

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***PİSTACİA VERA* EKSTRELERİNİN**
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ İLE BAZI
KANSER HÜCRE HATLARINDAKİ SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Erkin Can KARAOĞLU

Ekim, 2019

İZMİR

***PİSTACIA VERA* EKSTRELERİNİN
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ İLE BAZI
KANSER HÜCRE HATLARINDAKİ SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı

Erkin Can KARAOĞLU

Ekim, 2019

İZMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

ERKİN CAN KARAOĞLU, tarafından PROF.DR. LEMAN TARHAN yönetiminde hazırlanan “*PİSTACIA VERA* EKSTRELERİNİN ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ İLE BAZI KANSER HÜCRE HATLARINDAKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof.Dr. Leman TARHAN

Yönetici



Prof. Dr. Tülin Aydemir

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Raziye Öztürk Ülkü

Jüri Üyesi



Prof.Dr. Kadriye ERTEKİN

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Tez konumu belirleyen ve çalışmalarımın her aşamasında beni destekleyen, hiçbir yardımını esirgemeyerek bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta danışman hocam sayın Prof. Dr. Leman TARHAN olmak üzere Biyokimya Anabilim dalında katkı sağlayan tüm hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Sadece bu süreçte değil hayatım boyunca bana her konuda destek olup, yardımlarını esirgemeyen aileme de sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Erkin Can KARAOĞLU

***PİSTACIA VERA* EKSTRELERİNİN ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ İLE BAZI KANSER HÜCRE HATLARINDAKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

ÖZ

Türkiye'nin akdeniz ve güney doğu bölgelerinde yaygın yayımlı ve ticari olarak yetiştirilen tek tür olan *Pistacia vera*'nın atık niteliği taşıyan kabuklarının gerek gıda sektöründe koruyucu destek maddesi gerekse sağlık sektöründe anti kanserojen olarak uygulanabilirliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla Antep, Siirt, Urfa yörelerinden temin edilen *P.vera* meyve kabuklarından hazırlanan ekstrelerde fenolik bileşiklerden; flavonol, flavon, flavan-3ol, flavanon ve fenolik asitler HPLC yöntemiyle belirlenmiş olup bu fenolik bileşenler arasında gallik, prokateşuik, 4-hidroksi-benzoik, benzoik asit ve kersetin ön plana çıkmıştır. *P.vera* Siirt, Urfa ve Antep örnek ekstrelerinin DPPH ve hidroksil radikal sönmeme kapasitelerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 2,08-47,99 ve 4,93-32,83 ppm aralığındadır. *Pistacia vera* kabuk ekstrelerinin metal şelatlama ve indirgeme gücü potansiyelleri de değerlendirildiğinde IC₅₀ değeri sırasıyla 0,453-16,338 mg/ml ve 148,38-9,41 ppm-Vit-C_{Eq} aralığında belirlenmiştir. HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 kanser hücre hatlarına *P. vera* Antep, Siirt ve Urfa örneklerinin fenolik bileşen ekstrelerinin anti proliferatif etkileri incelendiğinde; en iyi IC₅₀ değeri inkübasyonun 24. saatinde sırasıyla Antep-flavanon, Urfa katı fazın baz hidrolizi sonrası asit hidrolize, Antep Urfa katı fazın baz hidrolizi ve Siirt katı fazın asit hidrolize ekstreleri için 25; 25; 45 ve 28 ppm olarak belirlenmiştir. Sonuçlar *P. vera* dış kabuğunun fenolik bileşenlerden gallik asit için önemli bir kaynak olduğu; tüm antioksidan özelliklerinin literatür verileriyle kıyaslandığında iyi olarak tanımlanabileceği; kanser hücre hatlarından HeLa, MCF-7 ve ACC-201'nin yanı sıra özellikle literatür verilerine göre dirençli bir kanser hücre hattı olan OE-33'de de etkililiğinin dikkati çektiği belirtilebilir.

Anahtar kelimeler: *Pistacia vera*, polifenol, fenolik asit, gallik asit, 4-hidroksi-benzoik asit, kersetin, DPPH, hidroksil radikal sönmeme, metal şelatlama, indirgeme gücü kapasitesi, HeLa, MCF-7, OE-33, ACC-201 hücre hatları, sitotoksiste

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC EFFECTS ON SOME CANCER CELL LINES OF *PISTACIA VERA* EXTRACTS

ABSTRACT

Pistacia vera is grown widely for commercial purposes in the Mediterranean and southern regions of Turkey. The aim of this thesis is to investigate the usability of *P. vera* skins, which is an industrial-waste, as antioxidants in the food-industry and anti-carcinogenic substances in the health sector. Therefore, the flavonols, flavon, flavan-3-ol, flavanone, and phenolic acids extracts prepared by *P. vera* fruit shells from Antep, Siirt and Urfa regions were determined and identified prominent components; gallic, protocatechuic, 4-hydroxy-benzoic, benzoic acid. The IC₅₀ values of DPPH and hydroxyl radical scavenging capacities of *P. vera* extracts were in the range of 2.08-47.99 and 4.93-32.83 ppm, respectively. When the metal chelating and reducing potentials of *P. vera* shell extracts were evaluated, IC₅₀ values were determined in the range of 0.453-163.638 mg/ml and 148.38-9.41 ppm-Vit-C_{Eq} respectively. Anti-proliferative effects of phenolic component extracts of *P. vera* were investigated for HeLa, MCF-7, OE-33 and ACC-201 cancer cell lines. The best IC₅₀ values for each cell lines were obtained with -Antep-flavanone (25ppm), -base and then acid hydrolyzed of Urfa solid phase (25ppm), -base hydrolyzed of Antep-Urfa solid phase(45ppm) and -acid hydrolyzed extracts of Siirt solid phase (28 ppm), respectively, at 24 hours of incubation. To the results, *P. vera* outer shell is an important source for gallic acid, which is one of the phenolic components, and all antioxidant properties can be defined as good when compared with the literature data; cancer cell lines HeLa, MCF-7 and ACC-201, as well as a particularly resistant cell line OE-33 can be mentioned as remarkable features.

