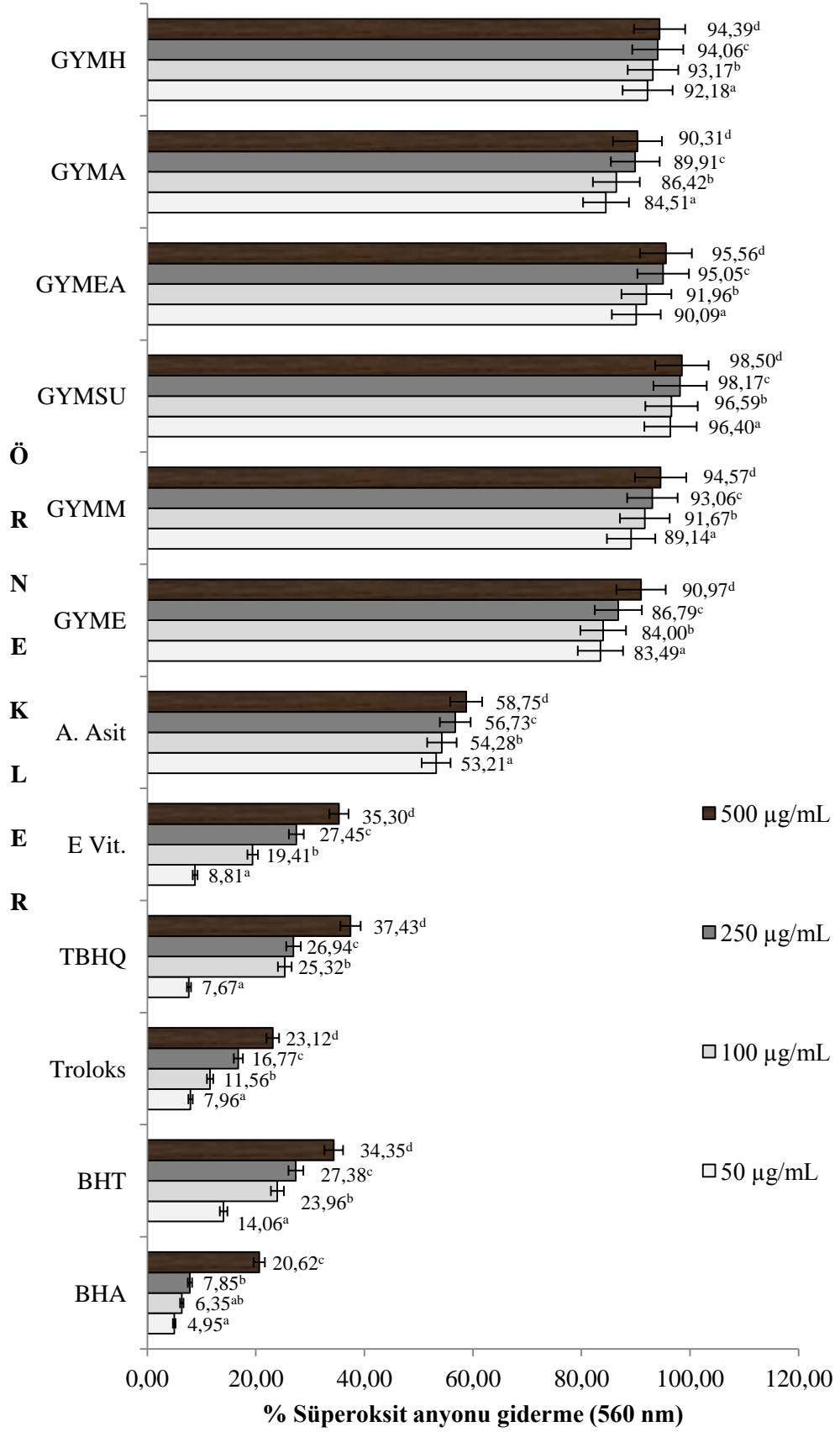
Şekil 4.25. Güz yemişi meyve örneklerinin hidroksil radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması



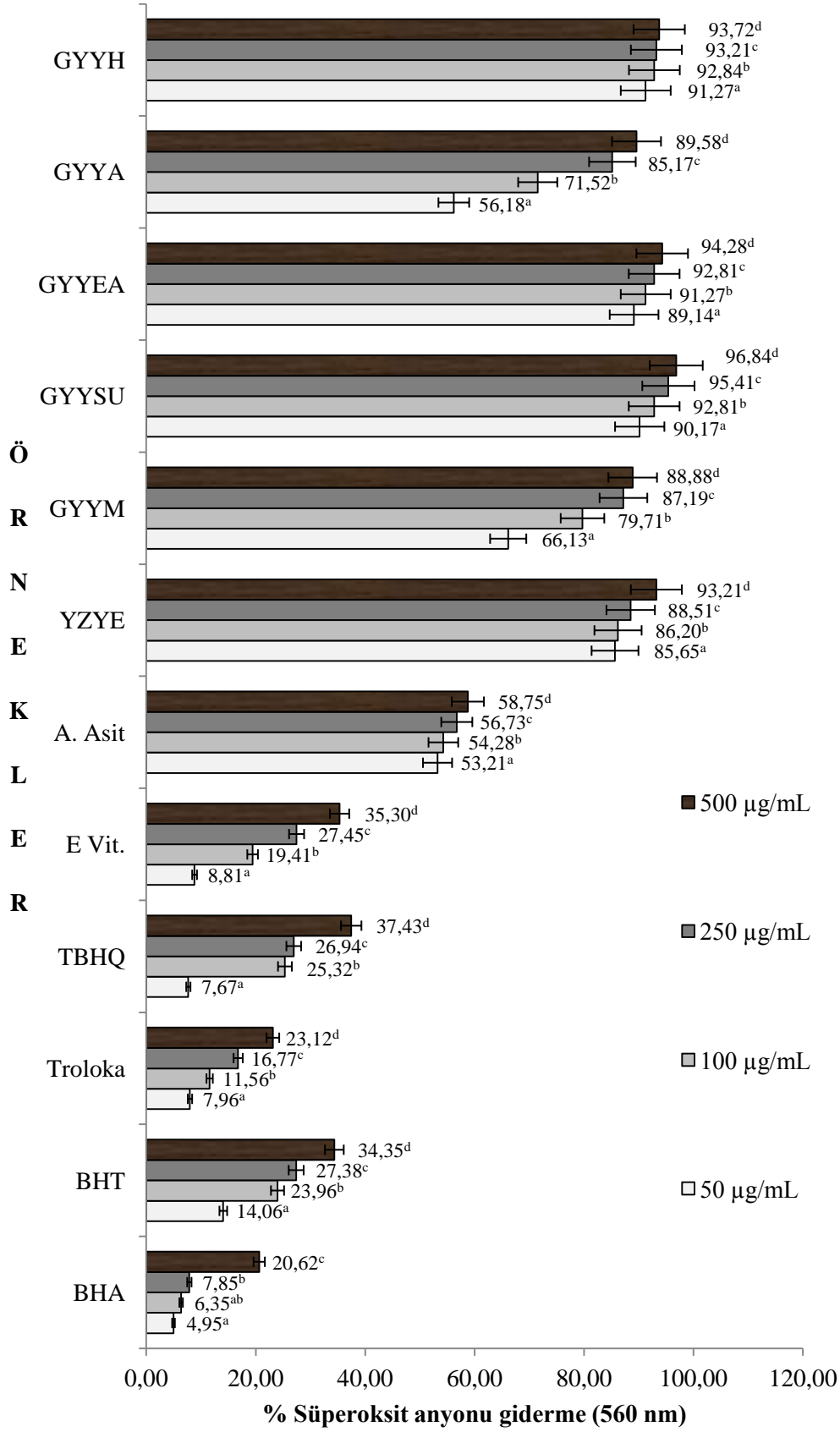
Şekil 4.26. Güz yemişi yaprak örneklerinin hidroksil radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması

#### **4.4.4 Süperoksit anyonu giderme aktivitesinin belirlenmesi**

Güz yemişı meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin % süperoksit giderme aktiviteleri 3.4.4.4 konu başlığında verilen yöntemle göre tayin edildi. % süperoksit giderme aktivitesi hesaplanarak, güz yemişı meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin süperoksit giderme aktivitelerinin karşılaştırması Şekil 4.27 ve 4.28' da gösterildi.



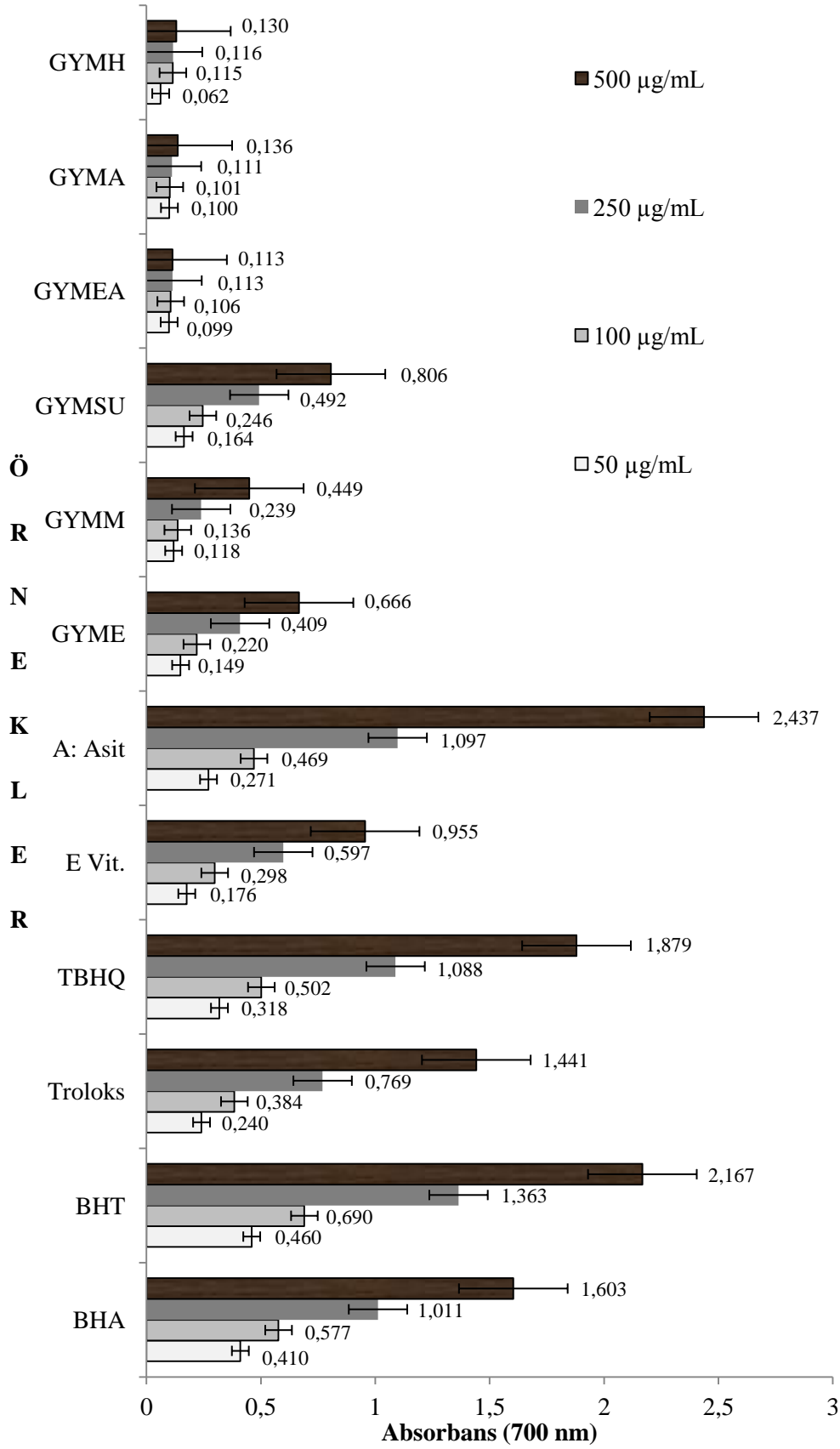
Şekil 4.27. Güz yemişi meyve örneklerinin süperoksit anyonu giderme aktivitelerinin karşılaştırılması



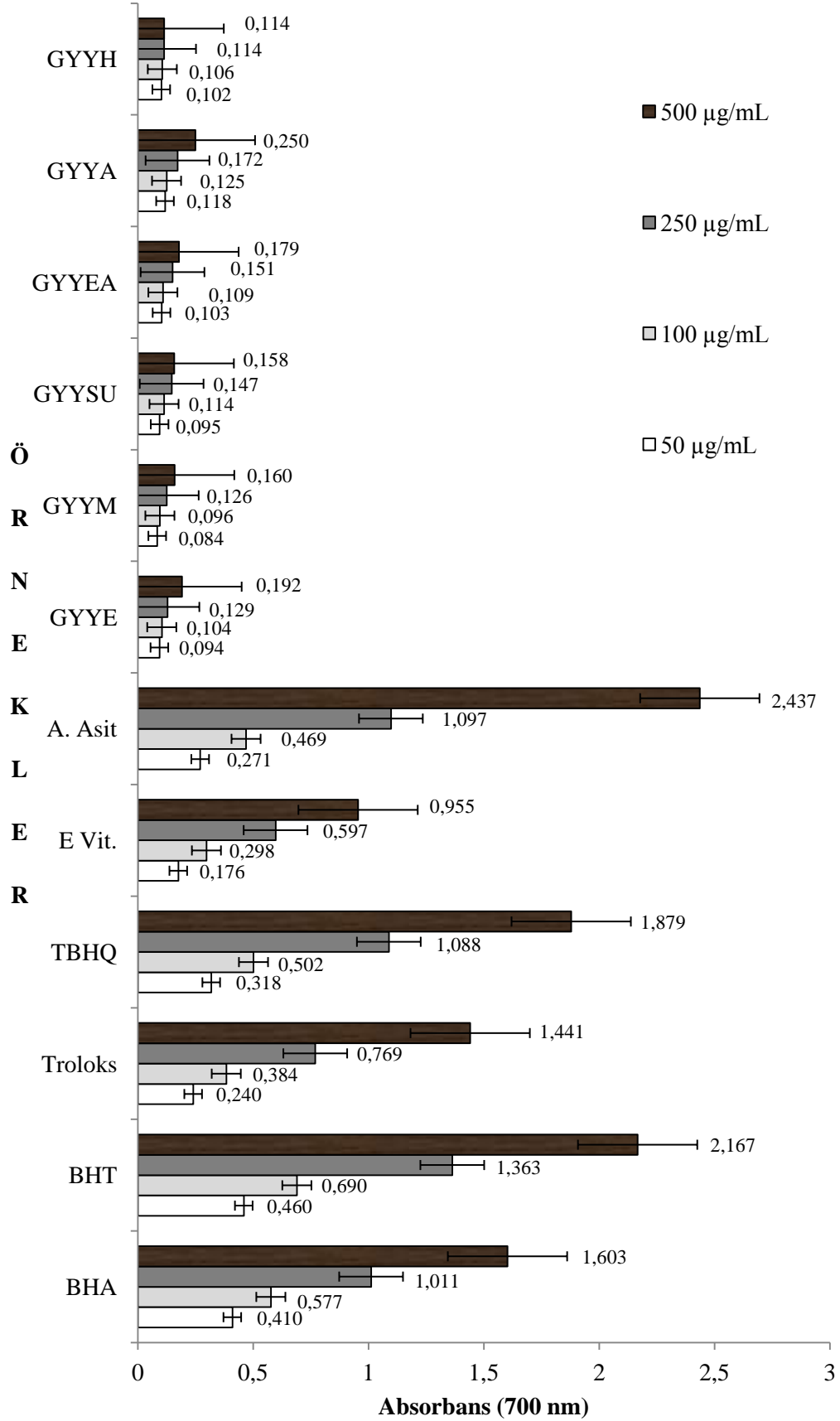
Şekil 4.28. Güz yemişi yaprak örneklerinin süperoksit anyonu giderme aktivitelerinin karşılaştırılması

#### **4.4.5 İndirgeme gücü aktivitesinin belirlenmesi**

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin indirgeme gücü aktiviteleri 3.4.4.5 konu başlığında verilen yonteme göre tayin edildi. Farklı konsantrasyonda hazırlanmış güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları ve standart antioksidant çözeltilerinin UV-Vis spektrofotometresi ile 700 nm de absorbansı ölçüldü. Reaksiyon karışımındaki absorpsiyon artışı indirgeme gücü kapasitesinin artışı gösterir. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin indirgeme gücü aktivitelerinin karşılaştırılması Şekil 4.29 ve 4.30' de gösterildi.



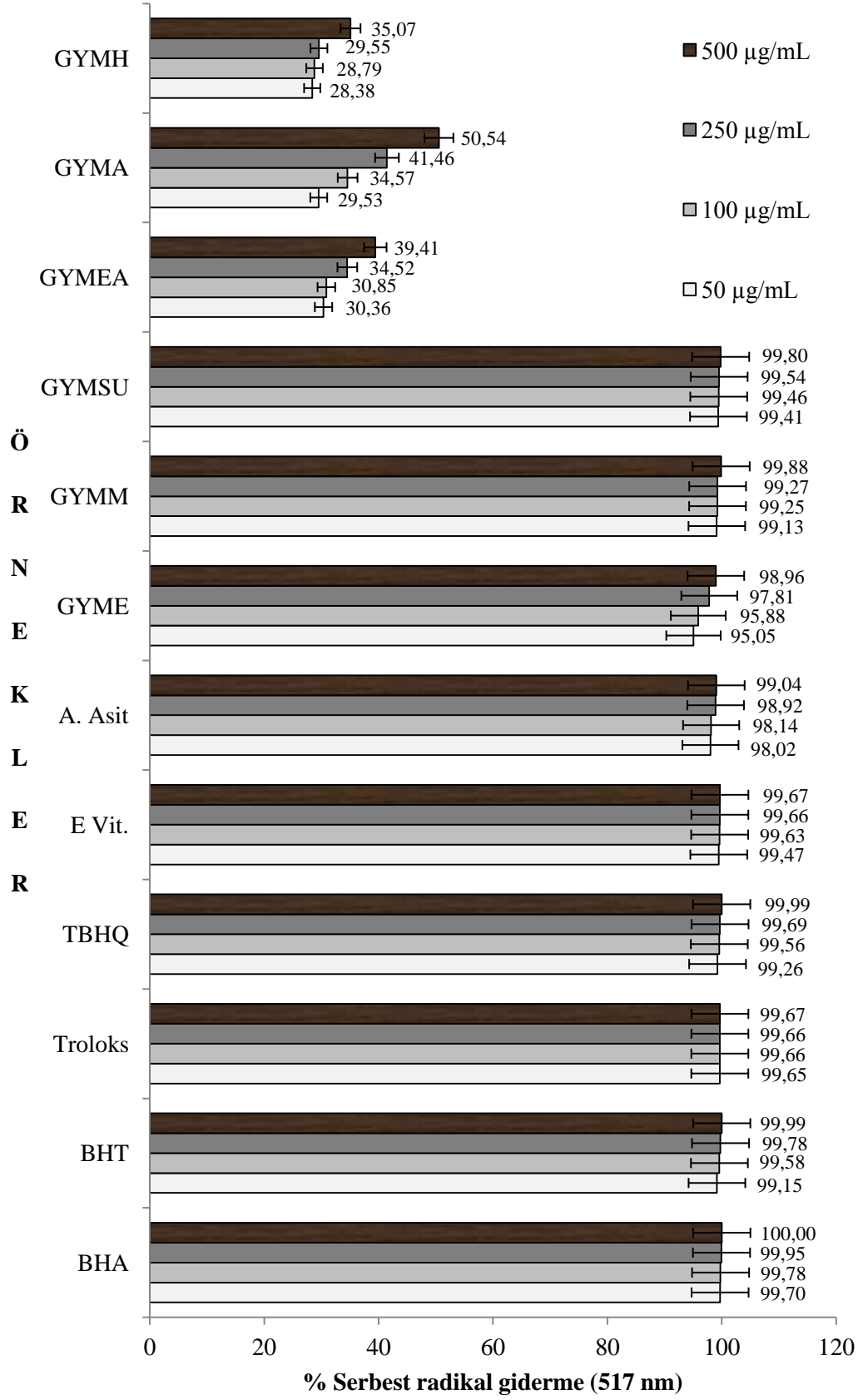
Şekil 4.29. Güz yemişi meyve örneklerinin indirgeme gücü aktivitelerinin karşılaştırılması



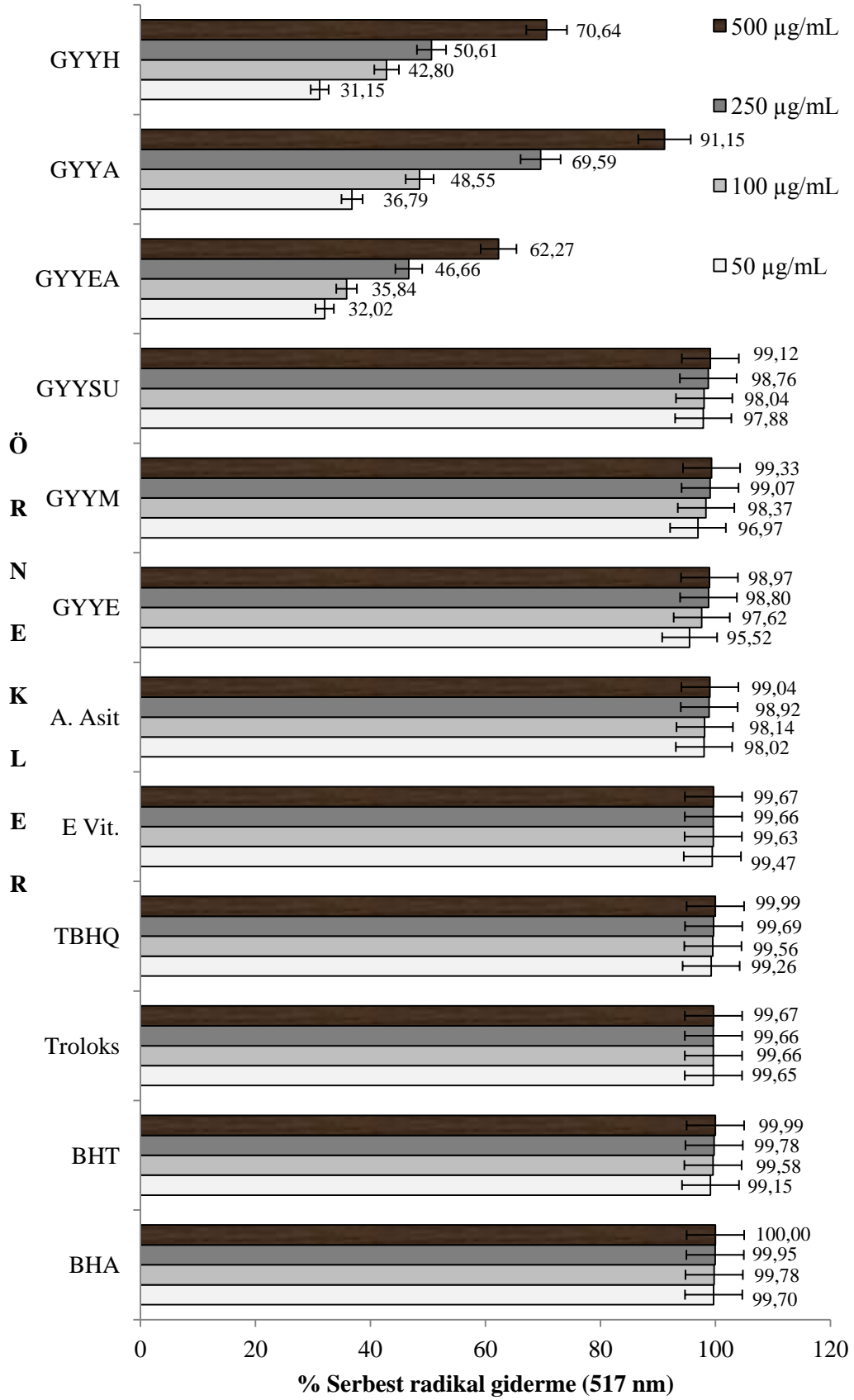
Şekil 4.30. Güz yemişi yaprak örneklerinin indirgeme gücü aktivitelerinin karşılaştırılması

#### **4.4.6 Serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi**

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin serbest radikal giderme aktiviteleri 3.4.4.6 konu başlığında verilen yonteme gore tayin edildi. Serbest radikal giderme aktivitesi 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH') serbest radikali kullanılarak belirlendi. Ekstraktların ve standart antioksidant maddelerin UV-Vis spektrofotometresi ile 517 nm de absorbanları ölçüldü. Güz yemişi meyve ve yaprak ekstarktlarının ve standart antioksidantların serbest radikal giderme aktivitelerinin karşılaştırılması Şekil 4.31 ve 4.32' de gösterildi.