Keywords: *Pistacia vera*, polyphenol, phenolic acid, gallic acid, 4-hydroxy-benzoic acid, quercetin, DPPH, hydroxyl radical scavenging, metal chelating, reducing power capacity, HeLa, MCF-7, OE-33, ACC-201 cell lines, cytotoxicity

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZ	iv
ABSTRACT.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi

BÖLÜM BİR - GİRİŞ..... 1

1.1 Bitki ve Kanser	2
1.2 Reaktif Oksijen Türleri ve Antioksidanlar	5
1.2.1 Singlet Oksijen	6
1.2.2 Süperoksit Anyon Radikali	7
1.2.3 Hidroksil Radikali	8
1.2.4 Hidrojen Peroksit.....	9
1.2.5 Peroksil Radikali	11
1.2.6 Reaktif Azot Türleri	11
1.2.7 Antioksidan Savunma Sistemleri	13
1.2.7.1 Enzimatik Antioksidanlar	14
1.2.7.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)	14
1.2.7.1.2 Katalaz	15
1.2.7.1.3 Glutasyon Peroksidaz.....	16
1.2.7.1.4 Glutasyon Redüktaz	18
1.2.7.1.5 Glutasyon S-Transferaz.....	20
1.2.7.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	20
1.2.7.2.1 Glutasyon	20
1.2.7.2.2 Vitamin C.....	24
1.2.7.2.3 Vitamin E.....	25
1.2.7.2.4 Karatoinidler	26
1.2.7.2.5 Polifenoller	28

1.2.7.2.6 Polifenollerin Antioksidan Özellikleri.....	52
1.3 Reaktif Oksijen Türleri ve Hücre Ölümü (Apoptozis).....	55
1.4 <i>P. vera</i> ile Yapılmış Çalışmalar	60
BÖLÜM İKİ - MATERYAL VE METOD	66
2.1 <i>Pistacia vera</i> örneklerinin Hazırlanması.....	66
2.2 Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve HPLC Analizleri.....	67
2.2.1 Flavonol Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi	67
2.2.2 Flavon Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi	67
2.2.3 Flavonol Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi	68
2.2.4 Flavan-3-ol Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi.....	68
2.2.5 Fenolik Asit Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC İle Analizi	69
2.2.5.1 Serbest ve Asit-Baz Hidrolizli Fenolik Asitler	69
2.2.6 Metanol/Su Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC İle Analizi	70
2.2.7 Etilasetat/Su Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC İle Analizi.....	71
2.3 Fenolik Bileşenlerin Antioksidan Aktivite Tayinleri	71
2.3.1 DPPH Radikal Sönümle Aktivitesi	71
2.3.2 Hidroksil Radikal Sönümleme Kapasitesi.....	71
2.3.3 Metal Şelatlama Kapasitesi	72
2.3.4 İndirgeme Gücü Aktivitesi	72
2.4 Hücre Kültürü Uygulamaları.....	73
2.4.1 MTT Hücre Proliferasyonu Uygulaması.....	73
BÖLÜM ÜÇ - TARTIŞMA VE SONUÇ	74
3.1 <i>Pistacia vera</i> Ekstraktlarının Fenolik Bileşenlerinin Aydınlatılması.....	74
3.2 <i>Pistacia vera</i> Ekstraktlarının Antioksidan Kapasiteleri	119
3.2.1 DPPH Sönümleme Kapasitesi	120
3.2.2 OH [•] Radikal Sönümleme Kapasitesi	122
3.2.3 Metal Şelatlama Kapasitesi	123
3.2.4 İndirgeme Gücü.....	124

3.3 <i>Pistacia vera</i> Ekstrelerinin HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 Kanser Hücre Hatlarına Antiproliferatif Etkileri.....	124
KAYNAKLAR	140



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 Türkiye’de yetişen <i>Pistacia vera</i> çeşitleri	4
Şekil 1.2 Oksijen formları	6
Şekil 1.3 Serbest radikallerin oluşumu ve GSH dönüşümleri.....	19
Şekil 1.4 Oksidatif stres yönetiminde glutatyon (GSH) ve diğer antioksidanların (Vitamin E, Vitamin C, lipoik asit) çeşitli yolaklardaki redoks dengeleri	23
Şekil 1.5 Çeşitli askorbik asit biçimleri ve radikallerle reaksiyonu	24
Şekil 1.6 Karetonoid yapısı	27
Şekil 1.7 Flavanoid alt sınıfları	30
Şekil 1.8 Flavanoidlerin kantitatif olarak az olan alt sınıfları	30
Şekil 1.9 Flavonol alt sınıfları	32
Şekil 1.10 Flavon alt sınıfları	35
Şekil 1.11 Bazı flavan-3-ol yapıları	38
Şekil 1.12 Fenolik oksidasyon ve radikal formasyonu	39
Şekil 1.13 Çeşitli flavanon yapıları	42
Şekil 1.14 Temel antosiyanidin yapıları	45
Şekil 1.15 Antosiyanidin yapıları: malvidin-3-O-glukozit konjugatları	45
Şekil 1.16 Ana izoflavon yapıları	46
Şekil 1.17 Başlıca fenolik asitler	48
Şekil 1.18 Fenolik asitler için şikimik asit yolağı	49
Şekil 1.19 Hücre ölüm şekilleri	56
Şekil 1.20 ROS ve apoptozis	59
Şekil 3.1a <i>Pistacia vera</i> örneklerinin sınıflandırılması	76
Şekil 3.1b <i>Pistacia vera</i> fenolik asitlerinin sınıflandırılması	77
Şekil 3.2 <i>P. vera</i> ekstraktlarının HPLC’de belirlenen flavonol sonuçları	78
Şekil 3.3 <i>P. vera</i> ekstraktlarının HPLC’de belirlenen flavon sonuçları	79
Şekil 3.4 <i>P. vera</i> metanol ekstraktlarının HPLC’de belirlenen flavan-3-ol sonuçları ..	80
Şekil 3.5 <i>P. vera</i> asit hidroliz ekstraktlarının HPLC’de belirlenen flavan-3-ol sonuçları	81
Şekil 3.6 <i>P. vera</i> ekstraktlarının HPLC’de belirlenen flavanon sonuçları	82
Şekil 3.7 Antep <i>P. vera</i> ekstraktlarının HPLC’de belirlenen SFA sonuçları	83

Şekil 3.8 Siirt <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen SFA sonuçları.....	84
Şekil 3.9 Urfa <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen SFA sonuçları	85
Şekil 3.10 Antep <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen BHFA sonuçları.....	86
Şekil 3.11 Siirt <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen BHFA sonuçları	87
Şekil 3.12 Urfa <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen BHFA sonuçları	88
Şekil 3.13 Antep <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen AHFA sonuçları	89
Şekil 3.14 Siirt <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen AHFA sonuçları	90
Şekil 3.15 Urfa <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen AHFA sonuçları.....	91
Şekil 3.16 Antep <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Kb ₁ sonuçları	92
Şekil 3.17 Siirt <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Kb ₁ sonuçları.....	93
Şekil 3.18 Urfa <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Kb ₁ sonuçları	94
Şekil 3.19 Antep <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka ₂ sonuçları	95
Şekil 3.20 Siirt <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka ₂ sonuçları	96
Şekil 3.21 Urfa <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka ₂ sonuçları.....	97
Şekil 3.22 Antep <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka ₁ sonuçları	98
Şekil 3.23 Siirt <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka ₁ sonuçları	99
Şekil 3.24 Urfa <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka ₁ sonuçları.....	100
Şekil 3.25 Antep <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Kb ₂ sonuçları	101
Şekil 3.26 Siirt <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Kb ₂ sonuçları.....	102
Şekil 3.27 Urfa <i>P. vera</i> ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Kb ₂ sonuçları	103
Şekil 3.28 Antep <i>P. vera</i> 3/2 metanol/su ekstrlerinin HPLC sonuçları.....	104
Şekil 3.29 Siirt <i>P. vera</i> 3/2 metanol/su ekstrlerinin HPLC sonuçları.....	104
Şekil 3.30 Urfa <i>P. vera</i> 3/2 metanol/su ekstrlerinin HPLC sonuçları	105
Şekil 3.31 Antep <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi su fazının HPLC sonuçları	105
Şekil 3.32 Siirt <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi su fazının HPLC sonuçları	107
Şekil 3.33 Urfa <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi su fazının HPLC sonuçları.....	107
Şekil 3.34 Antep <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi etil asetat fazının HPLC sonuçları	109
Şekil 3.35 Siirt <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi etil asetat fazının HPLC sonuçları	109
Şekil 3.36 Urfa <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi etil asetat fazının HPLC sonuçları	110

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1 Tıbbi bitkilerin temel kimyasal bileşenlerinin anti-kanser aktiviteleri.....	3
Tablo 3.1 <i>Pistacia vera</i> örnek ekstralarının hazırlanmasında kullanılan yöntemler..	75
Tablo 3.2 <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen flavonol miktarları	76
Tablo 3.3 <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen flavon miktarları.....	79
Tablo 3.4 <i>P. vera</i> metanol ekstralarının HPLC’de belirlenen flavan-3-ol miktarları	80
Tablo 3.5 <i>P. vera</i> asit hidroliz ekstralarının HPLC’de belirlen flavan-3-ol miktarları	81
Tablo 3.6 <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen flavanon miktarları.....	82
Tablo 3.7 Antep <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen SFA miktarları.....	83
Tablo 3.8 Siirt <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen SFA miktarları.....	84
Tablo 3.9 Urfa <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen SFA miktarları	85
Tablo 3.10 Antep <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen BHFA miktarları	86
Tablo 3.11 Siirt <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen BHFA miktarları	87
Tablo 3.12 Urfa <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen BHFA miktarları.....	88
Tablo 3.13 Antep <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen AHFA miktarları	89
Tablo 3.14 Siirt <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen AHFA miktarları	90
Tablo 3.15 Urfa <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen AHFA miktarları.....	91
Tablo 3.16 Antep <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb ₁ miktarları.....	92
Tablo 3.17 Siirt <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb ₁ miktarları.....	93
Tablo 3.18 Urfa <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb ₁ miktarları	94
Tablo 3.19 Antep <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka ₂ miktarları	95
Tablo 3.20 Siirt <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka ₂ miktarları.....	96
Tablo 3.21 Urfa <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka ₂ miktarları	97
Tablo 3.22 Antep <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka ₁ miktarları	98
Tablo 3.23 Siirt <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka ₁ miktarları.....	99
Tablo 3.24 Urfa <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka ₁ miktarları	100
Tablo 3.25 Antep <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb ₂ miktarları.....	101
Tablo 3.26 Siirt <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb ₂ miktarları.....	102
Tablo 3.27 Urfa <i>P. vera</i> ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb ₂ miktarları	103

Tablo 3.28 <i>P. vera</i> 3/2 metanol/su ekstrelerinin HPLC’de belirlenen fenolik bileşenlerinin miktarları.....	106
Tablo 3.29 <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi su fazında belirlenen fenolik bileşiklerinin miktarları.....	108
Tablo 3.30 <i>P. vera</i> 7/3 etil asetat/su ekstresi etil asetat fazında belirlenen fenolik bileşiklerinin miktarları.....	111
Tablo 3.31 <i>P. vera</i> ekstrelerinde belirlenmiş fenolik bileşikler ve miktarları	112
Tablo 3.32 <i>P. vera</i> ekstrelerinde belirlenmiş hidroksibenzoik asit türevleri ve miktarları.....	113
Tablo 3.33 <i>P. vera</i> ekstrelerinde belirlenmiş hidroksisinnamik asit türevleri ve miktarları.....	114
Tablo 3.34 <i>Pistacia vera</i> fenoliklerinin antioksidan özellikleri.....	121
Tablo 3.35 Flavonoid alt grup ekstrelerinin IC ₅₀ değerleri.....	126
Tablo 3.36 Fenolik asit ekstrelerinin IC ₅₀ değerleri.....	127

BÖLÜM BİR

GİRİŞ

Bitkiler, insan yaşamı için gerekli karbohidratların, proteinlerin ve yağların ana kaynağıdır. Bilinen 30000 doğal ürünün yaklaşık % 80'inden fazlası bitki kökenli olup, kullanımları tıp tarihi kadar eski ve evrenseldir (Phillipson, 1990; Balandrin ve Klocke, 1988; Fowler ve Scragg, 1988). Bitkilerin terapötik amaçlı kullanımı Sümerlere kadar dayanmakta olup M.Ö. 400'de Hipokrat'ın, tıbbi amaçlı 400 farklı bitki türü kullandığı bilinmektedir. Doğal ürünler halen; Çin, Hindistan ve Mısır gibi ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde de modern ilaçların çoğu doğal kaynaklı terapötik ajanlardan türetilmektedir. Uluslararası Doğa Koruma Birliği ve Dünya Doğal Yaşam Fonu'na göre, dünya çapında tıbbi amaçlı kullanılan 50000 ile 80000 çiçekli bitki türü bulunmaktadır (Bentley, 2010).