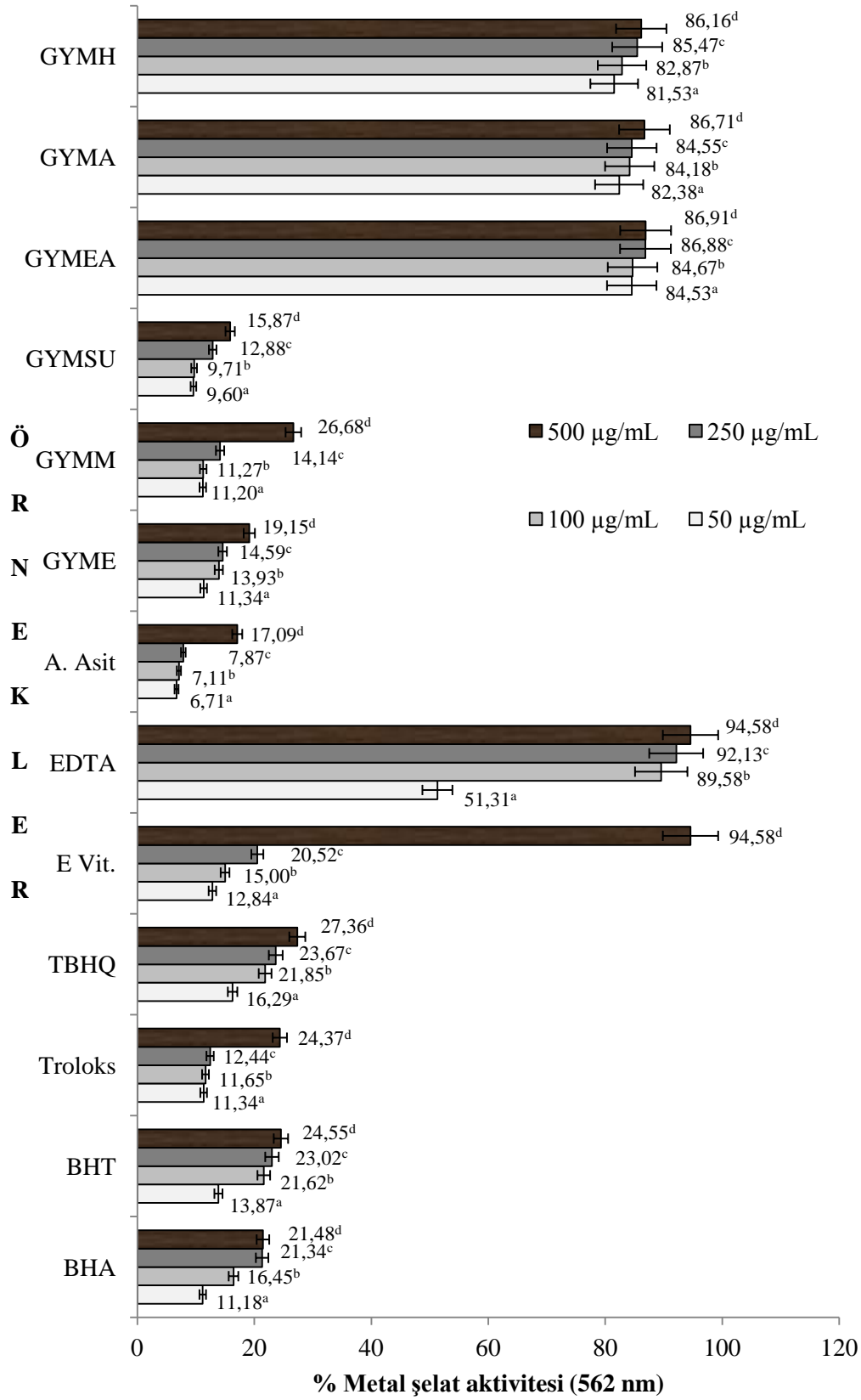
Şekil 4.31. Güz yemişi meyve örneklerinin serbest radikal giderme aktivitelerinin karşılaştırılması



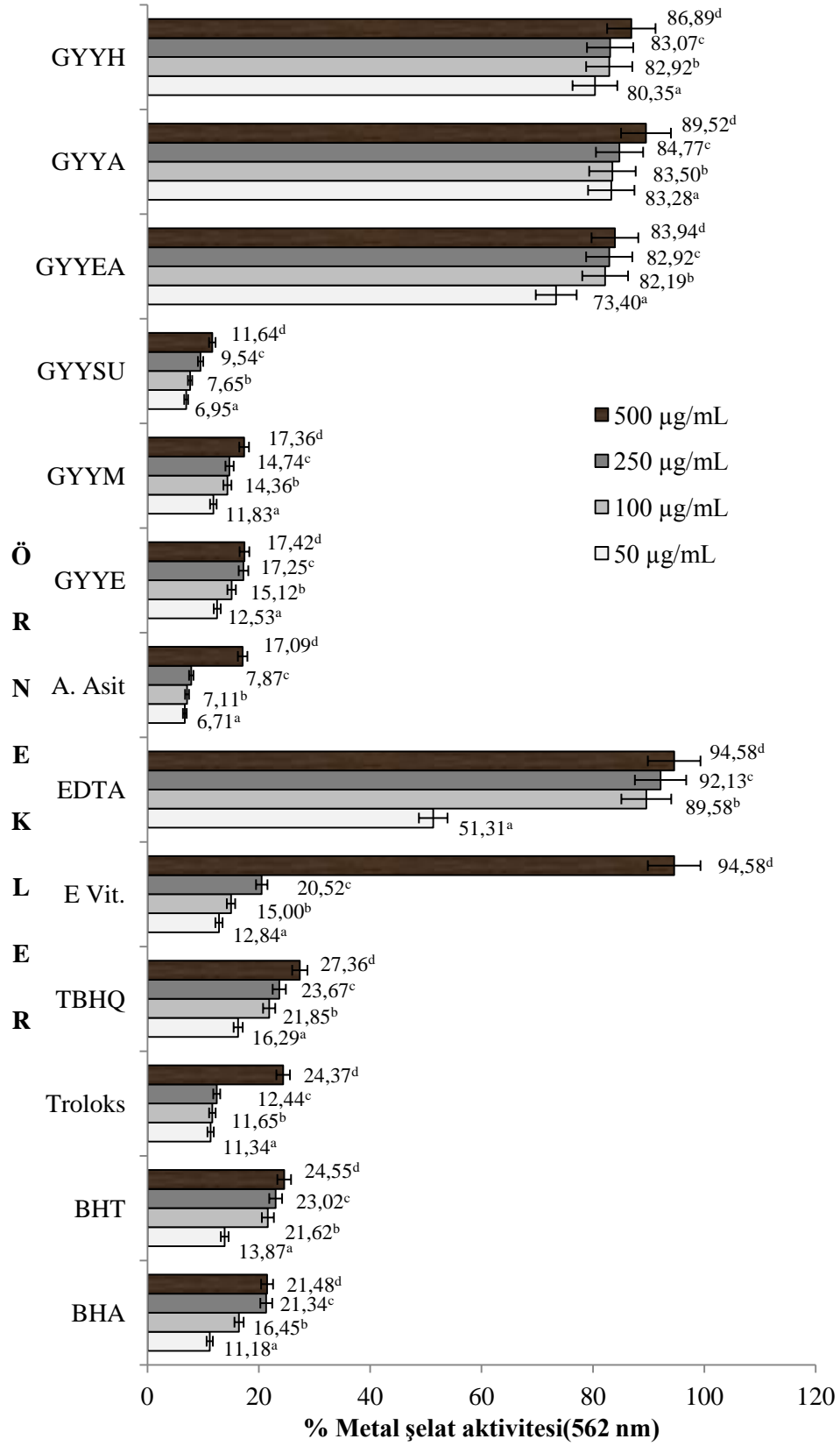
Şekil 4.32. Güz yemişi yaprak örneklerinin serbest radikal giderme aktivitelerinin karşılaştırılması

#### 4.4.7 Metal şelat aktivitesinin belirlenmesi

Güz yemişı meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin % metal şelat aktiviteleri 3.4.4.7 konu başlığında verilen yöntemle göre tayin edildi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış güz yemişı meyve ve yaprak ekstrakt ve standart antioksidant maddelerin,  $Fe^{+2}$  ile kompleksleşme özelliği UV-Vis spektrofotometresi ile 562 nm de  $Fe^{+2}$ -ferrozin kompleksinin absorbansı ölçülerek değerlendirildi.  $Fe^{+2}$ -ferrozin kompleks oluşumun % metal şelat aktivitesi hesaplanarak, güz yemişı meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin metal şelat aktivitelerinin karşılaştırılması Şekil 4.33 ve 4.34' da gösterildi.



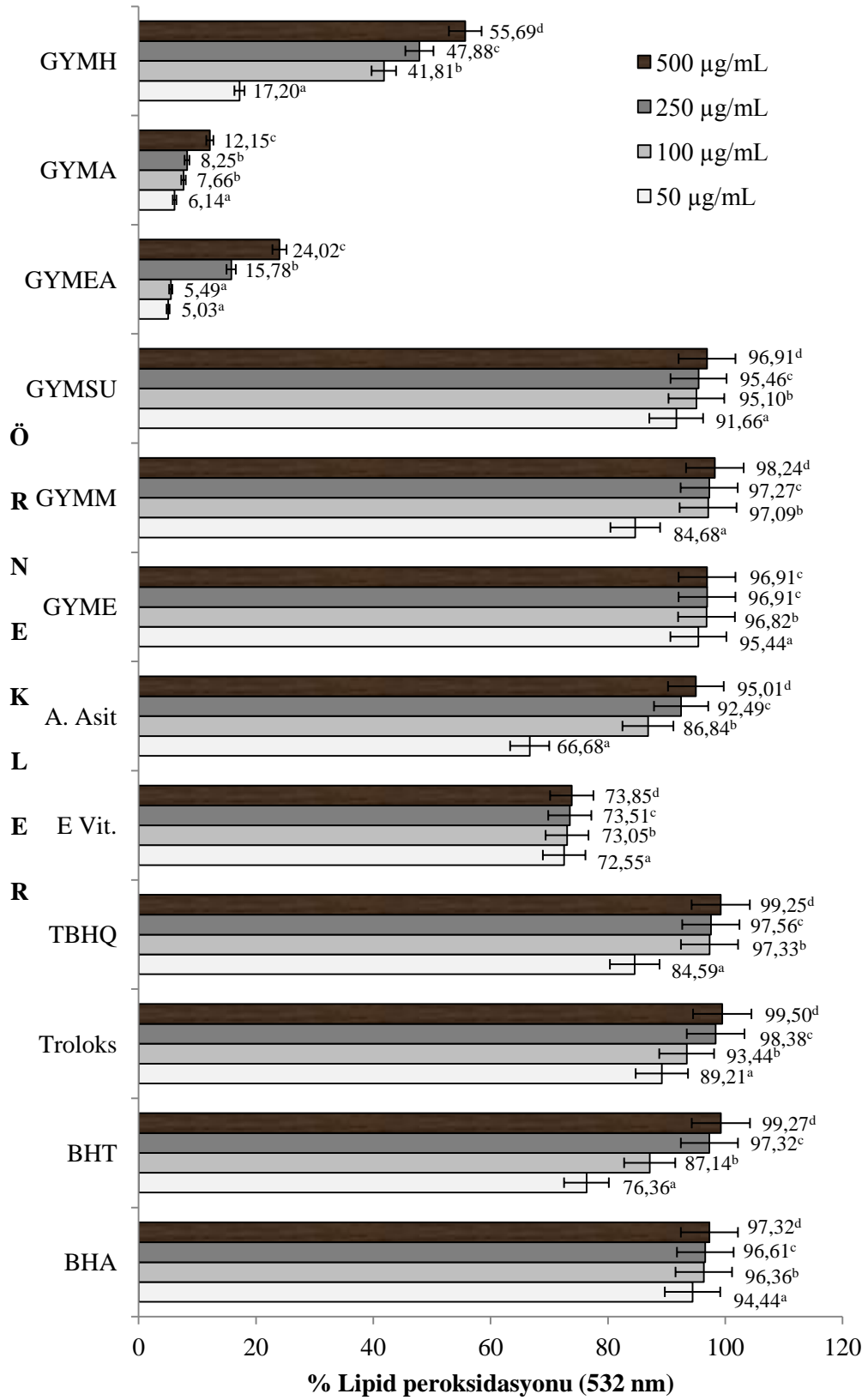
Şekil 4.33. Güz yemişi meyve örneklerinin metal şelat aktivitelerinin karşılaştırılması



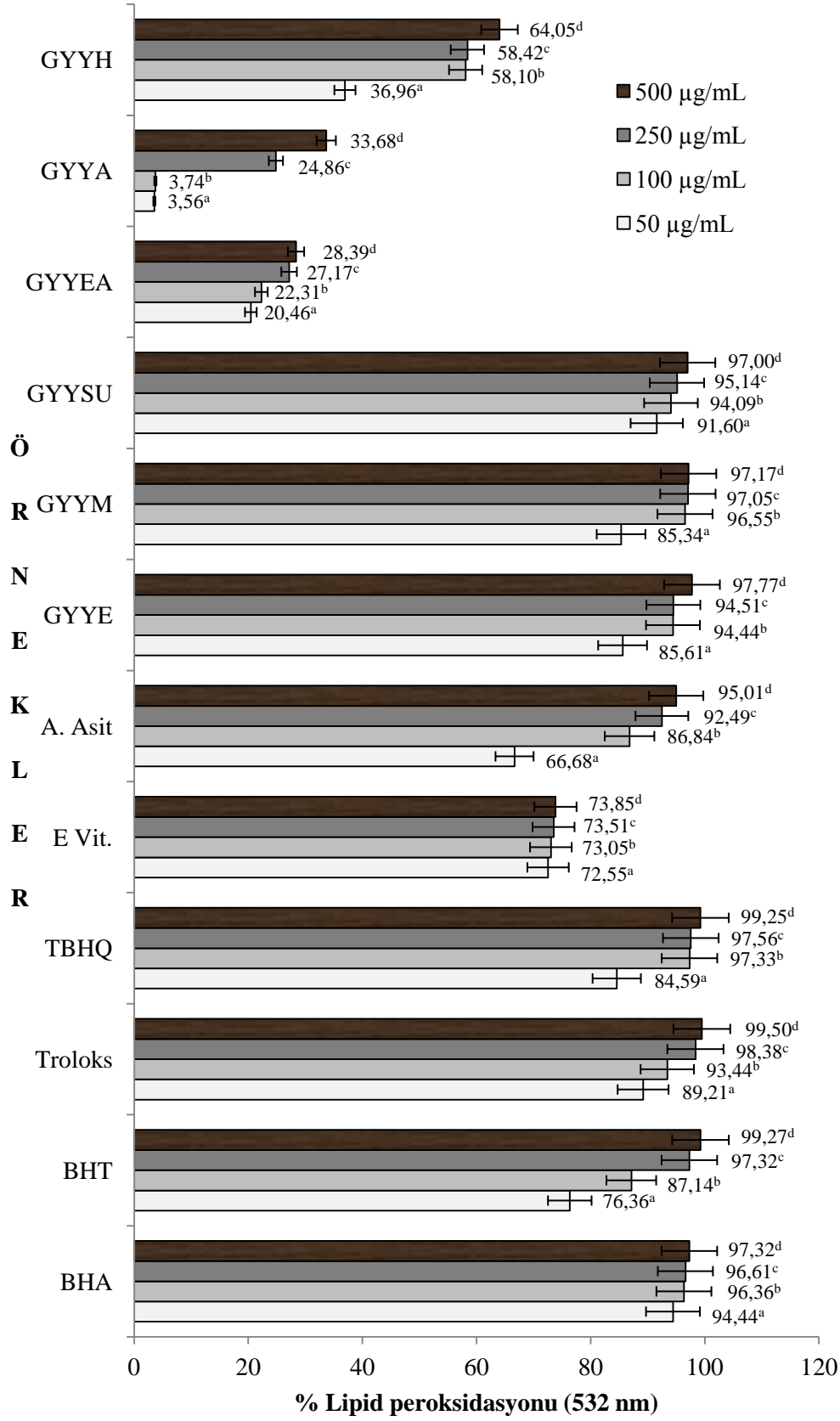
**Şekil 4.34.** Güz yemişi yaprak örneklerinin metal şelat aktivitelerinin karşılaştırılması

#### **4.4.8 Lipid peroksidasyonu inhibisyonunun belirlenmesi**

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin % lipid peroksidasyon inhibisyonları 3.4.4.8 konu başlığında verilen yöntemle göre tayin edildi. Farklı konsantrasyonlardaki güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerden hazırlanan çözeltilerinin UV-Vis spektrofotometresi ile 532 nm deki absorpsiyonları okundu. Lipid peroksidasyon inhibisyon yüzdesi hesaplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin % lipid peroksidasyon inhibisyonlarının karşılaştırılması Şekil 4.35 ve 4.36' de gösterildi.



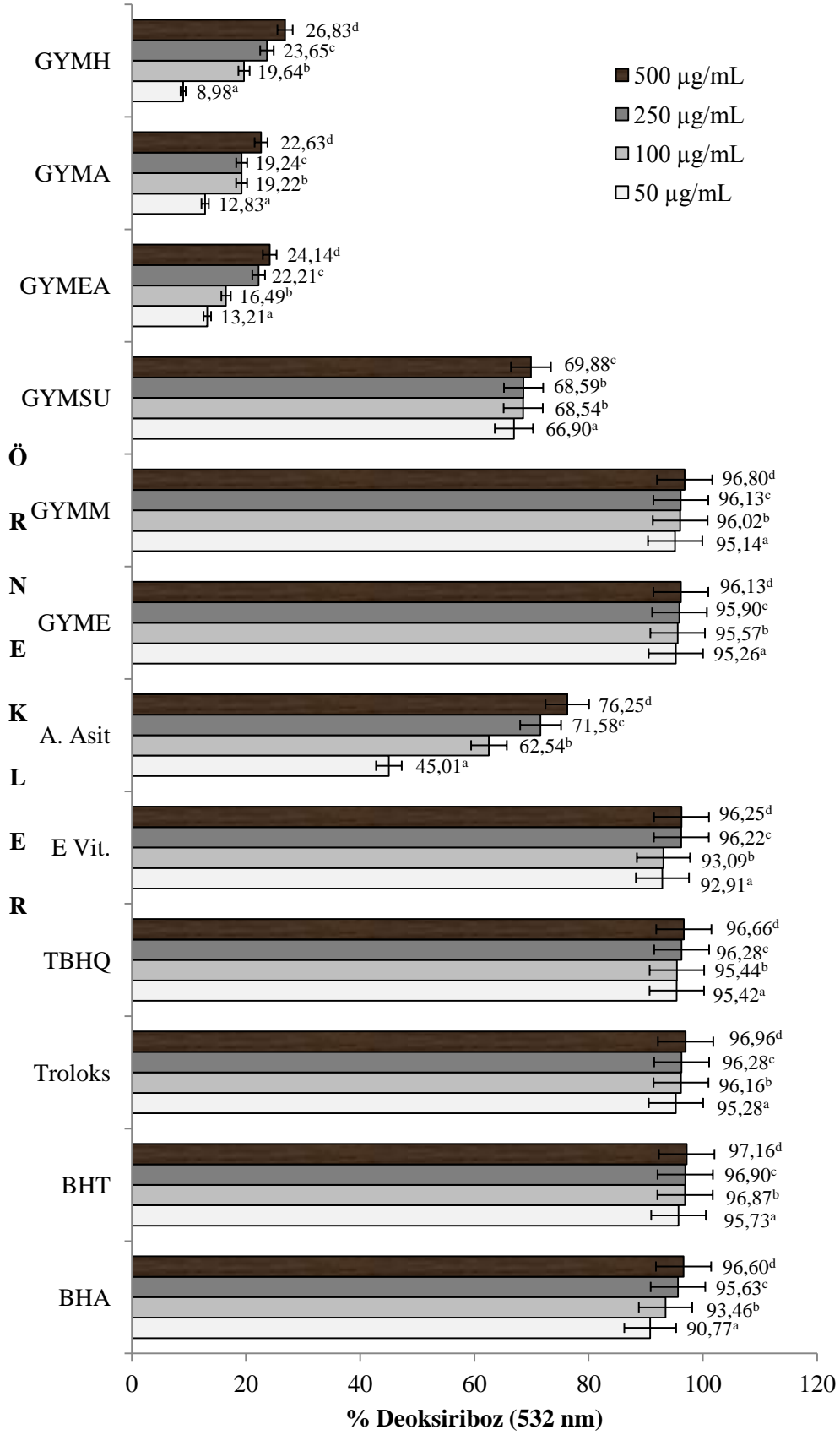
Şekil 4.35. Güz yemişi meyve örneklerinin lipid peroksidasyonu inhibisyonlarının karşılaştırılması