Cragg ve diğer. (1997) gerçekleştirdikleri derlemenin sonuçlarına göre 1983-1994 yılları arasında 520 yeni onaylanmış ilacın % 39'u ile antibakteriyel ve anti-kanser ilaçların da % 60-80'inin doğal veya doğal ürün türevleri olduğu bildirilmektedir. 2000 yılında, klinik kanser araştırmalarında kullanılan ilaçların yaklaşık % 60'ı doğal kaynaklıydı. Amerika'da şifalı bitkilerin kullanımı oranı; 1991'de %3 iken bu oran 1998'de % 37'ye yükselmiştir (Brevoort, 1998). Avrupa'da kullanılmakta olan 300'den fazla tıbbi bitkinin % 90'ı doğal kaynaklardan üretilmiş olup Amerika Birleşik Devletleri'nde de en çok satılan 150 reçeteli ilacın yaklaşık 118'si doğal kaynaklara dayanmaktadır (Balunas ve Kinghorn, 2005). 2001'de en çok satılan ilk 30 ilaçtan, doğal ürün ya da doğal ürün türevleri olan 8 ilacın toplam satış tutarları 16 milyar doları bulmaktadır. Ayrıca, gelişmekte olan ülkelerdeki insanların yaklaşık % 80'i, temel sağlık hizmetleri için bitkisel ilaçlara bağımlı olup, bu ülkelerde reçete ile yazılan ilaçların % 25'inden fazlasıda yine doğal bitki türlerinden türetilmektedir (Hamilton, 2004). Dünyada bitkisel ilaçlara, doğal sağlık ürünlerine ve tıbbi bitkilerin sekonder metabolitlerine artan talep ile birlikte şifalı bitkilerin kullanımı hızla artmaktadır (Nalawade ve diğer., 2003; Cole ve diğer., 2007).

1.1 Bitki ve Kanser

Bitkilerin anti-kanser özellikleri yüzyıllar boyunca bilinmektedir. Ulusal Kansere Enstitüsünde (NCI), potansiyel anti kanser araştırmalar amacıyla yaklaşık 35000 bitki örneği incelemiş bu bitkiler arasında tekrarlanabilir anti-kanser aktivitesi gösteren yaklaşık 3000 tür belirlenmiştir.

Kemoterapi, kanser tedavisinde rutin olarak kullanılmaktadır. Kanser hücreleri, normal hücrelerdeki regülasyon özelliklerinin çoğunu kaybettiğinden hücre bölünme hızları yüksektir. Bu özellik, kanser hücrelerini kemoterapötik ilaçlara duyarlı hale getirir. Bununla birlikte, kemoterapötik tedavilerin bir sonucu olarak çeşitli toksisiteler oluşabilir. Örneğin, yaygın olarak kullanılan bir kemoterapötik ilaç olan doksorubisin, kardiyak toksisitesi (Aviles ve diğer., 1993; Kilicalp ve diğer., 2005), böbrek toksisitesi (Manil ve diğer., 1995) ve miyelotoksisite oluşmasına neden olur (Gibaud ve diğer., 1994). Yine yaygın kullanılan siklofosfamidin, mesane toksisitesine neden olduğu bilinmektedir (Fraisier ve diğer., 1991). Mevcut ilaçların toksisite özellikleri kanser tedavi sürecinde önemli sorunlar oluşturmaktadır. Bu nedenle özellikle bitkisel kaynaklı yeni terapötik bileşenlerin keşfi büyük önem taşımaktadır. Günümüzde kullanılmakta olan kemoterapötiklerden; -Taksanlar (dosetaksel ve paklitaksel), - Epipodofilotoksinler (teniposid ve etoposid), - Vinka alkaloidler (vindezin, vinkristin ve vinblastin) ve -Kamptotesin türevleri (irinotekan ve kamptotesin) olmak üzere, dört farklı sınıfı oluşturan bitki kökenli kanser önleyici ajanlar bulunmaktadır. Bitkiler, yeni ilaçların üretiminde halen muazzam bir potansiyele sahiptir ve kansere karşı koruma sağlayabilecek doğal kimyasal kaynak niteliğini taşımaktadırlar. Bu bitkilerden bazıları Tablo 1.1’de belirtilmiştir (Desai ve diğer., 2008).

Bitkilerin bir diğer önemli özellikleri de antioksidan kapasitelerine dayanmaktadır. Oksijenli ortamlarda yaşamlarını sürdüren canlıların metabolizmalarında internal ve eksternal faktörlere bağımlı olarak çeşitli reaktif oksijen türleri (ROS) üretilmektedir. Radikallerin reaktif özellikleri nedeniyle hücre içinde biyomoleküllere verebilecekleri zararlar bitkilerden alınan antioksidan bileşikler desteğiyle sönmülerek giderilir.