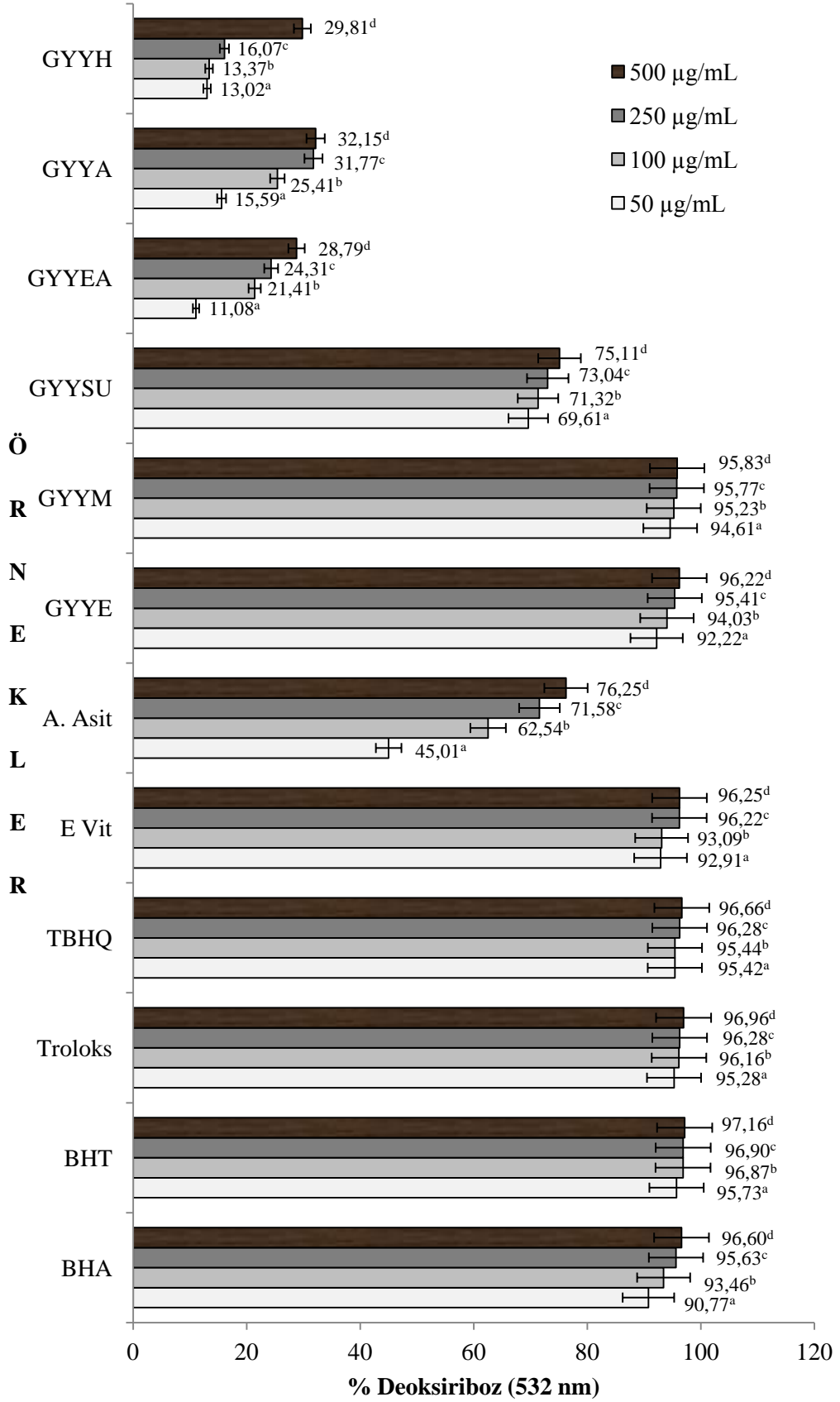
Şekil 4.36. Güz yemişi yaprak örneklerinin lipid peroksidasyonu inhibisyonlarının karşılaştırılması

#### **4.4.9 Deoksiriboz aktivitesinin belirlenmesi**

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin % deoksiriboz aktiviteleri 3.4.4.9 konu başlığında verilen yönteme göre tayin edildi. Kolorometrik deoksiriboz yöntemi, OH<sup>-</sup> giderme aktivitesine benzer bir yöntem olarak uygulandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin % deoksiriboz aktiviteleri hesaplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin % deoksiriboz aktivitelerinin karşılaştırması Şekil 4.37 ve 4.38’ da gösterildi.



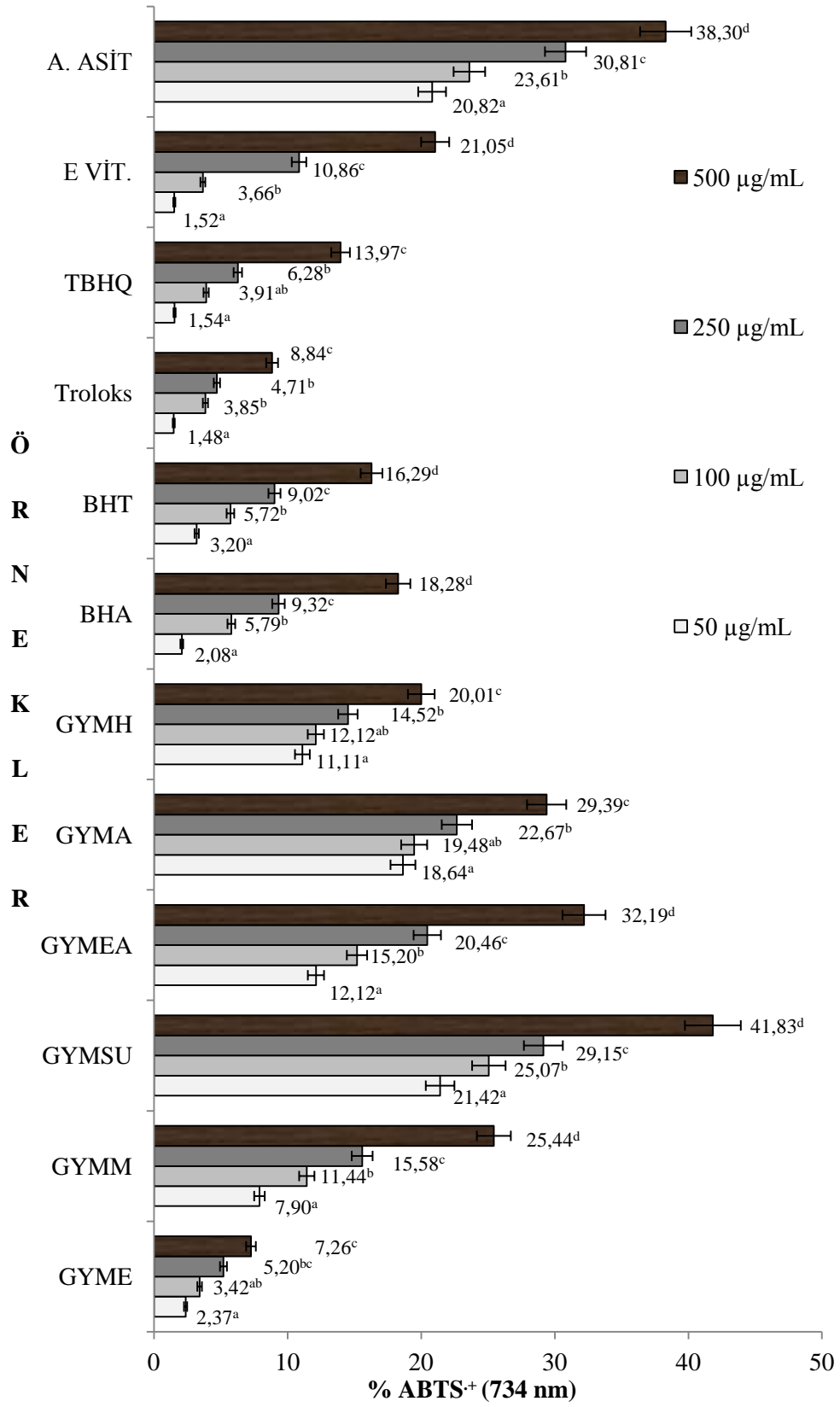
Şekil 4.37. Güz yemişi meyve örneklerinin deoksiriboz aktivitelerinin karşılaştırılması



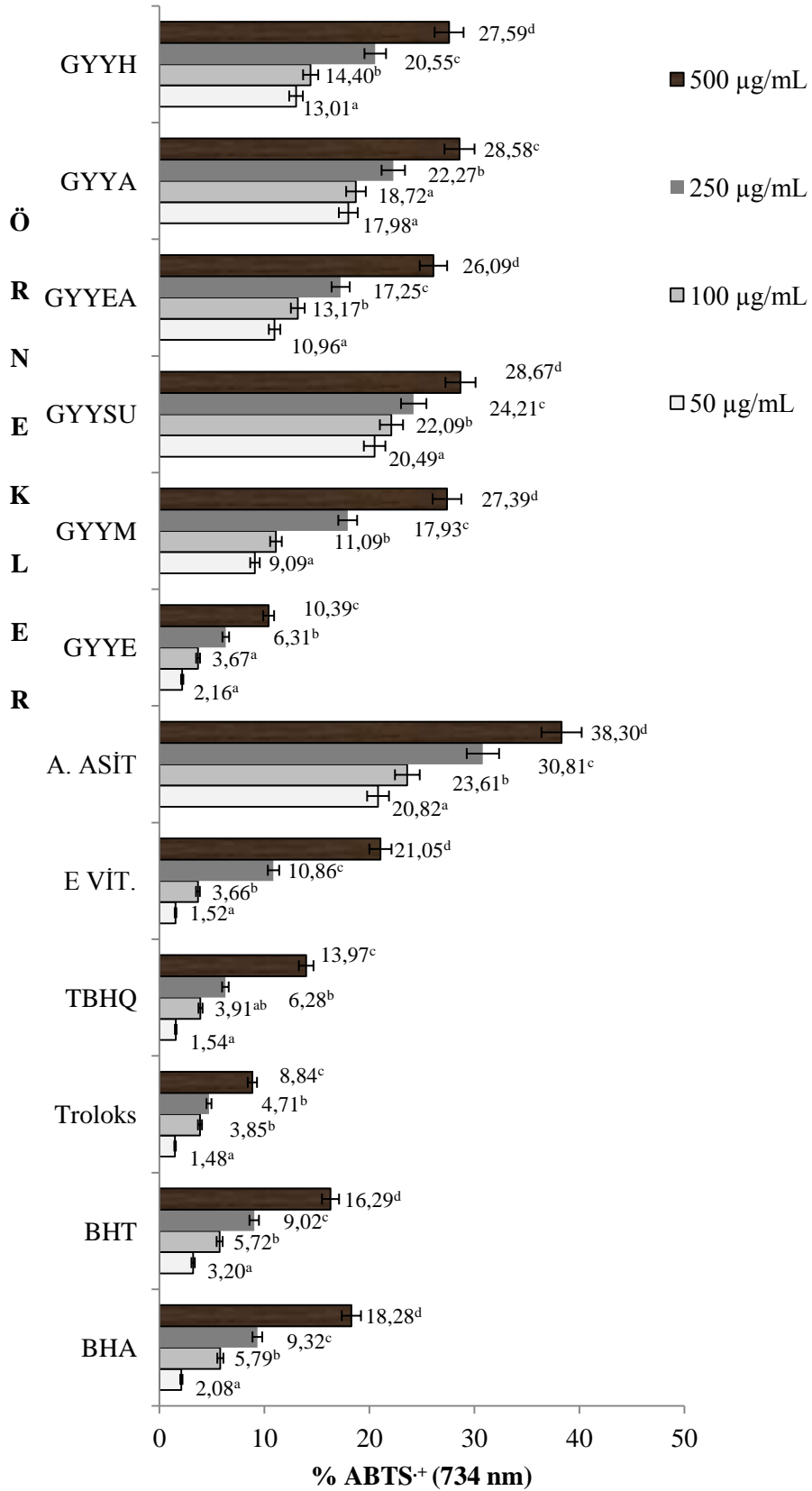
Şekil 4.38. Güz yemişi yaprak örneklerinin deoksiriboz aktivitelerinin karşılaştırılması

#### **4.4.10 ABTS<sup>·+</sup> radikali giderme aktivitesinin belirlenmesi**

Güz yemişı meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin ABTS<sup>·+</sup> radikali giderme aktiviteleri 3.4.4.10 konu başlığında verilen yönteme göre tayin edildi. Troloks eşdeğeri antioksidant kapasite tayini, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnek ve standart  zeltilerinin 1. dakikadaki absorbands değerinden ( $A_1$ ) 6. dakikadaki absorbands değer ( $A_6$ ) değer çıkarılarak  $\Delta A$  değerleri elde edildi.  $\Delta A$  değerleri kullanılarak Denklem 3.18' de verilen formüle göre % inhibisyon değerleri hesaplanmıŐtır. G z yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin ABTS<sup>·+</sup> radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması Şekil 4.39 ve 4.40' de gösterildi.



Şekil 4.39. Güz yemişi meyve örneklerinin ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması

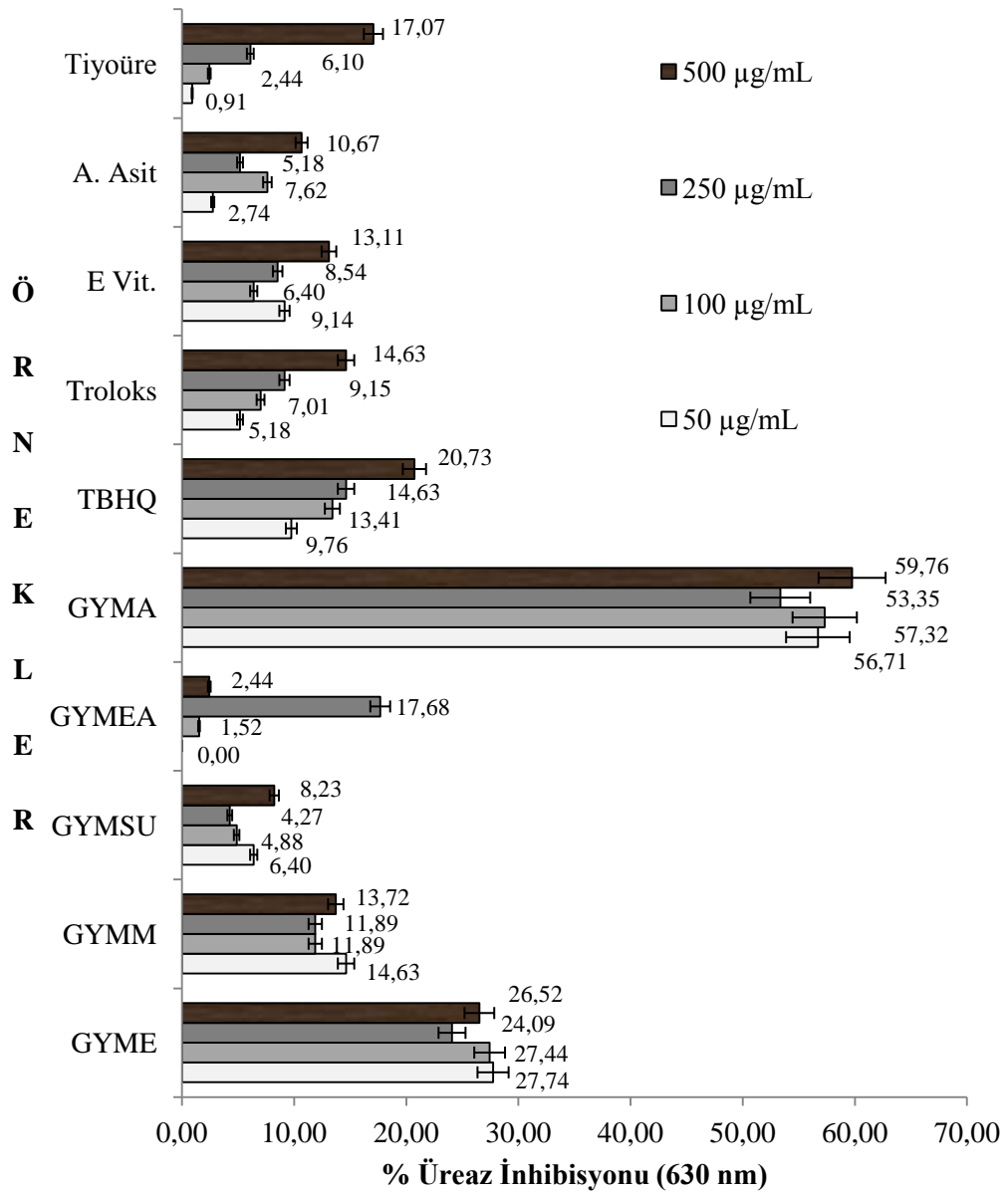


Şekil 4.40. Güz yemişi yaprak örneklerinin ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması

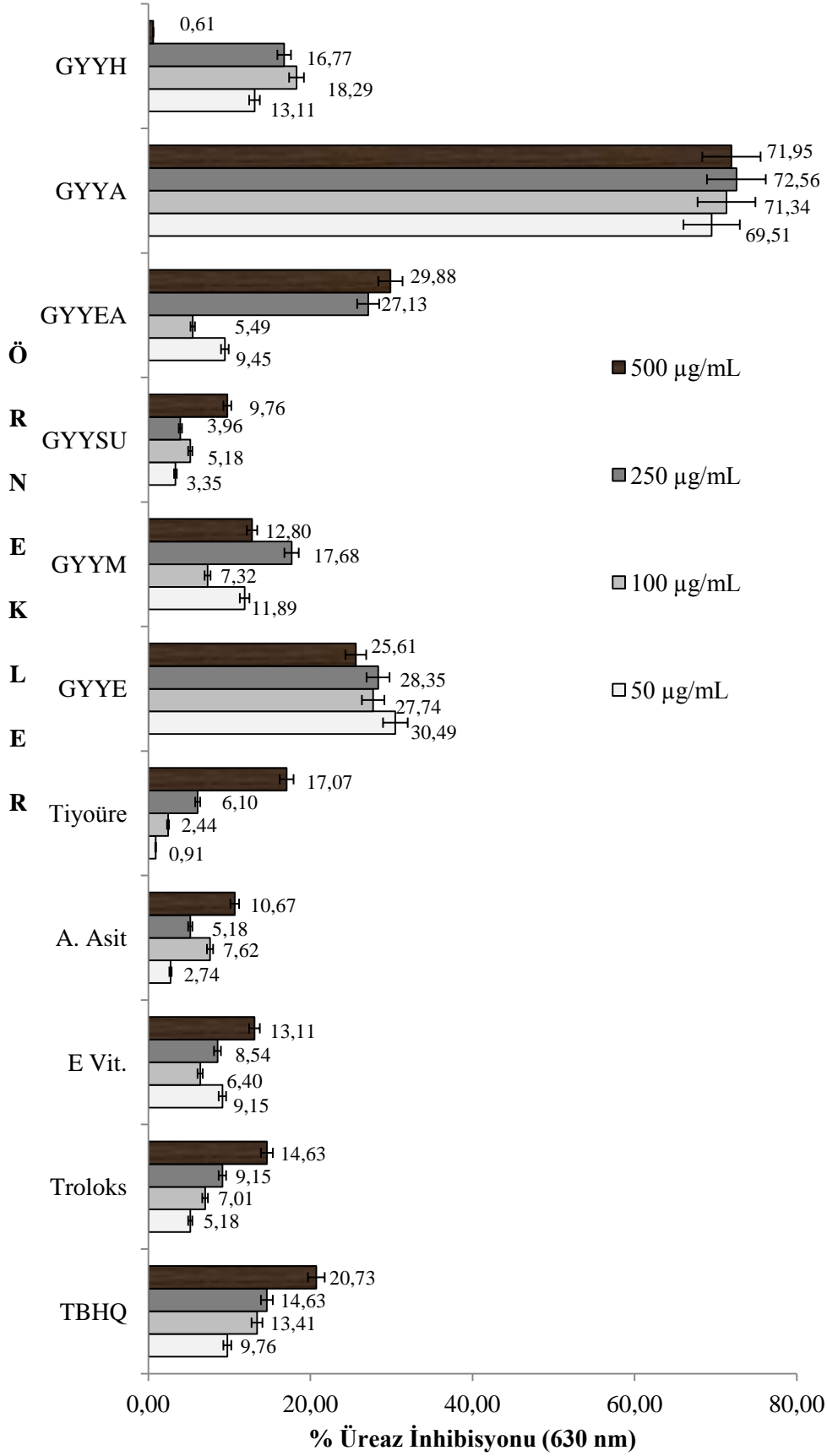
## 4.5 Enzim inhibisyonunun belirlenmesi

### 4.5.1 Üreaz inhibisyonunun belirlenmesi

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin üreaz inhibisyonu 3.4.5.1 konu başlığında verilen yöntemle göre tayin edildi. Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri ve standart maddelerin IC<sub>50</sub> ve üreaz inhibisyonu denklem 3.19' a göre hesaplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri ve standart maddelerin IC<sub>50</sub> değerleri Çizelge 4.3 ve üreaz inhibisyonunun karşılaştırılması Şekil 4.41 ve 4.42'de gösterildi.



Şekil 4.41. Güz yemişi meyve örneklerinin üreaz inhibisyonlarının karşılaştırılması



Şekil 4.42. Güz yemişi yaprak örneklerinin üreaz inhibisyonlarının karşılaştırılması

**Çizelge 4.3.** Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri ile standart antioksidant maddelerin IC<sub>50</sub> değerlerinin karşılaştırılması

| <b>ÖRNEKLER</b> | <b>IC<sub>50</sub> (µg/mL)</b> |
|-----------------|--------------------------------|
| <b>GYME</b>     | -                              |
| <b>GYMM</b>     | 90,50 ± 0,00                   |
| <b>GYMSU</b>    | -                              |
| <b>GYMEA</b>    | -                              |
| <b>GYMA</b>     | 180,20 ± 3,66                  |
| <b>GYMH</b>     | 100,60 ± 0,22                  |
| <b>GYYE</b>     | -                              |
| <b>GYYM</b>     | -                              |
| <b>GYYSU</b>    | 80,40 ± 2,37                   |
| <b>GYYEA</b>    | 100,10 ± 4,74                  |
| <b>GYYA</b>     | 120,00 ± 0,43                  |
| <b>GYYH</b>     | -                              |
| <b>BHA</b>      | 80,70 ± 0,22                   |
| <b>BHT</b>      | 100,20 ± 0,00                  |
| <b>Trolöks</b>  | 100,40 ± 0,86                  |
| <b>TBHQ</b>     | 80,00 ± 1,08                   |
| <b>E Vit.</b>   | -                              |
| <b>C Vit.</b>   | 120,40 ± 1,08                  |
| <b>Tiyöüre</b>  | 95,80 ± 0,65                   |

#### 4.6 Fenolik madde miktarı ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması

Çizelge 4.4. Fenolik madde miktarları ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması

| ÖRNEKLER | FENOLİK MADDE MİKTARINA KARŞI ANTIOKSİDANT AKTİVİTE TEST SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI |  |   |   |   |   |
|----------|---|--|---|---|---|---|
|          | Toplam antioksidant aktivitesi yöntemi  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> giderme aktivitesi yöntemi | OH <sup>-</sup> giderme aktivitesi yöntemi      | Süperoksit anyonu giderme aktivitesi yöntemi    | İndirgenme gücü aktivitesi yöntemi              | Serbest radikal giderme aktivitesi yöntemi      |
| GYME     | y = 0,0003x + 0,164<br>R <sup>2</sup> = 0,8793  | y = 0,0112x + 36,048<br>R <sup>2</sup> = 0,9311          | y = 0,0216x + 57,266<br>R <sup>2</sup> = 0,9385 | y = 0,013x + 82,542<br>R <sup>2</sup> = 0,9142  | y = 0,0009x + 0,1013<br>R <sup>2</sup> = 0,953  | y = 0,007x + 94,897<br>R <sup>2</sup> = 0,9758  |
| GYMM     | y = 5E-05x + 0,0684<br>R <sup>2</sup> = 0,8944  | y = 0,0203x + 42,406<br>R <sup>2</sup> = 0,906           | y = 0,0122x + 47,342<br>R <sup>2</sup> = 0,8342 | y = 0,0043x + 87,142<br>R <sup>2</sup> = 0,8408 | y = 0,0003x - 0,1189<br>R <sup>2</sup> = 0,9902 | y = 0,0007x + 98,624<br>R <sup>2</sup> = 0,902  |
| GYMSU    | y = 0,0003x + 0,1099<br>R <sup>2</sup> = 0,9531   | y = 0,0272x + 73,69<br>R <sup>2</sup> = 0,9094           | y = 0,0248x + 58,87<br>R <sup>2</sup> = 0,5879  | y = 0,0041x + 96,231<br>R <sup>2</sup> = 0,8562 | y = 0,0012x + 0,0858<br>R <sup>2</sup> = 0,9831 | y = 0,0007x + 99,35<br>R <sup>2</sup> = 0,946   |
| GYMEA    | y = 0,003x + 0,0439<br>R <sup>2</sup> = 0,9566  | y = 0,3174x + 4,9545<br>R <sup>2</sup> = 0,9945          | y = 0,1892x + 76,448<br>R <sup>2</sup> = 0,7105 | y = 0,2154x + 80,043<br>R <sup>2</sup> = 0,9278 | y = 0,0006x + 0,0729<br>R <sup>2</sup> = 0,8632 | y = 0,3504x + 12,441<br>R <sup>2</sup> = 0,9421 |
| GYMA     | y = 0,0007x + 0,0009<br>R <sup>2</sup> = 0,8297   | y = 0,2462x + 0,7263<br>R <sup>2</sup> = 0,9649          | y = 0,017x + 86,249<br>R <sup>2</sup> = 0,9128  | y = 0,0741x + 78,766<br>R <sup>2</sup> = 0,8741 | y = 0,0005x + 0,0565<br>R <sup>2</sup> = 0,9194 | y = 0,2551x + 7,9486<br>R <sup>2</sup> = 0,9784 |
| GYMH     | y = 0,0017x + 0,0282<br>R <sup>2</sup> = 0,8022   | y = 0,7165x + 34,561<br>R <sup>2</sup> = 0,8672          | y = 0,0778x + 90,989<br>R <sup>2</sup> = 0,7604 | y = 0,0723x + 92,468<br>R <sup>2</sup> = 0,8637 | y = 0,0019x + 0,0802<br>R <sup>2</sup> = 0,6175 | y = 0,2276x + 27,36<br>R <sup>2</sup> = 0,8562  |
| GYYE     | y = 0,0003x + 0,1555<br>R <sup>2</sup> = 0,9276   | y = 0,017x + 73,761<br>R <sup>2</sup> = 0,6292           | y = 0,0176x + 60,795<br>R <sup>2</sup> = 0,989  | y = 0,0119x + 84,028<br>R <sup>2</sup> = 0,991  | y = 0,0002x + 0,0681<br>R <sup>2</sup> = 0,9967 | y = 0,004x + 96,247<br>R <sup>2</sup> = 0,5316  |
| GYYM     | y = 5E-05x + 0,0738<br>R <sup>2</sup> = 0,8459  | y = 0,0055x + 63,933<br>R <sup>2</sup> = 0,9984          | y = 0,0114x + 64,929<br>R <sup>2</sup> = 0,7112 | y = 0,0175x + 67,887<br>R <sup>2</sup> = 0,8148 | y = 6E-05x + 0,0737<br>R <sup>2</sup> = 0,8836  | y = 0,0018x + 97,127<br>R <sup>2</sup> = 0,8397 |
| GYYSU    | y = 0,0001x + 0,1096<br>R <sup>2</sup> = 0,8701   | y = 0,0066x + 74,844<br>R <sup>2</sup> = 0,8985          | y = 0,0063x + 64,612<br>R <sup>2</sup> = 0,8186 | y = 0,0051x + 90,953<br>R <sup>2</sup> = 0,8254 | y = 5E-05x + 0,0995<br>R <sup>2</sup> = 0,8531  | y = 0,0011x + 97,841<br>R <sup>2</sup> = 0,9458 |
| GYVEA    | y = 0,0007x + 0,1122<br>R <sup>2</sup> = 0,3551   | y = 0,1204x + 26,055<br>R <sup>2</sup> = 0,8786          | y = 0,0219x + 87,445<br>R <sup>2</sup> = 0,7214 | y = 0,0439x + 88,351<br>R <sup>2</sup> = 0,8543 | y = 0,0008x + 0,0737<br>R <sup>2</sup> = 0,9802 | y = 0,2919x + 20,779<br>R <sup>2</sup> = 0,9947 |
| GYVA     | y = 7E-05x + 0,136<br>R <sup>2</sup> = 0,7811   | y = 0,038x + 24,667<br>R <sup>2</sup> = 0,7922           | y = 0,0013x + 86,333<br>R <sup>2</sup> = 0,8617 | y = 0,0529x + 57,253<br>R <sup>2</sup> = 0,6766 | y = 0,0003x + 0,0764<br>R <sup>2</sup> = 0,9947 | y = 0,0983x + 27,385<br>R <sup>2</sup> = 0,9239 |
| GYVH     | y = 0,0024x + 0,0552<br>R <sup>2</sup> = 0,9237   | y = 0,5655x + 32,491<br>R <sup>2</sup> = 0,9713          | y = 0,0849x + 89,717<br>R <sup>2</sup> = 0,7863 | y = 0,1014x + 91,159<br>R <sup>2</sup> = 0,9823 | y = 0,0006x + 0,1002<br>R <sup>2</sup> = 0,8846 | y = 1,5228x + 24,733<br>R <sup>2</sup> = 0,9032 |

**Çizelge 4.4 (devamı).** Fenolik madde miktarları ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması

| ÖRNEKLER     | FENOLİK MADDE MİKTARINA KARŞI ANTIÖKSİDANT AKTİVİTE TEST SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI |  |  |   |   |
|--------------|---|--|--|---|---|
|              | Metal şelat aktivitesi yöntemi  | Lipid peroksidasyonu inhibisyonu         | Deoksiriboz yöntemi                      | ABTS <sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi yöntemi | Üreaz inhibisyonu                         |
| <b>GYME</b>  | $y = 0,0124x + 11,149$<br>$R^2 = 0,9296$  | $y = 0,0023x + 95,858$<br>$R^2 = 0,6353$ | $y = 0,0015x + 95,28$<br>$R^2 = 0,9898$  | $y = 0,0085x + 2,1119$<br>$R^2 = 0,9849$              | $y = -0,0034x + 27,447$<br>$R^2 = 0,2744$ |
| <b>GYMM</b>  | $y = 0,0145x - 0,8728$<br>$R^2 = 0,9316$  | $y = 0,0085x + 84,504$<br>$R^2 = 0,4207$ | $y = 0,0013x + 94,579$<br>$R^2 = 0,8165$ | $y = 0,0154x - 2,6336$<br>$R^2 = 0,9921$              | $y = 4E-05x + 12,989$<br>$R^2 = 0,0002$   |
| <b>GYMSU</b> | $y = 0,0122x + 8,5491$<br>$R^2 = 0,9447$  | $y = 0,0084x + 92,393$<br>$R^2 = 0,8095$ | $y = 0,0048x + 67,105$<br>$R^2 = 0,8908$ | $y = 0,0367x + 18,911$<br>$R^2 = 0,9716$              | $y = 0,0037x + 4,9024$<br>$R^2 = 0,2441$  |
| <b>GYMEA</b> | $y = 0,1049x + 79,36$<br>$R^2 = 0,843$  | $y = 0,7643x - 33,969$<br>$R^2 = 0,9474$ | $y = 0,4275x - 7,0227$<br>$R^2 = 0,9626$ | $y = 0,7404x - 25,103$<br>$R^2 = 0,9442$              | $y = 0,248x - 9,6906$<br>$R^2 = 0,1216$   |
| <b>GYMA</b>  | $y = 0,0466x + 78,785$<br>$R^2 = 0,8575$  | $y = 0,0682x + 0,2465$<br>$R^2 = 0,8825$ | $y = 0,0954x + 6,8586$<br>$R^2 = 0,6773$ | $y = 0,135x + 6,1005$<br>$R^2 = 0,9515$               | $y = 0,0208x + 54,251$<br>$R^2 = 0,0773$  |
| <b>GYMH</b>  | $y = 0,1633x + 81,792$<br>$R^2 = 0,9087$  | $y = 1,1366x + 25,219$<br>$R^2 = 0,7515$ | $y = 0,5417x + 12,423$<br>$R^2 = 0,7815$ | $y = 0,3088x + 10,246$<br>$R^2 = 0,9686$              | -   |
| <b>GYYE</b>  | $y = 0,0059x + 13,394$<br>$R^2 = 0,5609$  | $y = 0,0136x + 88,096$<br>$R^2 = 0,5629$ | $y = 0,0051x + 92,587$<br>$R^2 = 0,7129$ | $y = 0,0123x + 1,1344$<br>$R^2 = 0,9582$              | $y = -0,0061x + 30,297$<br>$R^2 = 0,7725$ |
| <b>GYYM</b>  | $y = 0,0042x + 11,524$<br>$R^2 = 0,9995$  | $y = 0,0089x + 87,665$<br>$R^2 = 0,6652$ | $y = 0,0009x + 94,681$<br>$R^2 = 0,7987$ | $y = 0,0144x + 6,0117$<br>$R^2 = 0,8691$              | $y = 0,0012x + 11,555$<br>$R^2 = 0,0231$  |
| <b>GYYSU</b> | $y = 0,0039x + 6,719$<br>$R^2 = 0,9853$   | $y = 0,0038x + 92,29$<br>$R^2 = 0,8114$  | $y = 0,0043x + 69,862$<br>$R^2 = 0,9185$ | $y = 0,0066x + 20,145$<br>$R^2 = 0,9692$              | $y = 0,0046x + 2,9737$<br>$R^2 = 0,7039$  |
| <b>GYYEA</b> | $y = 0,0705x + 74,953$<br>$R^2 = 0,451$   | $y = 0,0768x + 18,422$<br>$R^2 = 0,8753$ | $y = 0,1368x + 10,424$<br>$R^2 = 0,7094$ | $y = 0,1428x + 5,4129$<br>$R^2 = 0,98$                | $y = 0,2434x - 1,538$<br>$R^2 = 0,8389$   |
| <b>GYYA</b>  | $y = 0,0123x + 80,983$<br>$R^2 = 0,988$   | $y = 0,0602x - 4,4409$<br>$R^2 = 0,8583$ | $y = 0,0242x + 17,832$<br>$R^2 = 0,5362$ | $y = 0,0206x + 14,729$<br>$R^2 = 0,9964$              | $y = 0,0032x + 70,229$<br>$R^2 = 0,3248$  |
| <b>GYYH</b>  | $y = 0,244x + 79,451$<br>$R^2 = 0,8819$   | $y = 1,1062x + 36,898$<br>$R^2 = 0,9236$ | $y = 0,5965x + 8,6431$<br>$R^2 = 0,6055$ | $y = 0,5754x + 9,7911$<br>$R^2 = 0,8013$              | $y = -0,3867x + 18,307$<br>$R^2 = 0,2495$ |

#### 4.7 Flavonoid miktarı ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması

Çizelge 4.5. Flavonoid içerikleri ile antioksidant aktivite test sonuçlarının karşılaştırılması

| ÖRNEKLER     | FLAVONOİD MİKTARINA KARŞI ANTIOKSİDANT AKTİVİTE TEST SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI |  |   |   |   |   |
|--------------|---|--|---|---|---|---|
|              | Toplam antioksidant aktivitesi yöntemi  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> giderme aktivitesi yöntemi | OH <sup>-</sup> giderme aktivitesi yöntemi      | Süperoksit anyonu giderme aktivitesi yöntemi    | İndirgenme gücü aktivitesi yöntemi              | Serbest radikal giderme aktivitesi yöntemi      |
| <b>GYME</b>  | y = 0,0003x + 0,1776<br>R <sup>2</sup> = 0,9392                                     | y = 0,0113x + 36,743<br>R <sup>2</sup> = 0,8436          | y = 0,0214x + 58,7<br>R <sup>2</sup> = 0,8181   | y = 0,0143x + 83,09<br>R <sup>2</sup> = 0,9809  | y = 0,001x + 0,142<br>R <sup>2</sup> = 0,9945   | y = 0,0074x + 95,248<br>R <sup>2</sup> = 0,9798 |
| <b>GYMM</b>  | y = 0,0002x + 0,0251<br>R <sup>2</sup> = 0,9722                                     | y = 0,0787x + 23,535<br>R <sup>2</sup> = 0,9901          | y = 0,0476x + 35,809<br>R <sup>2</sup> = 0,9268 | y = 0,0169x + 83,06<br>R <sup>2</sup> = 0,9311  | y = 0,0011x - 0,3519<br>R <sup>2</sup> = 0,9078 | y = 0,0022x + 98,177<br>R <sup>2</sup> = 0,7616 |
| <b>GYMSU</b> | y = 0,0003x + 0,1138<br>R <sup>2</sup> = 0,9369                                     | y = 0,0281x + 74,106<br>R <sup>2</sup> = 0,8891          | y = 0,0256x + 59,271<br>R <sup>2</sup> = 0,5712 | y = 0,0043x + 96,297<br>R <sup>2</sup> = 0,8341 | y = 0,0013x + 0,1007<br>R <sup>2</sup> = 0,9819 | y = 0,0007x + 99,357<br>R <sup>2</sup> = 0,9594 |
| <b>GYMEA</b> | y = 0,0013x + 0,1677<br>R <sup>2</sup> = 0,9739                                     | y = 0,134x + 17,96<br>R <sup>2</sup> = 0,9888            | y = 0,088x + 83,82<br>R <sup>2</sup> = 0,8567   | y = 0,092x + 88,822<br>R <sup>2</sup> = 0,9438  | y = 0,0003x + 0,0958<br>R <sup>2</sup> = 0,9246 | y = 0,1397x + 27,191<br>R <sup>2</sup> = 0,8348 |
| <b>GYMA</b>  | y = 0,0006x + 0,0192<br>R <sup>2</sup> = 0,7439                                     | y = 0,2216x + 6,4004<br>R <sup>2</sup> = 0,92            | y = 0,0163x + 86,534<br>R <sup>2</sup> = 0,9844 | y = 0,0704x + 80,063<br>R <sup>2</sup> = 0,9295 | y = 0,0004x + 0,0681<br>R <sup>2</sup> = 0,8328 | y = 0,2358x + 13,154<br>R <sup>2</sup> = 0,9836 |
| <b>GZYMH</b> | y = 0,0027x + 0,0261<br>R <sup>2</sup> = 0,8359                                     | y = 1,0957x + 33,78<br>R <sup>2</sup> = 0,8891           | y = 0,121x + 90,884<br>R <sup>2</sup> = 0,8074  | y = 0,1088x + 92,407<br>R <sup>2</sup> = 0,8567 | y = 0,003x + 0,0772<br>R <sup>2</sup> = 0,6809  | y = 0,3496x + 27,097<br>R <sup>2</sup> = 0,8853 |
| <b>GYYE</b>  | y = 0,0003x + 0,2116<br>R <sup>2</sup> = 0,9192                                     | y = 0,0147x + 76,732<br>R <sup>2</sup> = 0,5614          | y = 0,0161x + 63,698<br>R <sup>2</sup> = 0,9797 | y = 0,0109x + 85,976<br>R <sup>2</sup> = 0,9888 | y = 0,0001x + 0,0986<br>R <sup>2</sup> = 0,9905 | y = 0,0035x + 96,953<br>R <sup>2</sup> = 0,471  |
| <b>GYYM</b>  | y = 6E-05x + 0,0779<br>R <sup>2</sup> = 0,9892                                      | y = 0,0052x + 64,824<br>R <sup>2</sup> = 0,8852          | y = 0,0131x + 65,514<br>R <sup>2</sup> = 0,9107 | y = 0,017x + 70,593<br>R <sup>2</sup> = 0,7453  | y = 6E-05x + 0,0792<br>R <sup>2</sup> = 0,9979  | y = 0,0018x + 97,412<br>R <sup>2</sup> = 0,7608 |
| <b>GYYSU</b> | y = 0,0001x + 0,1204<br>R <sup>2</sup> = 0,7894                                     | y = 0,0072x + 75,46<br>R <sup>2</sup> = 0,8025           | y = 0,0064x + 65,398<br>R <sup>2</sup> = 0,6352 | y = 0,0054x + 91,494<br>R <sup>2</sup> = 0,6944 | y = 5E-05x + 0,1052<br>R <sup>2</sup> = 0,7026  | y = 0,0012x + 97,948<br>R <sup>2</sup> = 0,8195 |
| <b>GYEYA</b> | y = 0,0008x + 0,1083<br>R <sup>2</sup> = 0,5088                                     | y = 0,1281x + 26,692<br>R <sup>2</sup> = 0,9505          | y = 0,0243x + 87,493<br>R <sup>2</sup> = 0,8458 | y = 0,0472x + 88,545<br>R <sup>2</sup> = 0,9459 | y = 0,0008x + 0,0799<br>R <sup>2</sup> = 0,983  | y = 0,2969x + 23,285<br>R <sup>2</sup> = 0,9835 |
| <b>GYYA</b>  | y = 8E-05x + 0,1398<br>R <sup>2</sup> = 0,9484                                      | y = 0,0437x + 27,066<br>R <sup>2</sup> = 0,9269          | y = 0,0015x + 86,424<br>R <sup>2</sup> = 0,9692 | y = 0,0631x + 60,052<br>R <sup>2</sup> = 0,8497 | y = 0,0003x + 0,1002<br>R <sup>2</sup> = 0,9387 | y = 0,1072x + 35,053<br>R <sup>2</sup> = 0,9709 |
| <b>GYYH</b>  | y = 0,0025x + 0,0603<br>R <sup>2</sup> = 0,9204                                     | y = 0,6015x + 33,657<br>R <sup>2</sup> = 0,9846          | y = 0,095x + 89,832<br>R <sup>2</sup> = 0,8823  | y = 0,1019x + 91,445<br>R <sup>2</sup> = 0,8887 | y = 0,0006x + 0,1013<br>R <sup>2</sup> = 0,9107 | y = 1,6613x + 27,336<br>R <sup>2</sup> = 0,9632 |

**Çizelge 4.5 (devamı).** Flavonoid içerikleri ile antioksidant aktivite test sonuçlarının yöntemlerinin karşılaştırılması

| ÖRNEKLER     | FLAVONOİD MİKTARINA KARŞI ANTIÖKSİDANT AKTİVİTE TEST SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI |  |  |  |   |
|--------------|---|--|--|--|---|
|              | Metal şelat aktivitesi yöntemi  | Lipid peroksidasyonu inhibisyonu         | Deoksiriboz yöntemi                      | ABTS <sup>•+</sup> radikali giderme aktivitesi yöntemi | Üreaz inhibisyonu                         |
| <b>GYME</b>  | $y = 0,013x + 11,82$<br>$R^2 = 0,9036$  | $y = 0,002x + 96,061$<br>$R^2 = 0,4497$  | $y = 0,0016x + 95,366$<br>$R^2 = 0,9378$ | $y = 0,009x + 2,5302$<br>$R^2 = 0,9947$                | $y = -0,0035x + 27,241$<br>$R^2 = 0,2539$ |
| <b>GYMM</b>  | $y = 0,0497x - 10,779$<br>$R^2 = 0,7893$  | $y = 0,0365x + 74,771$<br>$R^2 = 0,5568$ | $y = 0,0048x + 93,458$<br>$R^2 = 0,8598$ | $y = 0,0559x - 14,857$<br>$R^2 = 0,9451$               | $y = -0,0017x + 13,968$<br>$R^2 = 0,0281$ |
| <b>GYMSU</b> | $y = 0,0127x + 8,7037$<br>$R^2 = 0,9415$  | $y = 0,0087x + 92,511$<br>$R^2 = 0,7987$ | $y = 0,005x + 67,165$<br>$R^2 = 0,8904$  | $y = 0,0386x + 19,309$<br>$R^2 = 0,9816$               | $y = 0,004x + 4,892$<br>$R^2 = 0,2719$    |
| <b>GYMEA</b> | $y = 0,043x + 83,717$<br>$R^2 = 0,7907$   | $y = 0,3052x - 1,8214$<br>$R^2 = 0,8421$ | $y = 0,1807x + 10,484$<br>$R^2 = 0,9592$ | $y = 0,2991x + 5,8735$<br>$R^2 = 0,8593$               | $y = 0,1179x - 0,1519$<br>$R^2 = 0,1532$  |
| <b>GYMA</b>  | $y = 0,045x + 79,521$<br>$R^2 = 0,9418$   | $y = 0,0628x + 1,6555$<br>$R^2 = 0,8825$ | $y = 0,0991x + 7,6035$<br>$R^2 = 0,8605$ | $y = 0,1196x + 9,4254$<br>$R^2 = 0,8784$               | $y = 0,0175x + 54,866$<br>$R^2 = 0,0643$  |
| <b>GYMH</b>  | $y = 0,2413x + 81,695$<br>$R^2 = 0,8697$  | $y = 1,7623x + 23,75$<br>$R^2 = 0,792$   | $y = 0,8327x + 11,792$<br>$R^2 = 0,8094$ | $y = 0,4677x + 9,9542$<br>$R^2 = 0,9737$               | -   |
| <b>GYYE</b>  | $y = 0,0052x + 14,425$<br>$R^2 = 0,5076$  | $y = 0,0116x + 90,516$<br>$R^2 = 0,4853$ | $y = 0,0045x + 93,467$<br>$R^2 = 0,6594$ | $y = 0,0111x + 3,1651$<br>$R^2 = 0,9383$               | $y = -0,0053x + 29,237$<br>$R^2 = 0,7021$ |
| <b>GYYM</b>  | $y = 0,0041x + 12,193$<br>$R^2 = 0,904$   | $y = 0,0075x + 89,673$<br>$R^2 = 0,4624$ | $y = 0,001x + 94,808$<br>$R^2 = 0,7843$  | $y = 0,0157x + 7,2778$<br>$R^2 = 0,994$                | $y = 0,0032x + 10,573$<br>$R^2 = 0,1554$  |
| <b>GYYSU</b> | $y = 0,0044x + 7,0454$<br>$R^2 = 0,9194$  | $y = 0,0042x + 92,634$<br>$R^2 = 0,7358$ | $y = 0,0047x + 70,239$<br>$R^2 = 0,8375$ | $y = 0,0076x + 20,609$<br>$R^2 = 0,9515$               | $y = 0,0058x + 3,0608$<br>$R^2 = 0,8423$  |
| <b>GYVEA</b> | $y = 0,0835x + 74,728$<br>$R^2 = 0,6045$  | $y = 0,0815x + 18,847$<br>$R^2 = 0,9408$ | $y = 0,1518x + 10,704$<br>$R^2 = 0,8352$ | $y = 0,1447x + 6,6767$<br>$R^2 = 0,9618$               | $y = 0,247x + 0,5874$<br>$R^2 = 0,8261$   |
| <b>GYVA</b>  | $y = 0,0125x + 82,18$<br>$R^2 = 0,8966$   | $y = 0,0634x + 0,8084$<br>$R^2 = 0,8414$ | $y = 0,0304x + 18,728$<br>$R^2 = 0,7478$ | $y = 0,0214x + 16,611$<br>$R^2 = 0,9461$               | $y = 0,0044x + 70,259$<br>$R^2 = 0,5379$  |
| <b>GYVH</b>  | $y = 0,26x + 79,947$<br>$R^2 = 0,8976$  | $y = 1,0734x + 40,514$<br>$R^2 = 0,779$  | $y = 0,6983x + 9,0479$<br>$R^2 = 0,7436$ | $y = 0,6565x + 10,403$<br>$R^2 = 0,9346$               | $y = -0,5135x + 18,829$<br>$R^2 = 0,3942$ |



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 5.1 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Verimleri

Antioksidant aktivite analizlerinde birçok ekstrakt çözücüsü kullanılmaktadır. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ekstraktlarının verimleri % 1,82 - 49,83 arasında değişiklik gösterilmiştir (Şekil 4.1). Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının verimleri GYMSU (79,83) > GYMM (49,23) > GYME (46,59) > GYYA (27,94) > GYYE (21,67) > GYYSU (17,50) > GYYEA (11,44) > GYMA (11,06) > GYMEA (6,82) > GYYH (4,27) > GYMH (1,82) şeklindedir. Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarından en yüksek verime GYMSU, en düşük verime GYMH sahiptir.