Tablo 1.1 Tıbbi bitkilerin temel kimyasal bileşenlerinin anti-kanser aktiviteleri

Bitki Adı	Ana Kimyasal Bileşen	in vitro Etkileri	in vivo Etkileri
<i>Tinospora cardifolia</i>	20- β -hidroksekdistreon, Cordioside, Columbin	-HeLa hücrelerine karşı sitotoksik (Jagetia ve diğer., 1998)	-Ehrlich asit karsinomalı farelerde anlamlı tümör regresyonu ve sağkalım (Jagetia ve Rao, 2006)
<i>Centella asiatica</i>	Hidroksitolin, sterol, flavonoidler, vallerine, pektik asit, Asiatikosid Stigmasterol ve askorbik asit	- <i>C. asiatica</i> 'nın yaprak özütü, doza bağımlı olarak, dönüştürülmüş hücre hatlarının proliferasyonunu engeller (Babu ve diğer. 1995) -DNA sentezinin inhibisyonuna bağlı antitümör aktivite (Babu ve diğer. 1995)	
<i>Mappia foetida</i>	Kamptotesin	-Lösemiye karşı etkili bir kemoterapi ilacı (Wall ve Wani, 1996) -HeLa ve L-120 hücrelerinde nükleik asit sentezi inhibitörü (Wall ve Wani, 1977) -Topoizomerez-1'i inhibe eder (Potmesil, 1994) -İnsan kolon kanseri hücrelerinin ve rabdomyosarkom hücrelerinin büyümesini yavaşlatır (Potmesil, 1994)	-Lenfoma, lösemi ve katı epitel tümörlerine karşı yapılan Faz II çalışmalar (Slichenmyer ve diğer., 1993) -Ksenograft model sisteminde meme karsinomasının kısmi veya tamamen remisyonunu indükler (Potmesil, 1994)
<i>Boswellia serrata</i>	Triterpenik asitler	-Topoizomerez I ve II'yi inhibe eder (Lee ve diğer., 1996) -HL-60'ın DNA sentezi ve hücre büyümesini inhibe eder (Shao ve diğer., 1998) -Çeşitli kanser hücre dizilerinde apoptozu indükler (Syrovets ve diğer., 2005; Hostanska ve diğer., 2002; Liu ve diğer., 2002)	-Beyin tümörlerine karşı etkili (Streffler ve diğer., 2001)
<i>Phyllanthus amarus</i>	Phyllanthin, phylltetralin, niranthrin, nirtetralin	- <i>Sacchromyces cerviacae</i> mutant hücre kültürlerinde topoizomerez I ve II'nin aktivitesini inhibe eder (Rajeshkumar, 2000) -Hücre döngüsü durdurur ve DNA onarımına müdahale eder (Rajeshkumar ve Kuttan, 2002) -Farklı kanser hücrelerinde hücre proliferasyonunu inhibe eder, cdc25 tirozin fosfataz aktivitesini inhibe eder (Rajeshkumar ve Kuttan, 2000)	-Bitki özütü, Lewis akciğer karsinoması taşıyan farelerde antianjiogenik etkilere sahiptir (Huang ve diğer., 2006) -Ekstraktının oral uygulaması, Dalton lenfoma asiti (DLA) ve Ehrlich asit karsinoması (EAC) taşıyan farelerde tümör boyutunu azaltır (Rajeshkumar ve diğer., 2002; Joy ve kuttan.,1998) -Bitki özütü, n-nitrosodietilamin (NDEA) ile indüklenen tümör insidansını azaltır (Joy ve Kuttan.,1998).

Türkiye iklim özellikleri, jeolojik yapısı ve coğrafi konumu itibariyle oldukça zengin bitki taksonuna sahiptir. Son zamanlardaki çalışmalarla birlikte Türkiye'nin 12000 civarında bitki taksonuna ev sahipliği yaptığı belirlenmiştir (Erik ve Tarıkahya, 2004). Endemik sözcüğü Yunanca "Indigenous (Endemos)" sözcüklerinden gelmekte olup, sınırlı yayılışa sahip bitkileri tanımlamak için kullanılmaktadır. Türkiye endemik türlerin sayısı 3000'den fazla olup endemizm oranı %34,4'dür (Özhatay, Byfield ve Atay, 2008). Peygamber çiçeği (*Centaurea*), sığırkuyruğu (*Verbascum*), geven (*Astragalus*) ve dağçayı (*Sideritis*) endemizm oranı en fazla olan bitki gruplarıdır. Bu bitki grupları Anadolu gen merkezli olup, *Verbascum* türlerinin endemizm oranı %85'e ulaşmaktadır (Erik ve Tarıkahya, 2004).

Pistacia, kozmopolit Anacardiaceae (sakız ağacıgiller) ailesinin 600'ün üzerinde türden oluşan yaklaşık 70 genusundan biridir. *Pistacia* genusunun türleri, kserofit ağaçlar olarak karakterize edilen ve 8–10 metreye kadar büyüyen, yaprak döken veya dökmeyen reçineli çalı ve ağaç formlarında olup Akdeniz havzasından Orta Asya'ya kadar yayılım göstermektedir. Türkiyede *Pistacia vera*, *Pistacia lentiscus* ve *Pistacia terebinthus* türleri bulunmaktadır. *P.vera* (Şekil 1.1), ticari olarak yetiştirilen tek tür olup kalan türler daha çok *P. vera* için kök gövde olarak kullanılmaktadır (Mozaffarian, 2005; Kole, 2011).



Şekil 1.1 Türkiye'de yetişen *Pistacia vera* çeşitleri (Kişisel arşiv, 2017)

Pistacia türlerinin terapötik kullanımlarının yanı sıra gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak Antep fıstığı (*P. vera*) (derMarderosian ve Beutler, 2010), atıştırmalık yiyecek veya kahve yapımında *P. terebinthus* (Durmaz ve Gökmen, 2011; Gogus ve diğer., 2011) ve ayrıca gıda renklendiricisi olarak da *P. lentiscus* meyveleri kullanılmaktadır (Longo, Sacrdino ve Vasapollo, 2007).

P. vera fenolik bileşenlerce zengin içeriğe sahip olup , flavonol, flavanon, flavan-3-ol, flavanon, flavon, fenolik asit, antosiyanin, izoflavon içerdiği çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir (Martorana ve diğer., 2013; Gentile ve diğer., 2007; Erşan ve diğer., 2016). Kalsiyum, Potasyum, Fosfat, Bakır gibi mineral ve A, B₁, B₂, B₆ gibi vitaminleri içeren Antep fıstığı, insan diyeti için önemli olan oleik, linoleik ve linolenik asitler gibi yağ asitlerini de içerir (Küçüköner ve Yurt, 2003).