### 5.2 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Örneklerinin UV-Vis Sonuçları

Fenolik bileşikler daha iyi karakterize edebilmek için fenolik bileşiklerin analizleri yanında, güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ekstraktlarının 200-750 nm arasında UV taraması yapıldı. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ekstraktlarının UV-Vis absorpsiyon (200-750 nm) spektrumları fenolik bileşikler, flavonoid ve antosiyaninlerin karakterizasyonu için değerlendirilmiştir. 200-240 nm arasında absorpsiyon yapan çift bağ açısından zengin organik bileşikler göstermektedir. 240-380 nm arasındaki absorpsiyonlar aromatik bileşiklerin varlığından kaynaklanmaktadır. 380 nm'den sonraki absorpsiyonlar kromofor gruplardan kaynaklanmaktadır (Çelik, 2010). Fenolik bileşikler, UV-Vis' de birinci bant 320-380 nm arasında ve ikinci bant 250-285 nm arasında olmak üzere iki önemli absorpsiyon bantı göstermektedir. 409 ve 513 nm arasındaki bantlar flavonoidlerin ve antosiyaninlerin varlığına bağlı olabilir. Çalışmamızda kullandığımız güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ekstraktlarının UV-Vis' deki spektrum taramasında 200 ile 750 nm arasında absorbansları gözlenmiş ve her bir güz yemişi örneğinin UV-Vis sonuçları Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13' de verilmiştir. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin bu dalga boylarındaki

absorbansları fenolik bileşiklerin, flavonoidlerin ve antosiyaninlerin varlığını gösteriyor olabilir.

### 5.3 İstatistiksel Analiz

Bileşen analizleri ve antioksidant aktivite sonuçları arasında anlamlı fark olup olmadığı SPSS (Statistical Packages for the Social Sciences) 20.00 paket programındaki Manova ve Duncan testi kullanılarak değerlendirildi. Duncan HSDa,b testine göre örnek konsantrasyonlarının ortalamaları a,b,c,d ile harflendirildi. “a” en düşük ortalamayı, “d” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda p değerleri 0,05’ den küçük olduğu için anlamlı bir farklılık vardır (  $p < 0,05$ ).

### 5.4 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Örneklerinin Bileşen Analizlerinin Sonuçları

#### 5.4.1 Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri

Fenolik bileşikler, beslenmemizin önemli bir kısmını oluşturan, terapötik açıdan en faydalı biyoaktif maddeler olan sebzeler, meyveler ve pek çok gıda maddesinde yaygın olarak bulunabilen, bir ya da daha fazla hidroksil grupları ile aromatik halkaya sahip aromatik hidroksilat bileşiklerdir. Fenolik antioksidantların (ArOH) rolü aşağıdaki formüle göre zincirleme reaksiyonu kesintiye uğratmaktadır:



Etkili ArO<sup>·</sup> olabilmek için nispeten istikrarlı bir serbest radikal olmalıdır, bu yüzden RH substratıyla yavaş ve RO<sub>2</sub><sup>·</sup> ile hızlı reaksiyona girer, bu nedenle de zincir kıran antioksidant olarak adlandırılır. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinde bulunan antioksidantlar esas olarak fenolik bileşenler (fenolik asitler ve flavonoidler) ardından da tokoferoller, askorbik asit ve karotenoidlerdir. Bu moleküller esas olarak Finlandiya, Hindistan, Kore, Polonya, Portekiz, Tayvan ve Türkiye’den gelen onlarca farklı türde belirlenmiştir.

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin farklı konsantrasyonlardaki fenolik bileşik içerikleri mg gallik asit/ g kuru madde olarak belirlenmiş ve Şekil 4.15’ de gösterilmiştir. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin konsantrasyonları arttıkça toplam fenolik bileşik içeriklerinin arttığı gözlenmektedir. En yüksek doz olan 1000

$\mu\text{g/ mL}$  konsantrasyonda güz yemişi meyve örneklerinin fenolik madde içerikleri 58,82 ile 2153,66 (GAE mg/g) aralığında iken güz yemişi yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri 33,07 ile 2484,67 (GAE mg/g) aralığında bulunmuştur. Güz yemişi meyve örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri GAE mg/g cinsinden GYMM (2153,66) > GYME (1043,76) > GYMSU (910,14) > GYMA (260,74) > GYMEA (154,65) > GYMH (58,82) iken güz yemişi yaprak örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri GAE mg/g cinsinden GYYSU (2484,67) > GYYM (2311,65) > GYYE (1558,77) > GYYA (1237,63) > GYYEA (269,55) > GYYH (33,07) şeklindedir.

Khanzadi Fatima Khattak' ın (2012) yaptığı çalışmaya göre güz yemişi meyvesinin fenolik miktarını 23,3 mg/g olarak bulmuştur.

Güz yemişinin toplam fenolik miktarı ile ilgili çalışmanın bir tane olması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin toplam fenolik içeriğinin vurgulanması açısından aynı familyaya sahip diğer türlerin ve üzümü meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Görkem Yalçın' ın (2012) yaptığı çalışmada iğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) bitkisinin yaprak ve çekirdek örneklerinin metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 5,13 (GAE mg/g) ve 2,25 (GAE mg/g)' dir. Tezde kullanılan aynı familyaya sahip güz yemişinin (zeytini) (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) yaprak ve meyve örneklerinin metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 2311,65 (GAE mg/g) ve 2153,66 (GAE mg/g) olarak bulunmuştur. Tezde kullanılan güz yemişi bitkisinin toplam fenolik madde içeriklerinin aynı familyaya sahip farklı tür olan iğdeden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Mahfuz Elmastaş ve Resul Gerçekçioğlu (2011) bazı üzümü meyve türlerinin antioksidan aktivitelerini araştırmış ve ahududu, gelebor, kuşburnu ve mürver meyvelerinin etanol ekstraktlarındaki toplam fenol miktarları sırasıyla 13500 (GAE mg/g), 22900 (GAE mg/g), 7300 (GAE mg/g) ve 14600 (GAE mg/g) şeklindedir. Güz yemişi meyvesinin etanol ekstraktındaki toplam fenol miktarından kuşburnu hariç diğer meyvelerin fenol miktarları yüksektir. Yaprak etanol ekstraktının toplam fenol miktarı ise gelebor meyvesi hariç diğer meyvelerden yüksektir.

Bilge Eçetin Filiz ve Atif Can Seydim (2014) bazı kurutulmuş meyvelerin antioksidan aktivitelerini araştırmış ve çilek ve kapuzun sulu çözeltisinin toplam fenol miktarlarını sırasıyla 5386 (GAE mg/g) ve 219 (GAE mg/g) olarak bulmuştur.

Güz yemişinin su ekstraktının toplam fenol miktarı çilekten daha düşük, karpuzdan daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

#### **5.4.2 Örneklerin toplam flavonoid içerikleri**

Flavonoidler, bitkilerde doğal olarak oluşan, meyveler, sebzeler, tahıllar, kökler, saplar ve çiçeklerde, çay ve şarap gibi türev ürünlerde bulunan, geniş bir antioksidant aktivitesi olan fenolik grubunu temsil eder. DNA hasarı ve tümör üretiminde etkisi olan çeşitli serbest radikaller ve singlet oksijen de dahil olmak üzere, okside edici çeşitli molekül tiplerine karşı flavonoidlerin son derece etkili olduğu belirtilmiştir (Ferreira ve diğ., 2009).

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin farklı konsantrasyonlardaki flavonoid içerikleri mg kateşin/ g kuru madde olarak belirlenmiş ve Şekil 4.17' de gösterilmiştir. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin konsantrasyonları arttıkça toplam flavonoid içeriklerinin arttığı gözlenmektedir. En yüksek doz olan 1000 µg/ mL konsantrasyonda güz yemişi meyve örneklerinin flavonoid içerikleri 35,4 ile 1526,9 (kateşin mg/g) aralığında iken güz yemişi yaprak örneklerinin flavonoid içerikleri 31,9 ile 2361,7 (kateşin mg/g) aralığında bulunmuştur. Güz yemişi meyve örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri kateşin mg/g cinsinden GYMM (1526,9) > GYME (1025,2) > GYMSU (828,8) > GYMA (243,2) > GYMEA (132,0) > GYMH (35,4) iken güz yemişi yaprak örneklerinin toplam flavonoid içerikleri kateşin mg/g cinsinden GYYSU (2361,7) > GYYM (1455,0) > GYYA (902,2) > GYYE (849,8) > GYYEA (228,7) > GYYH (31,9) şeklindedir.

Khanzadi Fatima Khattak' ın (2012) yaptığı çalışmaya göre güz yemişi meyvesinin flavonoid içeriği 3,6 mg/g olarak bulunmuştur.

Güz yemişinin toplam flavonoid miktarı ile ilgili çalışmanın bir tane olması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

#### **5.4.3 Örneklerin toplam antosiyanin içerikleri**

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin antosiyanin içerikleri µg syanidin-3-glukozid/ g kuru madde olarak belirlenmiş ve Çizelge 4.1' de gösterilmiştir. Güz yemişi meyvesini antosiyanin içeriği 48,06 (µg syanidin-3-glukozid/ g kuru madde) iken güz yemişi yaprağının antosiyanin içeriği 290,27 (µg syanidin-3-glukozid/ g kuru madde) şeklindedir.

Güz yemişinin toplam antosiyanin miktarı ile ilgili çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin toplam antosiyanin miktarının vurgulanması açısından aynı familyaya sahip diğer türlerin ve üzüm sü meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Mücahit Pehlivan ve Muharrem Gülyeryüz (2004) ahududu ve böğürtlenlerin insan sağlığı açısından önemini araştırmış ve siyah ahududu, böğürtlen, morion üzümü, boysen üzümü, kırmızı ahududu, çilek, elma, şeftali ve kırmızı üzümün toplam antosiyanin miktarları sırasıyla 214000-589000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde), 83000-326000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde), 109000-155000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde), 120000-160000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde), 20000-65000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde), 40000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde), 1000-10000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde), 5000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde) ve 1000000 ( $\mu\text{g}$  syanidin-3-glukozid/ g kuru madde) olarak bulmuştur. Güz yemişinin toplam antosiyanin miktarı bu meyvelerden daha düşüktür.

#### 5.4.4 Örneklerin $\beta$ -karoten ve likopen içerikleri

Beslenmemizdeki ve insan vücudundaki karotenoidlerin yaklaşık % 90'ı beta karoten, alfa karoten, likopen, lutein ve beta kriptomantin'dir. Karotenoidler, serbest radikallerle reaksiyona girebilirler ve kendileri radikal olabilirler. Özellikle oksijenin kısmi basıncının düşük olduğu koşullarda, bir lipid ortamında zincir kırıcı bir antioksidant görevi görebilirler. Lipidlerden oluşan peroksil radikalleri ( $\text{ROO}\cdot$ ) hücrelere çok hasar verir. Çift bağların geniş yapısı karotenoidleri, peroksil radikallerin saldırılarına açık hale getirir ki, inaktif ürünlerin oluşmasına yol açar (Ferreira ve diğ., 2009).



Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $\beta$ -karoten ve likopen içeriği mg/100 mL olarak belirlenerek Şekil 4.18 ve Şekil 4.19' de gösterilmiştir. Buna göre, güz yemişi meyve ve yaprak örneklerindeki  $\beta$ -karoten içeriği; GYYH (18425,96) > GYYEA (6338,07) > GYYE (5750,86) > GYYM (5397,54) > GYMH

(1923,68) > GYMEA (280,37) > GYMA (261,64) > GYYSU (82,18) > GYME (75,51) > GYMSU (43,91) > GYMM (13,16) şeklindedir.

Khanzadi Fatima Khattak' ın (2012) yaptığı çalışmaya göre güz yemişi meyvesinin karotenoid miktarı 19,9 mg/g olarak bulunmuştur.

Ingrid ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre yabani güz yemişinin  $\beta$ -karoten içeriği 0,38 (mg/100 g taze ağırlık) olarak bulunmuştur.

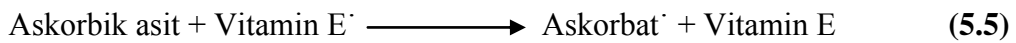
Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerindeki likopen içeriği; GYMH (36,39) > GYYH (22,09) > GYYEA (9,07) > GYMEA (8,48) > GYMA (8,34) > GYYE (5,7) > GYYM (4,66) > GYME (2,27) > GYMM (0,12) > GYMSU = GYYSU şeklindedir.

Ingrid ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre yabani güz yemişinin likopen içeriği 38,23 (mg/100 g taze ağırlık) olarak bulunmuştur.

Güz yemişinin likopen miktarı ile ilgili çalışmanın bir tane olması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

#### 5.4.5 Örneklerin askorbik asit içerikleri

Aynı zamanda C vitamini olarak bilinen askorbik asitin sentezi yapılamaz ve günlük besinler vasıtasıyla alınması gerekir. LDL kolestrolünün oksidasyonunu önler, lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek lipitleri oksidasyona karşı koruyabilir. Vitamin C süperoksit, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, peroksil radikali ve singlet oksijene karşı etkilidir. Vitamin C ve Vitamin E arasında işbirliğine dayalı etkileşimler mevcuttur. Vitamin E lipid peroksil radikallerini yıkarak kendisi radikal forma dönüşebilir. Radikalik E vitamini iyi bir indirgeyici ajan olan askorbik asit ile reaksiyona girerek antioksidant biçimine geri döner. Vitamin C radikali çok reaktif değildir, NADH redüktaz tarafından indirgenir (Ferreira ve diğ., 2009; Sarıkürkçü., 2009).



Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin askorbik asit içeriği mg askorbik ait/g kuru madde olarak belirlenerek Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Buna göre, güz yemişi meyve ve yaprak örneklerindeki askorbik asit içeriği sırasıyla 138,13 mg askorbik ait/g kuru madde ve 268,44 mg askorbik ait/g kuru madde şeklindedir.

Khanzadi Fatima Khattak' ın (2012) yaptığı çalışmaya göre güz yemişi meyvesinin askorbik asit miktarı 27,8 mg/100 g olarak bulunmuştur.

Güz yemişinin askorbik asit miktarı ile ilgili çalışmanın bir tane olması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin askorbik asit miktarının vurgulanması açısından aynı familyaya sahip diğer türlerin ve üzümü meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Mahfuz Elmastaş ve Resul Gerçekçioğlu (2011) bazı üzümü meyve türlerinin antioksidan aktivitelerini araştırmış ve ahududu, gelebor, kuşburnu ve mürver meyvelerinin etanol ekstraktlarındaki askorbik asit miktarları sırasıyla 344,3 (mg/100 g), 382,5 (mg/100 g), 722,5 (mg/100 g) ve 221,4 (mg/100 g) şeklindedir.

## **5.5 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Örneklerinin Antioksidant Aktivitelerinin Sonuçları**

### **5.5.1 Standart maddelerin ve örneklerin toplam antioksidant aktiviteleri**

Standart maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam antioksidant aktiviteleri Mo (VI) in Mo(V) e indirgenme ve yeşil renkte fosfat/Mo(V) bileşiğinin oluşumu esasına bağlı ile 695 nm' de spektroskopik olarak tayin edilmektedir. Standart antioksidant maddeler ile güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin absorbanlarına bakılarak karşılaştırılması yapılmış ve Şekil 4.21 ve 4.22' de gösterilmiştir. Buna göre, standart antioksidant maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin konsantrasyonları arttıkça toplam antioksidant aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir.

En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin toplam antioksidant aktiviteleri TBHQ (0,5985) > Troloks (0,5863) > BHT (0,5546) > E Vit. (0,5164) > BHA (0,5146) > GYYE (0,4108) > GYME (0,3780) > GYYEA (0,2649) > GYMSU (0,2609) > GYYSU (0,25577) > A.asit (0,1996) > GYMEA (0,1923) > GYYA (0,1788) > GYMM (0,1483) > GYYM (0,1478) > GYMA (0,1269) > GYYH (0,1249) > GYMH (0,0884) şeklindedir. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin toplam antioksidant aktiviteleri standart antioksidant maddelerle karşılaştırılmış ve C vit. hariç toplam antioksidant aktivitelerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.19 ve 4.20). Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri kendi aralarında

karşılaştırıldığında ise en yüksek toplam antioksidant aktivite GYYE, en düşük aktivite ise GYMH örneğinde gözlenmiştir.

Güz yemişinin toplam antioksidant aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin toplam antioksidant aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,96), GYMSU (0,95), GYYE (0,93), GYYH (0,92), GYMM (0,89), GYME (0,88), GYYSU (0,87), GYYM (0,85), GYMA (0,83), GYMH (0,80), GYYA (0,78) ve GYYEA (0,35) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile toplam antioksidant aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin toplam antioksidant aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (0,99), GYMM (0,97), GYMEA (0,97), GYYA (0,95), GYME (0,94), GYMSU (0,94), GYYE (0,92), GYYH (0,92), GYMH (0,84), GYYSU (0,79), GYMA (0,74) ve GYYEA (0,51) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile toplam antioksidant aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

### **5.5.2 Standart maddelerin ve örneklerin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri**

$H_2O_2$  organizmalarda oksijen metabolizmasının bir yan ürünü olarak doğal olarak üretilir. Biyolojik sistemler  $H_2O_2$  üretebilir. Hidrojen peroksit kendisi çok reaktif değildir fakat hücre için toksik olabilir çünkü hücre içinde  $OH^{\cdot}$  radikali oluşumuna sebep olabilir. Hidrojen peroksitin toksitesisi  $OH^{\cdot}$  radikalinin dönüşümünden kaynaklanır (Gülçin, 2012).  $Fe^{+2}$  ve diğer geçiş elementlerinin varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları (Denklem 2.5 ve Denklem 2.6) sonucu en aktif ve zararlı

olan OH<sup>-</sup> radikalinin oluşumuna neden olurlar (Altınışik, 2000). Bu nedenle hidrojen peroksitin giderilmesi oldukça önemlidir.

Güz yemişinin hidrojen peroksit giderme aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

Farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) giderme aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça hidrojen peroksit giderme aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri A.asit (91,43) > E Vit. (88,57) = GYMSU (88,57) > GYYE (85,71) > GYYSU (82,86) > Troloks (80) = TBHQ (80) > BHA (77,14) = GYMM (77,14) > GYYM (71,43) > BHT (68,57) > GYYA (48,57) = GYMH (48,57) > GYME (42,86) = GYYEA (42,86) = GYYH (42,86) > GYMA (31,43) > GYMEA (28,57) şeklindedir. Örneklerin A.asit ve E vit.'den daha düşük hidrojen peroksit giderme aktivitelerine sahip olduğu, kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek hidrojen peroksit giderme aktivitesi GYMSU, en düşük hidrojen peroksit giderme aktivitesi GYMEA örneğinde gözlenmiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı (R<sup>2</sup>) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin R<sup>2</sup> karşılaştırıldığında GYMEA (0,99), GYMSU (0,91), GYYE (0,63), GYYH (0,97), GYMM (0,91), GYME (0,93), GYYSU (0,90), GYYM (1,00), GYMA (0,96), GYMH (0,87), GYYA (0,79) ve GYYEA (0,88) şeklindedir. Örneklerin R<sup>2</sup> değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile hidrojen peroksit giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı (R<sup>2</sup>) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri ile

flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (0,88), GYMM (0,99), GYMEA (0,99), GYYA (0,93), GYME (0,84), GYMSU (0,89), GYYE (0,56), GYYH (0,98), GYMH (0,89), GYYSU (0,80), GYMA (0,92) ve GYYEA (0,95) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile hidrojen peroksit giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

### 5.5.3 Standart maddelerin ve örneklerin hidroksil radikali giderme aktiviteleri

Hidroksil radikali olasılıkla “ROT” lerin en güçlüsüdür. Her tür biyolojik molekül hidroksil radikalının bir hedefi olsa da, özellikle elektronca zengin bileşikler seçilen tercihli hedeflerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidler de başlatılan radikalik tepkimelerde binlerce farklı ara ürünler oluşturabilir. Deoksiribonükleik asit (DNA) ile tepkimesi sonucu baz modifikasyonları ve zincir kırılmaları gerçekleşebilir. İleri derecedeki DNA hasarları tamir edilemediğinden hücre ölümüne neden olur. Hidroksil radikalının başlıca hedefi yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini arttırıp hücre ölümüne neden olabilir (Coşkun, 2008).

$FeSO_4$  ve  $H_2O_2$  karışımı ile hidroksil radikali oluşturulur. Salisilik asit ilavesi ile oluşan kompleks açık kırmızı renktedir. Antioksidant maddelerin varlığında kırmızı renkte azalma meydana gelir. Hidroksil radikali giderme aktivitesinde konsantrasyon arttıkça absorbansta azalmanın gözlenmesi, örneklerin hidroksil radikalini giderdiğini göstermektedir.

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin farklı konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Farklı harflerin olduğu maddeler arasında önemli bir farklılık vardır. Harflendirilen örnekler ve standart maddelerde “a” en düşük ortalamayı, “d” en yüksek ortalamayı göstermektedir. Örneğin, BHA’ nin bütün konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık vardır. Bu nedenle 50  $\mu g/mL$  konsantrasyondaki aktivite “a” ile, 100  $\mu g/mL$  konsantrasyondaki aktivite “b” ile, 250  $\mu g/mL$  konsantrasyondaki aktivite “c” ile ve 500  $\mu g/mL$  konsantrasyondaki aktivite “d” ile harflendirilmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). Bütün standart maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin dört farklı 50, 100, 250, 500  $\mu g/mL$  dozları arasında anlamlı bir fark vardır ( $p < 0,05$ ).

En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin hidroksil radikali giderme aktiviteleri GYMH (93,11) > GYYH (92,47) > GYYEA (90,38) > GYMEA ( 89,83) > GYMA (88,97) > GYYA (87,19) > GYYM (81,01) > TBHQ (80,44) > E Vit. (78,92) = A.asit (78,92) > BHT (76,15) > GYYE (74,36) > Troloks (73,00) > GYYSU (71,49) > GYMSU (70,93) > GYME (69,32) > GYMM (67,85) > BHA (66,12) şeklindedir. Örneklerin hidroksil radikali giderme aktiviteleri standart maddelerden genellikle daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi arasında karşılaştırıldığında ise en yüksek hidroksil radikali giderme aktivitesi GYMH, en düşük hidroksil radikali giderme aktivitesi GYMM olduğu gözlenmiştir. Bütün örnekler ve standart maddelerin konsantrasyonları arttıkça aktivitelerinde artış gözlenmiştir. (Şekil 4.25 ve 4.64).

Güz yemişinin hidroksil radikali giderme aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

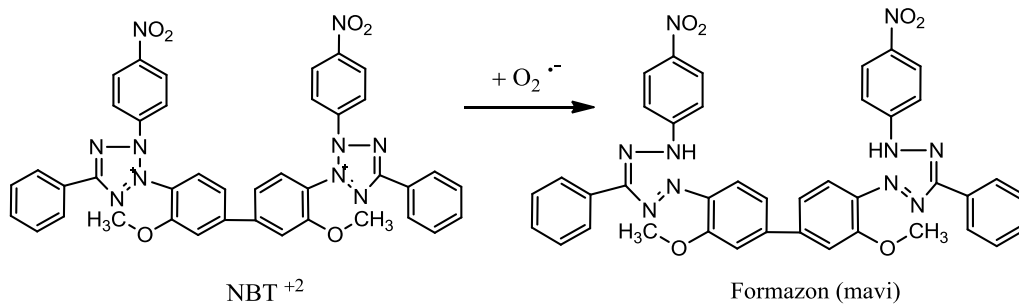
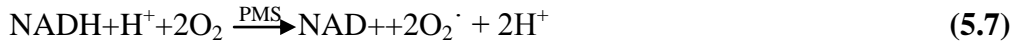
Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin hidroksil radikali giderme aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,71), GYMSU (0,59), GYYE (0,99), GYYH (0,79), GYMM (0,83), GYME (0,94), GYYSU (0,82), GYYM (0,71), GYMA (0,91), GYMH (0,76), GYYA (0,86) ve GYYEA (0,72) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile hidroksil radikali giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin flavonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin hidroksil radikali giderme aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,96), GYMSU (0,57), GYYE (0,98), GYYH (0,88), GYMM (0,93), GYME (0,82), GYYSU (0,63),

GYYM (0,91), GYMA (0,98), GYMH (0,81), GYYA (0,97) ve GYYEA (0,85) şeklindedir. Örneklerin R<sup>2</sup> değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile hidroksil radikali giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

#### 5.5.4 Standart maddelerin ve örneklerin süperoksit anyonu giderme aktiviteleri

Süperoksit anyon radikali tüm aerobik canlılarda normal metabolizmanın seri esnasında oluşmaktadır ve asıl önemi dokulara zarar vermesi değil, hidrojen peroksit oluşumuna neden olmasıdır. Hidrojen peroksit, kuvvetli yükseltgen olduğundan hücre ve hücre bileşenlerine zarar verir. Süperoksit anyon radikali lipidlere, proteinler ve nükleik asitlere hasar verebilir (Güler, 2013). Süperoksit radikali NBT' nin indirgenmesi ile ve NADH' nin oksidasyonu ile PMS –NADH sistemi ile üretilir. NBT<sup>+2</sup> oluşan süperoksit anyonu ile reaksiyonu sonucu, sarı renginin formazan mavisine dönüşümü 560 nm de spektroskopik olarak belirlenmiştir (Şekil 5.1) (Gülçin, 2012).



Şekil 5.1. NBT<sup>+2</sup> nin süperoksit anyonu ile reaksiyonu.

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin farklı konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Farklı harflerin olduğu maddeler arasında önemli bir farklılık vardır. Harflendirilen örnekler ve standart maddelerde “a” en düşük ortalamayı, “d” en yüksek ortalamayı göstermektedir. Örneğin, BHT’ nin bütün konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık vardır. Bu nedenle 50 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “a” ile, 100 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “b” ile, 250 µg/mL konsantrasyondaki

aktivite “c” ile ve 500 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “d” ile harflendirilmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). Bütün standart maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin dört farklı 50, 100, 250, 500 µg/mL dozları arasında anlamlı bir fark vardır ( $p < 0,05$ ).

Farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) süperoksit anyonu giderme aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça süperoksit anyonu giderme aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.27 ve 4.28). En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin süperoksit anyonu giderme aktiviteleri GYMSU (98,50) > GYYSU (96,84) > GYMEA (95,56) > GYMM (94,57) > GYMH (94,39) > GYYEA (94,28) > GYYH (93,72) > GYYE (93,21) > GYME (90,97) > GYMA (90,31) > GYYA (89,58) > GYYM (88,88) > A.asit (58,75) > TBHQ (37,43) > E Vit. (35,30) > BHT (34,35) > Troloks (23,12) > BHA (20,62) şeklindedir. Örneklerin süperoksit anyonu giderme aktiviteleri standart maddelerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek süperoksit anyonu giderme aktivitesi GYMSU, en düşük süperoksit anyonu giderme aktivitesi BHA örneğinde gözlenmiştir.

Güz yemişinin süperoksit anyonu giderme aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin süperoksit anyonu giderme aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,93), GYMSU (0,86), GYYE (0,99), GYYH (0,98), GYMM (0,84), GYME (0,91), GYYSU (0,82), GYYM (0,81), GYMA (0,87), GYMH (0,86), GYYA (0,68) ve GYYEA (0,85) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile süperoksit anyonu giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant

aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin süperoksit anyonu giderme aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (0,74), GYMM (0,93), GYMEA (0,94), GYYA (0,85), GYME (0,98), GYMSU (0,83), GYYE (0,99), GYYH (0,89), GYMH (0,86), GYYSU (0,69), GYMA (0,93) ve GYYEA (0,95) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile süperoksit anyonu giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

### 5.5.5 Örneklerin ve standart maddelerin indirgeme gücü aktiviteleri

Ekstrakt örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin indirgeme gücü aktivitesi  $Fe^{+3}$  ün  $Fe^{+2}$  ye indirgenmesinin 700 nm spektroskopik olarak ölçülmesi ile belirlenmiştir. İndergenmiş ürün olan  $Fe(CN)_6^{4-}$  maddesine serbest  $Fe^{+3}(FeCl_3)$  ilavesi ile purmason mavisi renginde  $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$  kompleks bileşiğini oluşturur. Başlangıçta sarı renk olan çözeltiler, antioksidant maddelerin varlığı ile indirgeme gücüne bağlı olarak mavi-yeşil arasında (purmason mavisi) renkler almaktadır. Bu standart maddelerin ve ekstrakt örneklerinin indirgeme gücü aktivitesine sahip olduğunu ve doz arttıkça indirgeme gücü aktivitelerinin arttığını göstermektedir.

Farklı konsantrasyonlarda (50-500  $\mu g/mL$ ) indirgeme gücü aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça indirgeme gücü aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.29 ve 4.30). En yüksek doz olan 500  $\mu g/mL$  konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin indirgeme gücü aktiviteleri A.asit (2,4367) > BHT (2,1671) > TBHQ (1,8791) > BHA (1,6029) > Troloks (1,4411) > E Vit. (0,9551) > GYMSU (0,8056) > GYME (0,6661) > GYMM (0,4487) > GYYA (0,2498) > GYYE (0,1917) > GYYEA (0,1785) > GYYM (0,1598) > GYYSU (0,1580) > GYMA (0,1361) > GYMH (0,1298) > GYYH (0,1143) > GYMEA (0,1133) şeklindedir. Örneklerin indirgeme gücü aktiviteleri standart maddelerden daha düşük olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek indirgeme gücü aktivitesi GYMSU, en düşük indirgeme gücü aktivitesi GYMEA örneğinde gözlenmiştir.

Güz yemişinin indirgeme gücü aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

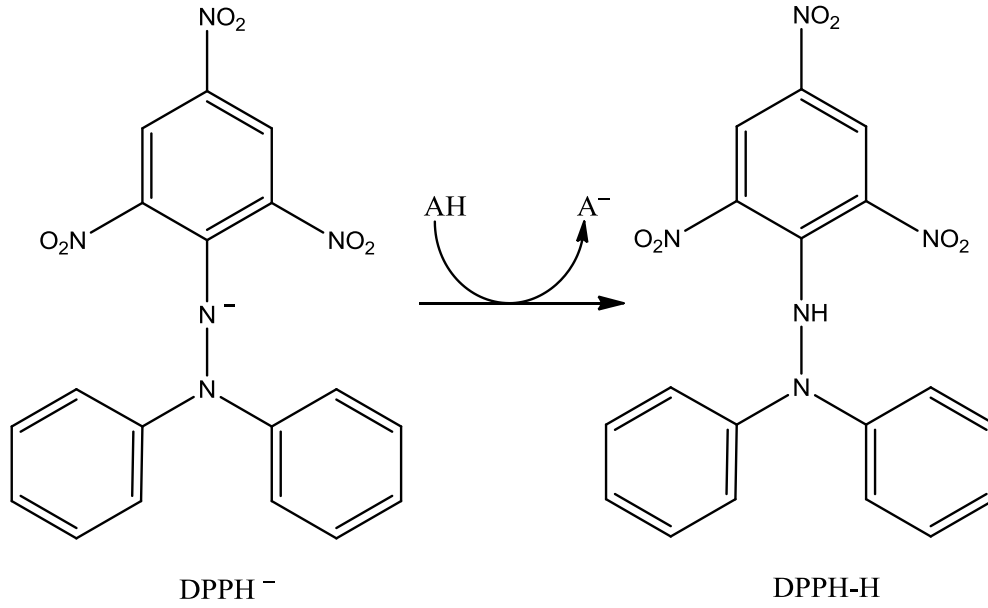
Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin indirgeme gücü aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,86), GYMSU (0,98), GYYE (1,00), GYYH (0,88), GYMM (0,99), GYME (0,95), GYYSU (0,85), GYYM (0,88), GYMA (0,92), GYMH (0,62), GYYA (0,99) ve GYYEA (0,98) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile indirgeme gücü aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin indirgeme gücü aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (1,00), GYMM (0,99), GYMEA (0,92), GYYA (0,94), GYME (0,99), GYMSU (0,98), GYYE (0,99), GYYH (0,91), GYMH (0,68), GYYSU (0,70), GYMA (0,83) ve GYYEA (0,98) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile indirgeme gücü aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

### **5.5.6 Örneklerin ve standart maddelerin serbest radikal giderme aktiviteleri**

Standart maddelerin ve ekstrakt örneklerinin serbest radikal giderme aktiviteleri DPPH<sup>·</sup> serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir. 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH<sup>·</sup>) maddesi genellikle, antiosidantlarda serbest radikal giderme aktivitesini değerlendirilmesi için kullanılır. Bu kararlı serbest radikal 517 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermektedir. DPPH<sup>·</sup> kararlı serbest radikali, kararlı diyamanyetik bir molekül olabilmek için bir elektron veya hidrojen radikali alır. Başlangıçta mor renkte olan DPPH<sup>·</sup> radikali antioksidant maddeden (AH) hidrojeni alır ve sarı renkte olan hidrazin (DPPH-H) bileşiği oluşur (Şekil 5.2). Renkte (mor

renkten sarıya) açılma meydana geldikçe absorbans değerlerinin de düştüğü gözlenmektedir (Gülçin, 2012).



**Şekil 5.2.** Antioksidant maddenin (AH) DPPH<sup>-</sup> radikalini gidermesi.

Farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) serbest radikal giderme aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça serbest radikal giderme aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.31 ve 4.32). En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin serbest radikal giderme aktiviteleri (%) BHA (99,99) = BHT (99,99) > TBHQ (99,98) > GYME (98,96) = GYYE (98,96) > GYMM (99,88) > GYMSU (99,80) > Troloks (99,66) = E Vit. (99,66) > GYYM (99,32) > GYYSU (99,11) > A.asit (99,04) > GYYA (91,14) > GYYH (70,64) > GYYEA (62,27) > GYMA (50,54) > GYMEA (39,14) > GYMH (35,07) şeklindedir. Örneklerin serbest radikal giderme aktiviteleri standart maddelerden genellikle daha düşük olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek serbest radikal giderme aktivitesi GYME, en düşük serbest radikal giderme aktivitesi GYMH örneğinde gözlenmiştir.

Khanzadi Fatima Khattak' ın (2012) yaptığı çalışmaya göre güz yemişi meyvesinin metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesi 84,9 (%) olarak bulunmuştur.

Ghias Uddin ve Abdur Rauf' ın (2012) yaptığı çalışmaya göre güz yemişi meyvesinin metanol, hekzan ve etilasetat ekstraktlarının 100 µg/mL'deki serbest radikal giderme aktiviteleri 86,9 (%), 79,9 (%) ve 80,9 (%) olarak bulunmuştur.

Mahfuz Elmastaş ve Resul Gerçekçioğlu (2011) bazı üzüksü meyve türlerinin antioksidan aktiviterini araştırmış ve ahududu, gelebor, kuşburnu ve mürver meyvelerinin etanol ekstraktlarındaki serbest radikal giderme aktiviteri sırasıyla 45,2 (%), 78,2 (%), 52,4 (%) ve 48,3 (%) şeklindedir.

Görkem Yalçın' ın (2012) yapıtığı çalışmaya göre iğdenin yaprak ve çekirdek metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktiviteri sırasıyla 85,81 (%) ve 50,93 (%) olarak bulunmuştur.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktiviterini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin serbest radikal giderme aktiviteri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğı gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldıığında GYMEA (0,94), GYMSU (0,95), GYYE (0,53), GYYH (0,90), GYMM (0,90), GYME (0,98), GYYSU (0,96), GYYM (0,84), GYMA (0,98), GYMH (0,86), GYYA (0,92) ve GYYEA (0,99) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile serbest radikal giderme aktiviteri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktiviterini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin serbest radikal giderme aktiviteri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğı gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldıığında GYYM (0,76), GYMM (0,76), GYMEA (0,83), GYYA (0,97), GYME (0,98), GYMSU (0,96), GYYE (0,47), GYYH (0,96), GYMH (0,88), GYYSU (0,82), GYMA (0,98) ve GYYEA (0,98) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile serbest radikal giderme aktiviteri o kadar doğru orantılıdır.

### **5.5.7 Örneklerin ve standart maddelerin metal şelat aktiviteri**

Demir gibi geçiş metal iyonları canlı sistemde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak görev yapmaktadır. Biyolojik sistemlerde oksijen taşınması, ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde önemli role sahip olan demirin serbest

formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Bu toksisite sonucunda oluşan aktif oksijen türleri lipid oksidasyonunu teşvik edebilmekte veya DNA moleküllerine saldırabilmektedir.  $Fe^{+2}$  iyonu insan ve hayvan sistemlerinde ROT üretimini kolaylaştırabilir. Demir iyonu, gıda sistemlerinde etkili prooksidanlardan olduğu için, iyi bir şelatlama etkisi ile serbest demir iyonlarının uzaklaştırılması, oksidatif strese bağlı hastalıkların önlenmesinde yararlı olabilir. Birçok metal doğal olarak vücutta şelat oluşturmuş formda bulunur. Şelat oluşumu antioksidant savunma sistemine önemli katkıda bulunmaktadır. Demir şelatlama yeteneği maddelerin antioksidant özelliği için önemlidir (Gülçin, 2012; Koca ve Karadeniz, 2003). Bu nedenle güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin metal şelatlama aktiviteleri incelenmiştir. Metal şelat aktivitesi antioksidant özellik gösteren maddelerin  $Fe^{+2}$  ile kompleksleşme özelliği 562 nm’ de  $Fe^{+2}$ -ferrozin kompleksinin absorbansı ölçülerek belirlenmiştir. Şelatlama maddelerinin varlığında, kompleks oluşumu kırmızı renkte bir azalma ile sonuçlanacak şekilde bozulur. Metal şelatlama aktivitesinde azalan absorbans, ferrozine bağlanmadan demir iyonlarının şelatlandığını göstermektedir.

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin farklı konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Farklı harflerin olduğu maddeler arasında önemli bir farklılık vardır. Harflendirilen örnekler ve standart maddelerde “a” en düşük ortalamayı, “d” en yüksek ortalamayı göstermektedir. Örneğin, BHA’ nin bütün konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık vardır. Bu nedenle 50 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “a” ile, 100 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “b” ile, 250 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “c” ile ve 500 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “d” ile harflendirilmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). Bütün standart maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin dört farklı 50, 100, 250, 500 µg/mL dozları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

Farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) metal şelat aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça metal şelat aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.33 ve 4.34). En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin metal şelat aktiviteleri EDTA (94,58) > E Vit. (94,58) > GYYA (89,51) > GYMEA (86,91) > GYYH (86,89) > GYMA (86,71) > GYMH (86,16) > GYYEA (83,94) > TBHQ (27,36) > GYMM (26,68) > BHT (24,55) > Troloks (24,37) > BHA (21,48) > GYME (19,15) > GYYE

(17,42) > GYYM (17,36) > A.asit (17,09) > GYMSU (15,87) > GYYSU (11,64) şeklindedir. Örneklerin metal şelat aktiviteleri EDTA ve E Vit.' ninden daha düşük olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek metal şelat aktivitesi GYYA, en düşük metal şelat aktivitesi GYYSU örneğinde gözlenmiştir.

Güz yemişinin metal şelat aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkiye yakın olan üzüksü meyvelerin analiz sonuçları ile kıyaslanmıştır.

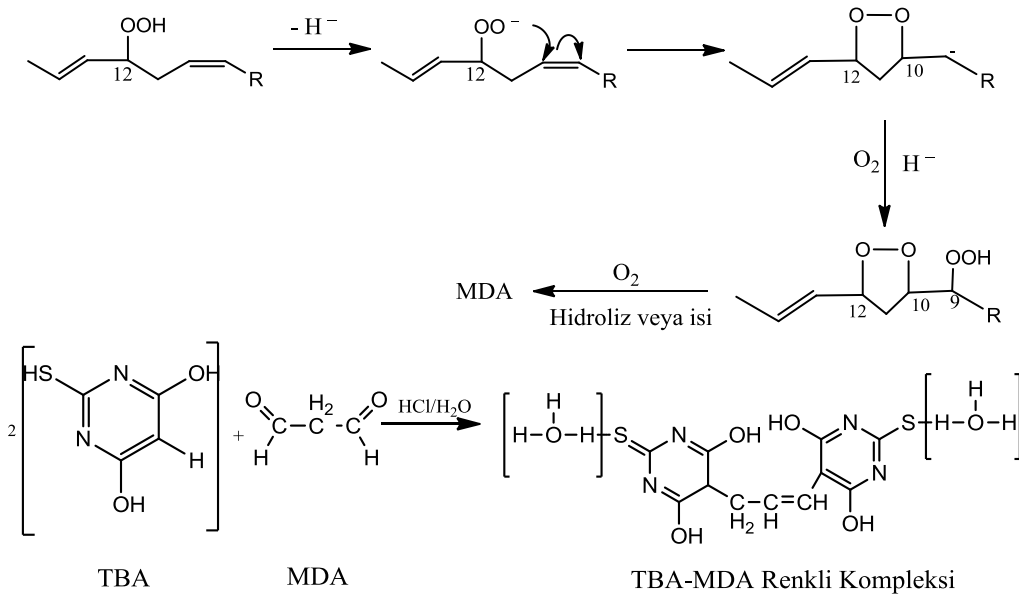
Mahfuz Elmastaş ve Resul Gerçekçioğlu (2011) bazı üzüksü meyve türlerinin antioksidan aktivitelerini araştırmış ve ahududu, gelebor, kuşburnu ve mürver meyvelerinin etanol ekstraktlarındaki metal şelat aktiviteleri sırasıyla 42,3 (%), 84,2 (%), 54,5 (%) ve 68,8 (%) şeklindedir.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin metal şelat aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,84), GYMSU (0,94), GYYE (0,56), GYYH (0,88), GYMM (0,93), GYME (0,93), GYYSU (0,98), GYYM (1,00), GYMA (0,99), GYMH (0,91), GYYA (0,99) ve GYYEA (0,45) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile metal şelat aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin metal şelat aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (0,90), GYMM (0,79), GYMEA (0,79), GYYA (0,90), GYME (0,90), GYMSU (0,94), GYYE (0,51), GYYH (0,90), GYMH (0,87), GYYSU (0,92), GYMA (0,94) ve GYYEA (0,60) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile metal şelat aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

### 5.5.8 Örneklerin ve standart maddelerin lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktiviteleri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ aistlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendine devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ( $L^{\cdot}$ ) ve lipid peroksit radikallerinin ( $LOO^{\cdot}$ ) oluşması, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir (Altınışık, 2000). ROT çoklu doymamış lipidlerin yapısını bozarak MDA oluşmasına neden olurlar (Şekil 5.3). Bu bileşik reaktif aldehyt bir bileşiktir ve hücrelerde toksik strese neden olan çok sayıda reaktif elektrophil türlerinden biridir. Bu aldehytin üretimi, organizmada oksidatif stres seviyesini ölçmek için biyolijik belirteç olarak kullanılır. Pembemsi kırmızı renkli TBA-MDA kompleksi oluşur (Gülçin, 2012). Oluşan pembe rengin şiddetinin az olması lipid peroksidasyonun az olduğunu göstermektedir. Bu nedenle güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin konsantrasyonları arttıkça absorbans değerlerinin düşmesi, rengin şiddetinin azaldığını, lipid peroksidasyonun daha az olduğunu, aktivitenin daha yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.3. Lipid yapısının bozulmasıyla oluşan MDA' nın TBA ile reaksiyonu

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin farklı konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Farklı harflerin olduğu maddeler arasında önemli bir farklılık vardır. Harflendirilen örnekler ve standart maddelerde “a” en düşük ortalamayı, “d” en yüksek ortalamayı göstermektedir. Örneğin, BHA’ nin bütün konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık vardır. Bu nedenle 50 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “a” ile, 100 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “b” ile, 250 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “c” ile ve 500 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “d” ile harflendirilmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). Bütün standart maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin dört farklı 50, 100, 250, 500 µg/mL dozları arasında anlamlı bir fark vardır ( $p < 0,05$ ).

Farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.35 ve 4.36). En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktiviteleri Troloks (99,50) > BHT (99,27) > TBHQ (99,25) > GYMM (98,24) > GYYE (97,77) > BHA (97,31) > GYYM (97,17) > GYYSU (97,00) > GYMSU (96,91) = GYME (96,91) > A.asit (95,01) > E Vit. (73,85) > GYYH (64,05) > GYMH (55,69) > GYYA (33,68) > GYYEA (28,39) > GYMEA (24,02) > GYMA (12,15) şeklindedir. Örneklerin lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktiviteleri standart maddelerden genellikle daha düşük olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi GYMM, en düşük lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi GYMA örneğinde gözlenmiştir.

Güz yemişinin toplam antioksidant aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

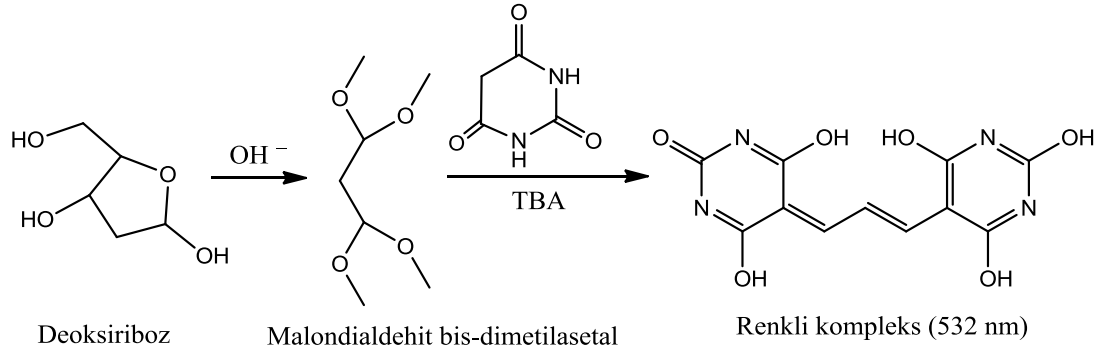
Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin lipid peroksidasyonu inhibisyon aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında

GYMEA (0,95), GYMSU (0,81), GYYE (0,56), GYYH (0,92), GYMM (0,42), GYME (0,63), GYYSU (0,66), GYYM (0,66), GYMA (0,88), GYMH (0,75), GYYA (0,86) ve GYYEA (0,87) şeklindedir. Örneklerin R<sup>2</sup> değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile lipid peroksidasyonu inhibisyon aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı (R<sup>2</sup>) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin lipid peroksidasyonu inhibisyon aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin R<sup>2</sup> karşılaştırıldığında GYYM (0,46), GYMM (0,56), GYMEA (0,84), GYYA (0,84), GYME (0,45), GYMSU (0,80), GYYE (0,48), GYYH (0,78), GYMH (0,79), GYYSU (0,74), GYMA (0,88) ve GYYEA (0,94) şeklindedir. Örneklerin R<sup>2</sup> değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile lipid peroksidasyonu inhibisyon aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

### **5.5.9 Örneklerin ve standart maddelerin deoksiriboz aktiviteleri**

Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin deoksiriboz aktiviteleri kolorimetrik deoksiriboz metoduna göre tayin edilmiştir. Kolorimetrik deoksiriboz yöntemi, OH<sup>-</sup> giderme aktivitesine benzer bir yöntem olarak uygulanmıştır. Oluşturulan hidroksil radikali deoksiribozun yapısını bozar ve malonaldehit türevli molekül oluşur. Malonaldehit türevi bu molekül ortama eklenen TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturur. Antioksidant maddeler hidroksil radikalini süpürüp, deoksiriboz yapısının korunmasını sağlar. Pembe rengin şiddetli olması, deoksiribozun TBA ile kompleks oluşturduğunu ve antioksidant maddelerin aktivitelerinin zayıf olduğunu gösterir. Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin konsantrasyon arttıkça absorbans değerlerinin düşmesi, pembe rengin açılmasından kaynaklanmaktadır. Renk şiddetinin azalması kompleks oluşumunun azaldığını, deoksiriboz aktivitelerinde artma olduğunu göstermektedir (Halliwell ve diğ., 1987).



**Şekil 5.4.** Deoksiribozun yapısının bozulmasıyla oluşan malonaldehit türevi bileşiğin TBA ile kompleks oluşumu.

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin farklı konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Farklı harflerin olduğu maddeler arasında önemli bir farklılık vardır. Harflendirilen örnekler ve standart maddelerde “a” en düşük ortalamayı, “d” en yüksek ortalamayı göstermektedir. Örneğin, BHA’ nin bütün konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık vardır. Bu nedenle 50 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “a” ile, 100 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “b” ile, 250 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “c” ile ve 500 µg/mL konsantrasyondaki aktivite “d” ile harflendirilmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). Bütün standart maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin dört farklı 50, 100, 250, 500 µg/mL dozları arasında anlamlı bir fark vardır ( $p < 0,05$ ).

Farklı konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) deoksiriboz aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça deoksiriboz aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.37 ve 4.38). En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin deoksiriboz aktiviteleri BHT (97,15) > Troloks (96,96) > GYMM (96,80) > TBHQ (96,66) > BHA (96,60) > E Vit. (96,25) > GYYE (96,22) > GYME (96,13) > GYYM (95,83) > A.asit (76,25) > GYYSU (75,11) > GYMSU (69,88) > GYYA (32,15) > GYYH (29,81) > GYYEA (28,79) > GYMH (26,83) > GYMEA (24,14) > GYMA (22,63) şeklindedir. Örneklerin deoksiriboz aktiviteleri BHA ve Troloks' tan daha düşük olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek deoksiriboz aktivitesi GYMM, en düşük deoksiriboz aktivitesi GYMA örneğinde gözlenmiştir.

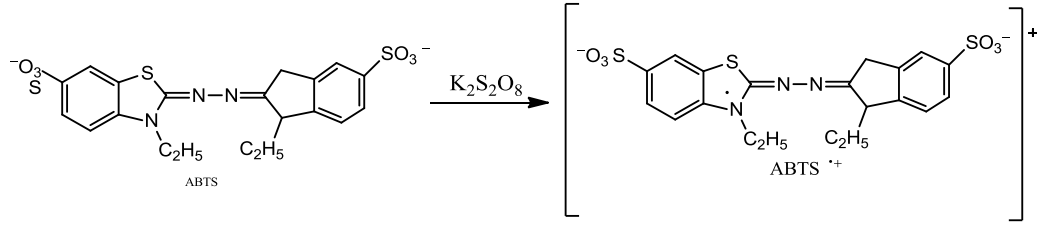
Güz yemişinin toplam antioksidant aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) gz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin deoksiriboz aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (izelge 4.6). Gz yemişi meyve ve yaprak rneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,96), GYMSU (0,89), GYYE (0,71), GYYH (0,61), GYMM (0,82), GYME (0,99), GYYSU (0,92), GYYM (0,80), GYMA (0,68), GYMH (0,78), GYYA (0,54) ve GYYEA (0,71) Şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile deoksiriboz aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) gz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin deoksiriboz aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (izelge 4.7). Gz yemişi meyve ve yaprak rneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (0,78), GYMM (0,86), GYMEA (0,96), GYYA (0,75), GYME (0,94), GYMSU (0,89), GYYE (0,66), GYYH (0,74), GYMH (0,61), GYYSU (0,84), GYMA (0,86) ve GYYEA (0,83) Şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile deoksiriboz aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

#### **5.5.10 örneklerin ve standart maddelerin ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktiviteleri**

Troloks eşdeğeri antioksidant kapasite tayininde ABTS' nin  $K_2S_2O_8$  ile oksidasyonundan mavi-yeşil renkli ABTS<sup>+</sup> radikali elde edilmiştir (Şekil 5.5). Gz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antiosidant maddelerinin mavi-yeşil renkli ABTS<sup>+</sup> radikalini giderme aktiviteleri 734 nm' de spektroskopik olarak belirlenmiştir.



**Şekil 5.5.** ABTS' nin  $K_2S_2O_8$  ile oksidasyonundan  $ABTS^{\bullet+}$  radikalinin oluşması.

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin farklı konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Farklı harflerin olduğu maddeler arasında önemli bir farklılık vardır. Harflendirilen örnekler ve standart maddelerde “a” en düşük ortalamayı, “d” en yüksek ortalamayı göstermektedir. Örneğin, BHA' nin bütün konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık vardır. Bu nedenle 50  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki aktivite “a” ile, 100  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki aktivite “b” ile, 250  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki aktivite “c” ile ve 500  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki aktivite “d” ile harflendirilmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). Bütün standart maddelerin ve güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin dört farklı 50, 100, 250, 500  $\mu\text{g/mL}$  dozları arasında anlamlı bir fark vardır ( $p < 0,05$ ).

Farklı konsantrasyonlarda (50-500  $\mu\text{g/mL}$ )  $ABTS^{\bullet+}$  radikali giderme aktiviteleri belirlenen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerinin konsantrasyonları arttıkça  $ABTS^{\bullet+}$  radikali giderme aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.39 ve 4.40). En yüksek doz olan 500  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin  $ABTS^{\bullet+}$  radikali giderme aktiviteleri  $GYMSU$  (41,83) > A.asit (38,30) >  $GYMEA$  (32,19) >  $GYMA$  (29,39) >  $GYYSU$  (28,67) >  $GYYA$  (28,58) >  $GYXH$  (27,58) >  $GYXM$  (27,39) >  $GYXEA$  (26,09) >  $GYMM$  (25,44) > E Vit. (21,05) >  $GYMH$  (20,01) > BHA (18,28) > BHT (16,29) > TBHQ (13,97) >  $GYXE$  (10,39) > Troloks (8,84) >  $GYME$  (7,26) şeklindedir. Örneklerin  $ABTS^{\bullet+}$  radikali giderme aktiviteleri standart maddelerden genellikle daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek  $ABTS^{\bullet+}$  radikali giderme aktivitesi  $GYMSU$ , en düşük  $ABTS^{\bullet+}$  radikali giderme aktivitesi  $GYME$  örneğinde gözlenmiştir.

Güz yemişinin toplam antioksidant aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500  $\mu\text{g/mL}$ ) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan

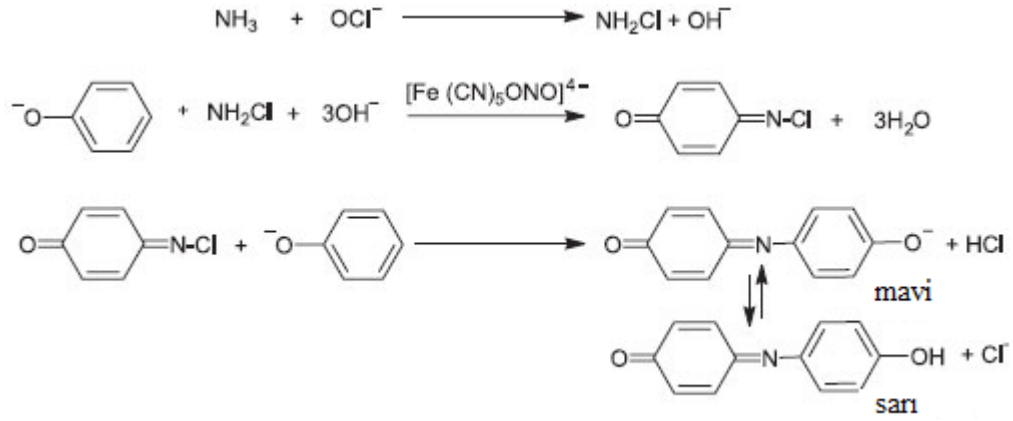
antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktiviteleri ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,94), GYMSU (0,97), GYYE (0,96), GYYH (0,80), GYMM (0,99), GYME (0,98), GYYSU (0,97), GYYM (0,87), GYMA (0,95), GYMH (0,97), GYYA (1,00) ve GYYEA (0,98) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktiviteleri ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (0,99), GYMM (0,94), GYMEA (0,86), GYYA (0,95), GYME (0,99), GYMSU (0,98), GYYE (0,94), GYYH (0,93), GYMH (0,97), GYYSU (0,95), GYMA (0,88) ve GYYEA (0,96) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktiviteleri o kadar doğru orantılıdır.

## **5.6 Güz Yemişi Meyve ve Yaprak Örneklerinin Enzim İnhibisyonu**

### **5.6.1 Örneklerin ve standart maddelerin üreaz inhibisyon aktiviteleri**

Üreaz (E.C.3.5.1.5.) inhibisyonu indofenol yöntemi ile tayin edilmiştir. Ürenin üreaz katalizörlüğünde hidrolizi sonucu oluşan amonyak hipoklorit ile birleşir. Oluşan bileşik nitroprussid ile reaksiyona girerek mavi renkli indofenöl oluşturur. Oluşan mavi renkli indofenol spektrofotometrik olarak tayin edilir.



**Şekil 5.6.** İndofenol oluşum reaksiyonu

En yüksek doz olan 500 µg/mL konsantrasyonda güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin ve standart antioksidant maddelerin üreaz inhibisyon aktiviteleri GYYA (71,95) > GYMA (59,76) > GYYEA (29,88) > GYME (26,52) > GYYE (25,61) > TBHQ (20,73) > Tiyoüre (17,07) > Troloks (14,63) > GYMM (13,72) > E Vit. (13,11) > GYYM (12,80) > A.asit (10,67) > GYYSU (9,76) > GYMSU (8,23) > GYMEA (2,44) > GYYH (0,61) şeklindedir. Örneklerin üreaz inhibisyon aktiviteleri standart maddelerden genellikle daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek üreaz inhibisyon aktivitesi GYYA, en düşük üreaz inhibisyon aktivitesi GYYH örneğinde gözlenmiştir (Şekil 4.41 ve 4.42).

Güz yemişinin toplam antioksidant aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin fenolik madde içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin üreaz inhibisyonları ile fenolik madde içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYMEA (0,12), GYMSU (0,24), GYYE (0,77), GYYH (0,25), GYMM (0,00), GYME (0,27), GYYSU (0,70), GYYM (0,02), GYMA (0,08), GYMH (-), GYYA (0,32) ve GYYEA (0,84) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise fenolik madde içerikleri ile üreaz inhibisyonları o kadar doğru orantılıdır.

Farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin falvonoid içerikleri ile aynı konsantrasyonlarda yapılan antioksidant

aktivitelerini karşılaştırmak için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinden her bir örneğin doğru denklemi ve korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerleri belirlenmiştir. Örneklerin üreaz inhibisyonları ile flavonoid içeriklerinin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin  $R^2$  karşılaştırıldığında GYYM (0,15), GYMM (0,03), GYMEA (0,15), GYYA (0,54), GYME (0,25), GYMSU (0,27), GYYE (0,70), GYYH (0,39), GYMH (-), GYYSU (0,84), GYMA (0,06) ve GYYEA (0,83) şeklindedir. Örneklerin  $R^2$  değeri ne kadar bire yakın ise flavonoid içerikleri ile üreaz inhibisyonları o kadar doğru orantılıdır.

## 6. ÖNERİLER

Güz yemişi likopen içeriği en yüksek olan domatesten 18 kat daha fazla likopen içermektedir. Bu özelliğinden dolayı güz yemişi antibakteriyel özellik taşımaktadır. Prostat kanseri, pankreas kanseri gibi birçok kansere yakalanma riskini azaltabilen güz yemişi, kolesterolü düzenleyebilmekte ve kalp kasları üzerine kolesterolün etkisini en aza indirebilmektedir. Gözlerdeki kataraktı engelleyebilen güz yemişi göz mercekları ile makulayı korumaktadır. Bağışıklık sistemini güçlendiren güz yemişi hücrelerin yenilenmesini sağlamaktadır. Biyoaktif bileşikler, esansiyel yağ asitleri, beta karoten, lutein, A, C, E vitaminleri ile yağ asitlerince zengin olan güz yemişi erkek kısırlığına da iyi gelmektedir (Çelik H. ve diğ., 2012).

Bu tez çalışmasında Samsun ilinde halk tarafından sıklıkla tüketilen güz yemişi meyve ve yaprak örneklerinin etanol, metanol, su, etilasetat, aseton ve hekzan ekstraktlarının antioksidant aktiviteleri incelenmiş, sentetik antioksidantlarla karşılaştırma yapılmıştır. Bir özütün antioksidant aktivite gösterebilmesi için; serbest radikalleri veya serbest radikal oluşumuna neden olabilecek diğer radikalleri giderebilmesi (hidroksil radikali, süperoksit radikali, singlet oksijeni ve hidrojen peroksiti temizleyebilmesi), geçiş metallerini şelatlayabilmesi, indirgeme gücünün bulunması, zincir şeklinde gerçekleşen radikalik reaksiyonları durdurabilmesi gerekmektedir. Bilimsel çalışmalar, çok işlevli gıda ve biyolojik antioksidantların değerlendirilmesinde tek boyutlu yöntemlerin kullanımının sorunlu bir konu olduğuna dikkat çekmişlerdir. Bu nedenle bu çalışmada on farklı antioksidant aktivite testi uygulanarak aktivite testleri birbirleriyle desteklenmiştir. Ayrıca enzim inhibisyon testi uygulanarak güz yemişi örneklerinin enzimi ne kadar inhibe ettiği gözlemlenmiştir.

Gıda ürünlerindeki bozulmanın en önemli nedenlerinden biri lipid peroksidasyonudur. Bu nedenle gıdalarda serbest radikalleri temizleme, etkilerinin geciktirme ve raf ömrünü uzatmak için sentetik antioksidant maddeler

kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda gıdalarda kullanılan bazı sentetik bileşiklerin toksik etkisinden şüphenilmekte ve antioksidant özellik gösteren doğal ürünler araştırılmaktadır. Bu da gıda katkı maddesi üretimi, kozmetik ile ilgili olanlar ve ilaç gibi bazı sektörlerde, ekstraksiyon ve saflaştırma ile doğal ürünlerden biyoaktif bileşiklerin hazırlanma çabalarını arttırmıştır. Böylece ihtiyaçların belirlenmesi için alternatif doğal ve özellikle bitki kökenli güvenli kaynaklardan oluşturulan doğal gıda antioksidant arayışı son yıllarda artmıştır. Asya'da, güz yemişi reçellerde, tatlılarda, geleneksel yemekler ve ilaçlarda kullanılır. Tez çalışmasında kullanılan güz yemişi A vitamini, C vitamini, E vitamini, karotenoidler, polifenolik bileşikler ve flavonoidler gibi antioksidant bileşikler içermekte ve sentetik antioksidantlardan daha iyi antioksidant aktivite göstermektedir.

Birçok kansere yakalanma riskini azaltabilen güz yemişinden elde edilen farklı polaritedeki çözücü ekstraktlarda Sıçan beyin tümörü (C6) ve insan rahim kanseri (HeLa) hücrelerinde antiproliferatif testi yapılmıştır. Bu çalışmaya göre güz yemişi yaprak su, metanol, etanol, etilasetat, aseton ekstraktları yüksek antiproliferatif etki göstermiştir.

Güz yemişinin *in vivo* çalışmaları yapılmakta olup gıda endüstrisinde, farmokoloji ve tıp alanlarında kullanılabilirliği araştırılmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Ahmad, N. S., Farman, M., Najmi, M. H., Mian, K. B., Hasan, A., 2008. Pharmacological basis for use of *Pistacia integerrima* leaves in hyperuricemia and gout, *Journal of Ethnopharmacology*, 117, 478-482.
- Ahmad, M., Muhammad, N., Ahmad, M., Lodhi, M.A., Mahjabeen, Jehan, N., Khan, Z., Ranjit, R., Shaheen, F., Choudhary, M.I., 2008, Urease inhibitor from *Datisca cannabina linn*, *Journal of Enzyme Inhibitor and Medicinal Chemistry*, 23, 386-390.
- A.O.A.C., 1980. Official Methods of Analysis, 13 th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C 746.
- Akgöl, S., Yalçinkaya, Y., Arıca, Y., 2002, Reversible Immobilization of urease, *Process Chemistry*, 38, 675-683.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri. S.Ü. Tıp Fak. Biyokimya A.B.D., Konya.
- Altınışik, M., 2000. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidantlar. ADÜ Tıp Fakültesi Biyokimya ABD., Aydın.
- Amtul, Z., Rahman, A., Siddiqui, R.A., Choudhary, M.I., 2002, Chemistry and mechanism of urease inhibition, *Current Medicinal Chemistry*, 9,1323-1348.
- Aydemir, B., Sarı, K.E., 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Vet J*, 2 (2):56-60.
- Baytop, T., 1984, *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, V-VIII, 3255.
- Becker-Ritt, A.B., Martinelli, A.H.S., Mitidieri, S., Feder, V., Wassermann, G.E., Santi, L., Vainstein, M.H., Oliveria, J.T.A., Fiuza, L.M., Pasquali, G., Carlini, C.R., 2007, Antifungal activity of plant and bacterial ureases, *Toxicon*, 50, 971-983.
- Blakeyand, R.L., Zerner, B., 1984, Jack bean urease: the first nickel enzyme, *Journal of Molecular Catalysis*, 23, 263-292.
- Blaser, M.J., 1998, H.Pylori and gastric diseases, science. medicine and future. *BMJ*, 316:1507-1510.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations By The Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 26, 1199-1200.
- Cadenas, E., Packer, L., 2002. *Handbook of Antioxidants*. Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.