1.2 Reaktif Oksijen Türleri ve Antioksidanlar

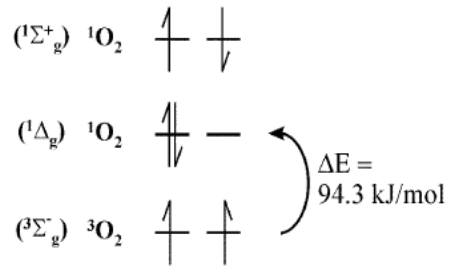
En dış yörüngesinde ortaklanmamış elektron içeren bir atom serbest radikal olarak tanımlanır. Yüksek reaktivitelerinden dolayı serbest radikaller, biyolojik moleküllere hücum ederek sönmülediği sırada oksidatif hasara neden olurlar. (Harmon, 1956). Radikallerin en yaygın türleri; "Reaktif Oksijen Türleri" (ROS) ve "Reaktif Azot Türleri" (RNS) ve "Nitrik Oksit Türleri" (NOS)'dir. Başlıca reaktif oksijen türleri; singlet oksijen, süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, peroksil radikalleridir.

Radikallerin canlı sistemler için zararlı veya yararlı etkileri olabilir (Valko ve diğer., 2004). Ayrıca radikallerin, bulaşıcı ajanlara karşı savunmanın yanı sıra bir dizi hücrel sinyal sisteminde olduğu gibi yararlı fizyolojik rolleri de bulunmaktadır. Hücrede düşük ROS derişimi, mitojenik bir tepkinin başlatıcısıdır. Yüksek ROS derişimi ise oksidatif stres nedeni olarak tanımlanır. Hücredeki ROS düzeyleri ile antioksidan sistemler arasındaki dengenin ROS lehine bozulması halinde hücrede oksidatif stres meydana gelir (Halliwell, 1996). Hücrelerde ROS'ların zararlı etkilerini gidermede rol oynayan antioksidan sistemler enzimatik ve enzimatik olmayanlar olmak üzere 2 grupta ele alınır.

Antioksidan özellik gösteren enzimler süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GSHPx) ve enzimatik olmayan antioksidanlar ise glutasyon (GSH), A, C ve E gibi vitaminler olarak tanımlanabilir. Bu sistemlerin yetersizliği durumunda baskın olan oksidatif stres, lipidler ve membranlar, proteinler ve nükleik asitler de dahil olmak üzere hücre yapılarında hasar oluşturmaktadır (Poli ve diğer., 2004). Hücre içi hasarların giderilememesi veya sürekliliği halinde kanser, arteriyoskleroz, artrit, nörodejeneratif bozukluklar ve diğer yaşa bağlı hastalıklar ortaya çıkmaktadır (Halliwell, 1999).

1.2.1 Singlet Oksijen

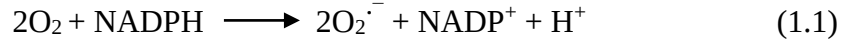
Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, biradikal (diradikal) olarak değerlendirilir. Biradikal oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale geçmesiyle singlet oksijen oluşur. Lipid membranlara nüfuz etme yeteneğinin olmaması nedeniyle üretildiği bölgede lokalize olur. Singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür, sigma ve delta olmak üzere iki şekli vardır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Oksijen formları

Sigma singlet oksijenin (${}^1\Sigma_g^+$) enerjisi daha fazla olup çok kısa ömürlüdür. Delta singlet oksijen (${}^1\Delta_g$) ise daha uzun ömürlüdür ve gözlenen kimyasal reaksiyonlardan esas sorumlu form olduğu kabul edilmektedir. Singlet oksijen, in vivo olarak üretilen iki moleküler oksijenin ya endojen fotosensitizerlerin (fotoduyarlastırıcı) ışıkla uyarılması nedeniyle oluşan enerjisinin moleküler oksijene aktarılmasıyla fotokimyasal ya da enflamasyona dayalı tepkimeler sürecinde meydana gelir (Klotz, 2002)

Süperoksit anyon radikali, NADPH oksidazın etkisi ile temel haldeki moleküler oksijenin indirgenmesi ile oluşturulduğunda;



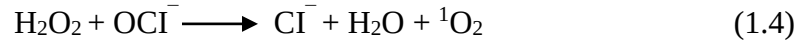
Süperoksit anyon radikali dismutazları tarafından katalize edilmekten çok, spontan bir değişiklikle, tekil durumunda olan hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturur,



Hidrojen peroksit, miyeloperoksidaz için bir substrat olup hipoklorit üretir,



Üretilen hipoklorit singlet oksijeni elde etmek için hidrojen peroksit ile tepkimeye girer:

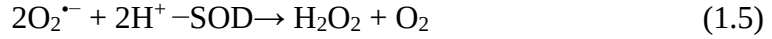


Singlet oksijen ile protein, lipid veya nükleik asitler gibi biyolojik hedeflerin oksidasyonu, hücre ölümüne yani apoptozise yol açabilir. Enflamatuvar tepki bağlamında bu toksisite, rahatsız edici mikroorganizmalara karşı savunma açısından faydalıdır. Hedef hücrelerin ışığa duyarlı hale getirilerek belirli kanserlerin fotodinamik terapi (PDT) sürecinde kimyasal yollardan yararlanılır. Işınlamayla tekli oksijen de dahil olmak üzere reaktif oksijen türleri üretilir ve sonuçta hücre ölümü meydana gelir (Oleinick ve diğer., 2002).

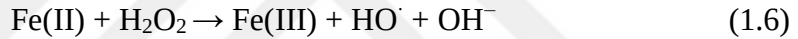
1.2.2 Süperoksit Anyon Radikali

Metabolik süreçler veya eksternal fiziksel radyasyon ile oksijen "aktivasyonunu" takiben ortaya çıkan süperoksit anyon radikali "birincil" ROS olarak adlandırılır (Fridovich, 1986). Süperoksit anyon radikali doğrudan polipeptidler, şekerler veya

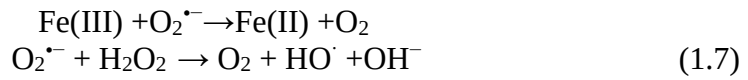
nükleik asitler ile reaksiyona girmez ve lipitleri peroksidize etme kabiliyetleride tartışmalıdır. Süperoksit anyon radikali, sitozol ve mitokondride bulunan süperoksit dismutaz reaksiyonuyla sönümlenir (Desideri ve Falconi, 2003) :



Açığa çıkan H_2O_2 'in toksik etkileri katalaz ve glutatyon peroksidazlar gibi enzimlerle giderilir. Hücre içi serbest radikallerin üretimi, redoks-aktif demir, bakır gibi metallerle yakından ilişkilidir (Valko, Morris ve Cronin, 2005). İn vivo stres koşullarında aşırı süperoksit anyon radikali varlığı, demir içeren moleküllerden "serbest demirin" salınmasına neden olur. Süperoksit anyon radikali ile demirin salınımı, dehidrataz-liyaz ailesinin [4Fe-4S] grubu enzimleriyle ilişkilidir (Liochev ve Fridovich, 1994). Serbest Fe (II), Fenton tepkimesine katılarak yüksek reaktiviteli hidroksil radikalini üretebilir:



Stres koşullarında $O_2^{\bullet-}$, [4Fe-4S] grubu enzimlerinin bir oksidantı olarak davranır ve Fe(II)'yi Fenton reaksiyonu için kullanılabilir hale getirerek H_2O_2 'den $^{\bullet}OH$ üretimini gerçekleştirir (Leonard, Harris ve Shi, 2004; Stohs ve Bagchi, 1995; Pekarkova ve diğer., 2001; Liochev ve Fridovich, 2002). Süperoksit anyon radikali, Fenton reaksiyonuyla üretilen Fe(III) indirgenmesinin yanısıra yine hidroksil radikalinin üretildiği Haber-Weiss reaksiyonuna da katılır (Liochev ve Fridovich, 2002) :

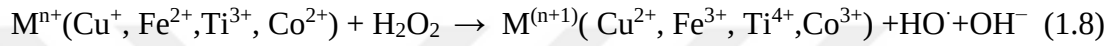


1.2.3 Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, 1 ns'den daha az olan yarılanma ömrü ile sulu çözeltilerde oldukça reaktiftir (Pastor ve diğer., 2000). Dolayısıyla, canlı ortamda üretildiği ortama yakın biyomoleküllerle hızlı tepki verir. Metabolizmada hidroksil radikal üretimi;

Fenton ve Haber Weiss dışında; alkil hidroperoksitlerin fotolitik ayrışmasıyla veya iyonize radyasyon ile H₂O'nun HO[•] ve hidrojen atomlarına ayrışması sonucu oluşur.

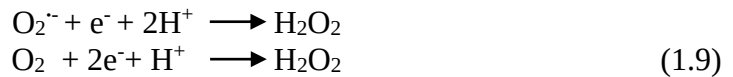
Hidroksil radikallerinin DNA'ya yakın bölgede üretilmesi, radikalın DNA bazlarına ya da DNA'nın deoksiribozil omurgasına hücumuyla bazların yapısında hasarlar veya DNA zincir yapısında kırılmalar gerçekleştirir. Yukarıda da belirtildiği gibi, in vivo üretilen hidroksil radikallerinin çoğunluğu, Fenton reaksiyonuna göre hidrojen peroksitin metal katalizli hidrolizinden kaynaklanmaktadır. Mⁿ⁺ bir geçiş metali iyonu (Liochev ve Fridovich, 2002; Pastor ve diğer., 2000; Pláteník ve diğer., 2001) için;



Fenton reaksiyonuna göre hidroksil radikalının en yaygın in vivo üretimi, Mⁿ⁺ 'nın demir, bakır, krom, kobalt ve benzeri geçiş metalleri olması halinde gerçekleşir. Fenton kimyası in vitro olarak bilinmesine rağmen fizyolojik koşullardaki önemi açık değildir ve çeşitli metal bağlayıcı proteinlerin etkin özellikleri nedeniyle "serbest katalitik demir'in etkililiği ihmal edilebilir düzeyde olduğu belirtmektedir (Kakhlon ve Cabantchik, 2002).

1.2.4 Hidrojen Peroksit

Oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesi ya da süperoksit anyon radikallerinin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşan hidrojen peroksit, kimyasal açıdan çok zayıf bir reaktiftir.

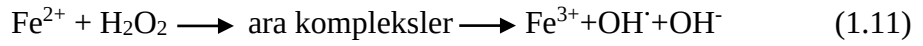


Lipidler, hafif bir oksitleyici veya hafif bir indirgeyici madde olarak hareket edebilmekle beraber, hiper-reaktif tiyol gruplarına veya metiyonin birimlerine sahip olmadıkça DNA ve proteinler dahil olmak üzere birçok biyolojik molekülü kolayca oksitler (Hampton ve Orrenius, 1997; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Levine ve diğer.,

1999). H₂O₂'nin asıl tehlikesi, ya ultraviyole ışığına maruz kalarak (Udea ve diğer., 1996);



ya da en önemlisi in vivo, muhtemelen demir olan bir geçiş metali iyonu ile etkileşime girerek (Halliwell ve Gutteridge, 1990, 1999) reaktif hidroksil radikaline (OH[·]) dönüşümden kaynaklanmaktadır.



Canlı organizmalar geçiş metali iyonlarını proteinlere bağlı formda tutarak OH[·] radikal oluşumunu ve olası diğer serbest radikalleri baskılayacak mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalar özellikle kan plazması gibi ekstrasellüler sıvılarda önemlidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990, 1999). Bununla birlikte H₂O₂, Fenton kimyasının sadece substratlardan biri olmakla kalmayıp aynı zamanda heme proteinlerinden gelen demiri serbest bırakarak katkıda bulunabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1990, 1999; Gutteridge, 1986; Puppo ve Halliwell, 1988).