- Cao, G., Prior, R.L. 1999. In vivo Antioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27: 1173-1181.
- Carter, E.L., Flugga, N., Boer, J.L., Mulrooney, S.B., Hausinger, R.P., 2009, Interplay of metal ions and urease, *Metallomics*, 1, 207-221.
- Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R., 1999. Intracellular Antioxidants: From Chemical to Biochemical Mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 949-962.
- Chen, J., Chiu, S., 2000, A poly (N-isopropylacrylamide-co-N-acryloxysuccinimide-co-2-hydroxyethyl methacrylate) composite hydrogel membrane for urease immobilization to enhance urea hydrolysis rate by temperature swing, *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 359-367.
- Cheung, LM, Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C., 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolics of Edible Mushroom Extracts. *Food Chemistry*, 81, 249-255.
- Chey, W.D., Murthy, U., Toskes, P., Carpenter, S. et al., 1999, The 13C-Urea Blood test accurately detects H.Pylori infection: A United States, multicenter trial *Am J Gastroentero!* 94 (6): 1522-1525.
- Choi, C. W., Kim, S.C., Hwang, S.S, Choi, B.K., Ahn, H.J., Lee, M.Y., Park, S.H., Kim, S.K., 2002. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity Between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay-guided Comparison. *Plant Sciences*, 163, 6, 1161- 1168.
- Ciurci, S., Benini, S., Mangana, S., 1999, Structural properties of nickel ions in urease: novel insights into the catalytic and inhibition mechanisms, *Coordination Chemistry Reviews*, 190-192, 331-335.
- Cook, N.C., Samman, S., 1996. Flavonoids—Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources. *Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.
- Cornwell, D. G., Jones, K. H., Jiang, Z., Lantry, L. E., Southwell Keely, P., Kohar, I., Thornton, DE., 1998. Cytotoxicity of Tocopherols and Their quinones in Drug-Sensitive and Multidrug-Resistant Leukemia Cells. *Lipids*, 33 (3): 295–301.
- Correa, P., 1985. Clinical implications of recent development in gastric cancer pathology and epidemiology. *Semin Oncol* 12:2-10.
- Correa, P., Fox, C., Fontham, E., Ruiz, B., Lin, Y., Zavala, D., 1990, Helicobacter pylori and gastric carcinoma: Serum antibody prevalence in populations with contrasting cancer risks. *Cancer* 66: 2569-74.
- Coşkun, Ü.M., 2008. Şizofreni Etyopatogenezinde Oksidatif Stresin Rolü. Psikiyatri Uzmanlık Tezi, Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- Craanen, M.E., Dekker, W., Blok, P., Ferwerda, J., Tytgat, G.N.J., 1992, İntestinal metaplasia and H.Pylori: An endoscopic bioptic study of the gastric antrum, *Gut* 33:16-20.

- Crabtree, J.E., 1996, Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter Pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 10 (suppl 1):29-37.
- Cross, C. E., Halliwell B., Borish E. T., Pryor W. A., Ames B. N., Saul R. L., Mccord J. M., Harman D., 1987. Oxygen Radicals and Human Disease. *Annals of Internal Medicine*, 107, 526–545.
- Çelik, C., 2010. Zeytin Karasuyundan Hümik Asit (HA) ve Fulvik Asitlerin (FA) Eldesi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Adana, 266172.
- Çelik, H., Karabulut, B., Söyler, K., Çelik, D., Demirel, G., Işık, Y., 2012. Güz yemişinin (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) Bazı Pomolojik Özellikleri ile Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Soğukta Bekletme ve Dışsal Giberellin Uygulamasının Etkileri. IV. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu (3-5 Ekim, Antalya).
- Demiray, E., Yılmaz, O., 2007, *Helicobacter pylori* infeksiyonunda üreaz enziminin rolü ve önemi, *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, 37, 112-117.
- Did, E.J., Hail, L.R., Romero, A., 1994, An explanation for enhanced gastric response to meal in patients with H. Pylori infection. *Gastroenterology* 106 (suppl 2):70.
- Dinis, T.C.P., Maderia, V.M.C., Almeida, L.M., 1994. Action of Phenolic Derivatives as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation as Peroxyl Radical Scavenging Effects. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 36, 2090-2097.
- Dooley, C.P., 1993, Background and histoncal considerations of *Helicobacter Pylori*. *Gastroenterol Cim North Am.* 22(1):1-19.
- Dunn, B.E., Campbell, G.P., Perez-Perez, G.L., Blaser, M.J., 1990, Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*, *The Journal of Biological Chemistry*, 265, 9464-9469.
- Elitsur, Y., Triest, W.E ., 1997, Is duodenai gastric metaplasia a consequence of H.Pylori infection m children? *Am J Gastroenierol*, 92, 12, 2216-2219.
- Elmastaş, M., Gerçekçioğlu, R. 2011. Bazı Üzümsü Meyve Türlerinin Antioksidan Aktiviteleri. II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, 14-16 Eylül, 295-298.
- El-Sherif, H., Martelli, P.L., Casadio, R., Portaccio, M., 2001, Urease immobilization on chemically grafted nylon membranes part1:isothermal characterizaion, *Journal of Moleculer Catalysis B: Enzymatic*, 14,15-29.
- Ersoy, G.: 1999, Mide karsinomlarında Epstein-Barr virüs varlığının in situ hibridizasyon yöntemi ile araştırılması; p53 ve EBV ekspresyonlarının histopatolojik özelliklerle ilişkisi. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji ABD tezi Sayfa 24.
- Evans, D.G., Evans, D.J., Lampert, H.C., Graham, D.Y., 1995, Restriction fragment length polymorphism in the adhesin gene hpa A of H.Pylori. *Am J Gastroenterol* 90:1282-1288.

- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., 2002. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, 18, 10, 872-879.
- Ferreira, I.C.F.R., Lillian Barros and Rui, M.V. Abreu., 2009. Antioxidants in Wild Mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16 (12) 1543–1560. 125
- Filiz, E. B., Seydim, C. A., 2014, Bazı Kurutulmuş Meyvelerin Antioksidan Özellikleri. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 213: 128-131.
- Finley, J. W., Given, P. J. R., 1986. Technological Necessity of Antioxidants in the Food Endustry. *Food and Chemical Toxicology*, 24 (10/11), 999-1006.
- Fordham, M. I., Zimmerman, H. R., Black, L. B. Autumn Olive: APotential Alternative Crop. Fruit Laboratory, Plant Sciences Institue, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD 20705, USA.
- Follmer, C., Wassermann, G.E., Carlini, C.R., 2004, Separation of jack bean (*Canavalia ensiformis*) urease isoforms by immobilized metal affinity chromatography and characterization of insecticidal properties unrelated toureolytic activity, *Plant Science*, 167, 241-246.
- Follmer, C., 2008, Review: Insights into the role and structure of plant ureases, *Phytochemistry*, 69, 18-28.
- Forman, D., Prevalance of H.pylori infection in gastric cancer. *Alimentary Pharmacol Ther* 9 (suppl 2): 71 -76, 1995.
- Goodwin, C.S., Worsley, B.W., 1993, Mctrobiology of H.Pylori. *Gastroenterol Clin North Am* 22(1) :15-19.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidantlar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23: 85-89.
- Göral, V., 2003, Günümüzde ve gelecekte peptik ülser tedavisi, *Güncel Gastroenteroloji*, 7, 115-119.
- Güçlü, K., Apak, R., Özyürek, M., 2009. Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidant Aktivite Tayin Yöntemlerinin Gelistirilmesi, Proje No: 106T514.
- Güder, A., 2008. *Urtica dioica l.* ve *Malva neglecta wallr.* Bitkilerinin ve Karışımlarının Antioksidant Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Halliwell, B., 1990. How to Characterize a Biological Antioxidant. *Free Radical Res. Commun*, 9, 1-32.
- Halliwell, B., 1991. Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human Disease. *The American Journal of Medicine*, 91 (3) 14-22.
- Halliwell, B., 1997. Antioxidants in Human Health and Disease. *Annual Review of Nutrition*, 16, 33–50.
- Harris, E.D., 1992. Regulation Of Antioxidant Enzymes. *Faseb Jour*, 6: 2675-2683.

- Havsteen, B., 1983. Flavonoids a Class of Natural Products of High Pharmacological Potency. *Biochemical Pharmacology*, 32, 1141-1148.
- Hirayama, C., Sugimura, M., Saito, H., Nakamura, A., 2000, Purification and properties of urease from the leaf of mulberry, *Morus alba*, *Phytochemistry*, 53, 325-330
- Horn, J., 2000, The proton pump inhibitors: similarities and differences, *Clinical Therapeutics* Vol, 22, 266-280.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Hurlimann, J., Saraga, E.P., 1994, Expression of p53 protein in gastric carcinomas: Association with histologic subtype and prognosis. *Am J Surg Pathol* 18 (12) : 1247-1253.
- Jensen, S.J.K., 2003. Oxidative Stress and Free Radicals. *Journal of Molecular Structure*, 666–667: 387–392.
- Kahkonen, M.P., Hoppa, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., 1999. Antioxidant Activity of Plant Extract Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food. Chem.*, 47, 3954-3962.
- Kam Chuen Lai, M.R.C.P., Shiu Kum Lam, M.D., Kent Man Chu, F.R.C.S., Benjamin C.Y., Wong, M.D., Wai Mo Hui, M.D., Wayne H.C., Hu, M.R.C.P., George, K.K., Lau, M.D., Wai Man Wong, M.R.C.P., Man Fung Yuen, M.R.C.P., Annie, O.O., Chan, M.R.C.P., Ching Lung Lai, M.D., John Wong, F.R.A.C.S., 2002, Lansaprazole for the prevention of recurrences of ulcer complications from long-term low dose aspirin use, *The New England Journal of Medicine*, 26, 2033-2038.
- Kayaalp, O.S., 2005, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 975-8506-27-7.
- Kayastha, A.M., Das, N., 1999, A simple laboratory experiment for teaching enzyme immobilization with urease and its application in blood urea estimation, *Biochemical Education*, 27, 114-117.
- Kot, M., Zaborska, W., Juszkiwicz, A., 2000, Inhibition of jack bean urease by thiols calorimetric studies, *Thermochimica Acta*, 354, 63-69.
- Krajewska, B., Zaborska, W., Leszko, M., 2001, Inhibition of chitosan-immobilized urease by slow-binding inhibitors, *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic*, 14, 101-109.
- Keskin, H., Erkmén, G., 1987. Besin Kimyası. Güryay Matbaacılık, Beşinci Basım, İstanbul.
- Khattak, F. K., 2012. Free Radical Scavenging Activity, Phytochemical Composition and Nutrient Analysis of E.U. Berry. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 6 (39), pp. 5196-5203, 10, October.
- Krinsky, N. I., 1993. Actions of Carotenoids in Biological Systems. *Annual Review of Nutrition*, 13, 561-587.

- Kuipers, E.J., Uytterlinde AM, Pera AJ et al. 1995, Long term sequelae of H.Pylori gastritis. *Lancet* 345:1525-1528.
- Levi, S., Beardshail, K., Haddad, G., Playford, R., Ghosh, P., Çalam, J.: C. 1989, Pylori and duodenal ulcers : The Gastin link. *Lancet* 1:1167-1168.
- Lodhi, M.A., Hussain, J., Abbasi, M.A., Jassbi, A.R., Choudhary, M.I., Ahmad, V.U., 2005, A new *Bacillus pasterii* urease inhibitor from *Euphorbia decipiens*, *Jornual of Enzyme Inhibition and Medical Chemistry*, 21, 531-535.
- Lubbers, M.W., Rodrigues, S.B., Honey, N.K., Thornton, R.J., 1996, Purification and characterization of urease from *Schizosaccharomyces pombe*, *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 132-140.
- Marshall, B.J., Warren, J.R., 1983, Unidentified curved bacili on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1:1273-1275.
- Megraud, F., 1993, Epidemiology of H.Pylori infection. *Gastroenterol Clin North Am* 22(1):73-88.
- Mobley, H.L.T., 1996, The role of H.Pylon ürease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration: *Aliment Pharmacol Ther* 10 (suppl. 1): 57-64.
- Murray, R.K., Granner, D.K., MayeS, P.A., Ersoz, B., Dikmen, N.,Mentes, G., ÖzgüneN, T., 1993, Harper'ın Biokimyası, Barış Kitapevi, 978-975-953-311-3.
- Mohamed, R., Pineda, M., Aguilar, A., 2007. Antioxidant Capacity of Extracts From Wild and Crop Plants of the Mediterranean Region. *Journal of Food Sciences*. 72, 1, 59-63.
- Motamed, S. M., Naghibi, F., 2010. Antioxidant Activity of Some Edible Plants of the Turkmen Sahra Region in Northern Iran. *Food Chemistry*, 119, 1637-1642.
- Nagata, M., Yamashita, I., 1992. Simple Metod for Simultaneous Determinaation of Chlorophyll and Caratoneoids in Tomato Fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakaish*, 39(10), 925-928.
- Niki, E., 1991. Action of Ascorbic Acid as a Scavenger of Activite and Stable Oxygen Radicals. *Am J Clin Nutr*, 54, 6, 1195-1124.
- Nishimiki, M., Rao, N.A., Yagi, K., 1972. The Occurrence of Superoxide Anion in the Reaction of Reduced Phenazine Methosulfate and Moleculer Oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46, 849-853.
- Nouma, A., Stemmeman, G.N., Chyou, P., et al. 1991, H.Pylori infection and gastnc carcinoma among Japanese Amencans in Hawaii. *N Engl J Med* 325:1332-1336.
- Ong, A.S.H., Tee, E.S.,1992. *Methods in Enzymology* (Packer,L.,ed.). Academic Press, New York, 13, 142-167.
- Osawa, H., Inoue, F., Yoshido, Y., 1996, İnverse relation of serum H.Pylori antibody titreş and extent of intestinal metaplasia. *J Clin Pathol* 49: 112-115.

- Oyaizu, M., 1986. Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Products of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Özen, T., 2003. Bazı Bitkilerin Antioksidant Aktivitesinin *In vitro* ve *In vivo* Araştırılması. Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Özer, B., Serin, E., Coşar, A., Kayaselçuk, F., Gür, G., Yılmaz, U., Boyacıoğlu, S., 2004, *Helicobacter pylori* eradikasyon tedavisinde lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin ile ranitidin bizmut sitrat, lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin rejimlerinin etkinliğinin karşılaştırılması, *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 3, 125-128.
- Özyürek, M., Bektaş, B., Güçlü, K., Apak, R., 2008. Hydroxyl Radical Scavenging Assay of Phenolics and Flavonoids with a Modified Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) Method Using Catalase for Hydrogen Peroxide Degradation. *Analytica Chimica Acta*, 616, 196–206.
- Palozza, P., Krinsky, N., 1992. Methods in Enzymology (Packer, L.,ed.). Academic Press, New York, 213, 403-420.
- Pamdavati, M., Sakhivel, N., Thara, K.V., Reddy, A.R., 1997. Differential Sensitivity of Rice Pathogens to Growth Inhibition by Flavonoids. *Phytochemistry*, 46, 3, 499-502.
- Parsonnet, J., Vandersteen, D., Goates, J., et al: 1991, *Helicobacter pylori* in intestinal and diffuse type gastric adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 83: 640.
- Peek, R., Miller, G. G., Tham, K. T., et al. 1995, Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to CağA +*Helicobacter pylori* strains. *Lab Invest* 71:1237-1241.
- Pehlivan, M., Güteryüz, M., 2004. Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*, 33 (1-2) : 51-57.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
- Qin, Y., Cabral, J.M.S., 2002, Properties an application of urease, *Biocatalysis and Biotransformation*, 20, 1-14.
- Rates, S. M. K., 2001. Plants as source of drugs, *Toxicon*, 39, 603–613.
- Rathee, J.S., Hassarajani, S.A., Chattopadhyay, S., 2006. Antioxidant Activity of *Mammea longifolia* bud Extracts. *Food Chem.*, 99: 436-443.
- Ravi Charan Reddy, K., Kayastha, M.A., 2006, Boric acid and boronic acids inhibition of pigeonpea urease, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21, 467-470.

- Re, R., Pellegrini, N., Protrgente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant Activity Applying an Imporeved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Madicine*, 26: 1231-1237.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1997. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds. *Trends in Plant Science*, 2: 152-159.
- Rudi, J., Rudy, A., Maiwald, M., Kuck, D., Sieg, A., Stremmel, W. 1999, Direct determination of Helicobacter Pylori vac A genotypes and cağ A gene in gastric biopstes and relationship to gastrointestinal disease. *The Am J Gastroenterol* vol:94 no:6, 1525-1531.
- Ruiz, B., Correa, P., Foniham, E. T. H., 1996, Ramaknshnan T. Antral atrophy, Helicobacfer Pylon, colonization and gastric pH. *Am J Clin Pathol*, 105:96- 101.
- Saban, N., Bujak, M., 2009, Hydroxyurea and hydroxamic acid derivatives as antitumor drugs, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64, 213-221.
- Saldamlı, İ., 1998. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- Sarıkürkçü, C., 2009. Akdeniz Bölgesi Yenilebilir Bazı Mantarlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Satoh, K., Kimura, K., Yusht, T., et al. 1996, Distribution of infiamation and atrophy in the stomach of H.Pylori (+) and patients with chronic gastritis. *Am J Gasîroenterol* 91 (5): 963-969.
- Semba, S., Yokozaki, H., Yamamoto, S., et al: 1991, Microsatellite instability in Scharah GJ, Sobola GM, Sanderson M et al: Gastric juice ascorbic acid effects of disease and implication for gastric carcinogenesis. *Am J Clin Nutr*; 53(suppl 1): 2875-2939.
- Sies, H., Stahl, W., 1995. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 1315-1321.
- Simirnoff, N., Cumbes, Q.J., 1989. Hydroxyl Radical Scaevenging Activity of Compatible Solutes. *Phytoecemistry*, 28(4), 1057-1060.
- Singhal, R., Gambhir, A., Pandey, M.K., 2002, Immobilization of urease on poly (N-vinyl carbazole)/stearic acid Langmuir-Blodgett films f application to urea biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 17, 697-703.
- Singleton, V. L., Rossi, Jr., J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic Acid Reagentz. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Sirko, A., Brodzik, R., 2000, Review: Plant ureases: Roles and regulation, *Acta Biochimica Polonica*, 47, 1189-1195.
- Solcia, E., 1999, The role of H. Pylon infection in gastnc Pathology. *Rev Esp Patol* vol 32, No 3: 265-266, 1999 key note lecture 4 from European Congress of Pathology Barcelona , Spain.
- Stace, C. A., 1980. Plant taxonomy and Biosystematics, Edward Arnold, London.

- Stemmermann, G., Heffelfinger, S.C., Noffsinger, A., et al: 1994, The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: oncogenes, tumor suppressor genes and growth factors. *Hum Pathol* 25:968-81.
- Takashima, K., Suga, T., Mamiya, G., 1988, The structure of jack bean urease the complete amino acid sequence limited proteolysis and reactive cysteine residues, *European Journal of Biochemistry*, 175, 151-165.
- Tanaka, T., Kawase, M., Tani, S., 2003, Urease inhibitory activity of simple  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketones, *Life Sciences*, 73, 2985-2990.
- Tanaka, T., Kawase, M., Tani, S., 2004,  $\alpha$ -Hydroxyketones as Inhibitors of urease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, 501-505.
- Tepe, B., Akpulat, H.A., Sokmen, M., Daferera, D., Yumrutas, O., Aydın, E., Polissiou, M., Sokmen, A., 2006. Screening of the Antioxidative and Antimicrobial Properties of the Essential Oils of *Pimpinella anisatum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food chem.*, 97: 719-724.
- Türkcan, O., Ökmen, G., 2012. Mikrobiyal Karotenoidler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1): 115-122.
- Uddin, G., Rauf, A., 2012. Phytochemical Screening and Biological Activity of the Aerial Parts of *Elaeagnus umbellata*. *Scientific Research and Essays*. Vol. 7 (43), pp. 3690-3694, 5 November.
- Uesato, S., Hashimoto, Y., Nishino, M., Nagaoka, Y., Kuwajima, H., 2002, N-Substituted hydroxyureas as urease inhibitors, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50, 1280-1282.
- Wadstrom, T., Hirno, S., Boren, T., 1996, Biochemical aspects of *Helicobacter Pylori* colonization of the human gastric mucosa. *Aliment Pharmacol Ther* 10 (suppl 1): 17-27.
- Weber, M., Jones, M.J., Ulrich, J., 2008, Optimisation of isolation and purification of the jack bean enzyme urease by extraction and subsequent crystallization, *Food and Bioproducts Processing*, 86, 43-52.
- Wee, A., Kang, J.Y., Ten, M., 1992, *Helicobacter Pylori* and gastric cancer: correlation with gastritis, intestinal metaplasia and tumor histology. *Gut* 33:1029-1032.
- Yalçın, G., 2012. İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) Bitkisinin Çeşitli Kısımlarının Kimyasal Bileşenlerinin Farklı Yöntemler Kullanılarak Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Ege üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya (Eczacılık) Programı, İzmir, 326401.
- Yang, J., Guo, J., Yuan, J., 2008. *In vitro* Antioxidant Properties of Rutin. *LWT* 41, 1060-1066.
- Yavuz, T., Aslan, D., Güner, G. ve Kutay, F. Z., 2002. Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yöntemi, Türk Biyokimya Derneği Yayınları.
- Zhang, L., Mulrooney, S.B., Leung, A.F.K., Zeng, Y., Ko, B.B.C., Hausinger, R.P., Sun, H., 2006, Inhibition of urease by bismuth (III) : Implications for the

mechanism of action of bismuth drugs, *Bimedical and Life Sciences*, 19, 503-511.

Zhao, G.R., Xiang, Z.J., Ye, T.X., Yuan, Y.J., Guo, Z.X., 2006. Antioxidant activities of *Salvai miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. *Food Chemistry*, 99, 4, 767-774.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. *Food Chem.* 64: 555-559.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı :** Semiha YENİGÜN

**Doğum Yeri ve Tarihi :** Çanakkale 26.07.1988

**Adres :** Barbaros Mah. Badem Sok. Eris Apt. No:13 D:8 Merkez / Çanakkale

**E-Posta :** cocukdr-sem-hay@windowslive.com

**Lisans :** Ondokuz Mayıs Üniversitesi

## TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- Özen T. ve Yenigün S., 2015: Güz Yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Araştırılması. 27. Ulusal Kimya Kongresi, Ağustos 23-28, 2015 Çanakkale, Türkiye.
- Özen T., Yenigün S. ve Demirtaş İ., 2015: Güz Yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Antiproliferatif, Üreaz, Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz İnhibisyon Aktivitelerinin Araştırılması, 27. Ulusal Kimya Kongresi, Ağustos 23-28, 2015 Çanakkale, Türkiye.