H₂O₂ ile muamele edilen hücre kültürlerinde, ortamda veya yapılarında bulunan geçiş metali iyonlarıyla oluşabilecek OH[·] radikalleriyle DNA'nın yapısında oluşabilecek oksidatif hasarlar, hücrede canlılığı koruma amacıyla hızlı bir şekilde giderilir (Spencer ve diğer., 1996). Bununla birlikte, yaklaşık 20-50 µM veya daha düşük H₂O₂ seviyeleri, birçok hücre tipi için sınırlı sitotoksosite göstermektedir. Gerçekleştirilen araştırmalar, H₂O₂'nin hücre dışı ve hücre içi bir sinyal molekülü olarak kullanılabildiğini göstermektedir (Wang ve diğer., 1998; Dalton ve ark, 1999; Schreck ve diğer., 1991; Sen ve Packer 1996). Örneğin, bazı hücre tipleri için NF_κB aktivasyonunda H₂O₂'in ikinci haberci rolü bulunmaktadır (Schreck ve diğer., 1991). Bu nedenle in vivo olarak üretilen H₂O₂'in tümünün ortadan kaldırılmaması, fizyolojik sinyalleme mekanizmalarında ki kullanımlarından dolayı önemlidir.

Enflamasyon bölgelerinde aktif fagositler tarafından üretilen H_2O_2 , hücre proliferasyonu veya apoptozisini kontrol ederek ve trombosit agregasyonunu modüle etmek gibi prosesler ile inflamatuvar süreci kontrol etmektedir (Hampton ve Orrenius, 1997; Clement ve diğer., 1998; Blounin ve diğer., 1999; Roebuck, 1999; Vepa ve diğer., 1999; Burdon ve Alliangana, 1996; Poli ve Parola, 1997; Naseem ve Bruckdorfer, 1995).

1.2.5 Peroksil Radikali

Canlı sistemlerde oluşabilen oksijenden türeyen bir diğer radikal türü peroksil radikalleridir ($ROO^{\bullet}$). Peroksil radikallerin, yüksek enerjili olup R grubuna bağlı olarak +0,77 ile +1,44V arasında değişen bir indirgeme potansiyeline sahiptir (Burcham, 1998).

En basit peroksil radikali, süperoksit anyon radikalinin $O_2^{\bullet-}$ 'nin eşlenik asidi olan dioksil (hidroperoksil) radikali $HOO^{\bullet}$ 'dir. Bu tip moleküllerin kimyası, R grubunun yapısına, bulunduğu ortama ve ortamdaki oksijen ile diğer reaktanların derişimine göre değişir (Porter, Candwell ve Mills, 1995).

Peroksil radikallerinin en ilginç özelliği, katıldıkları biyolojik reaksiyonların çeşitli olmasıdır. Yapıda lipid peroksidasyonunun belirlenmesi, bir hastalık sürecinin veya toksikolojik bir olay sonrası oluşmuş peroksil radikallerinin, lipid yapısındaki doymamış bağlara katılımının bir göstergesidir (Gutteridge, 1995; Cadenas ve Sies, 1998). Peroksil radikalleri DNA kırıklarının oluşumunda ve yapıda bazı modifikasyonlarda rol alır. Peroksil radikallerinin DNA hasarına etkisi süperoksit anyon radikali varlığında sinerjik olarak artar.

1.2.6 Reaktif Azot Türleri

Nitrik oksit ($NO^{\bullet}$) reaktif bir radikal olup, nörotransmisyon, immün regülasyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi de dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak

işlev görmektedir (Archer, 1993; Alderton, Cooper ve Knowles, 2001, Bergendi ve diğer., 1999; Fostermann, Boissel ve Kleinert, 1998). Bu küçük molekül, $2\pi^*_y$ orbitalindeki bir çiftlenmemiş elektronu nedeniyle radikalik özellik gösterir. $\text{NO}^\bullet$, biyolojik dokularda nitrik oksit sentaz enzimleriyle (NOS) arjininin sitriline oksidatif reaksiyonu sürecinde üretilir (Ghaforifar ve Cadenas, 2005). Reaktif azot türlerinin aşırı üretimi, nitrozatif stres olarak adlandırılır (Klatt ve Lamas, 2000). Bu durum, sistemde üretilen reaktif azot türlerine karşı sönümlenme kapasitesinin yetersizliği durumlarında ortaya çıkar. Nitrozatif stres, proteinlerin yapısını değiştirebilen ve böylece proteinlerin normal fonksiyonlarını inhibe eden nitrozilasyon reaksiyonlarına yol açabilir. $\text{NO}^\bullet$ sulu bir ortamda birkaç saniyelik yarılanma ömrüne sahiptir (Chiueh, 1999). $\text{NO}^\bullet$ düşük oksijen derişimlerdeki ortamlarda daha fazla stabilite gösterir (yarılanma ömrü $>15\text{s}$). Bununla birlikte $\text{NO}^\bullet$, hem hidrofilik hem de hidrofobik ortamlarda çözünebildiğinden, sitoplazma ve plazma zarlarından kolaylıkla difüze olmaktadır.

$\text{NO}^\bullet$ 'in merkezi sinir sisteminde nöronal iletimin yanı sıra sinaptik plastisiteye de etkileri vardır. Ekstrasellüler ortamda $\text{NO}^\bullet$, nitrat ve nitrit anyonlarını oluşturmak üzere oksijen ve su ile reaksiyona girer. Bağışıklık sistemi hücreleri, enflamatuar süreçlerde tetiklenen oksidatif patlama sırasında hem süperoksit anyonu hem de nitrik oksit üretir. Bu koşullar altında $\text{NO}^\bullet$ ve süperoksit anyon radikali, DNA kırıklarına ve lipidlerde peroksidasyona neden olan daha yüksek reaktiviteli peroksinitrit anyonunu (ONOO^-) oluşturur (Carr, McCall ve Frei, 2000) :



Bu reaksiyonun hız sabiti $7,0 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, olup $\text{NO}^\bullet$ 'nun verdiği reaksiyonlar arasında hızı en yüksek olanıdır. Dolayısıyla $\text{NO}^\bullet$ toksisitesi, süperoksit anyonları ile birleşebilme özelliğinden kaynaklanmaktadır. Nitrik oksit, belirli geçiş metali iyonlarını kolayca bağlar. Nitrik oksitin fizyolojik etkisi, enzim guanilat siklazın Fe(II) -hem gruplarına bağlanması sonucu ortaya çıkmaktadır:



Nitrik oksitin radikallerle olan reaksiyon hızları radikal olmayan bileşiklere kıyasla daha yüksektir. Nitrozatif strese verilen hücrel yanıt oksidatif stresin tepkilerine benzedi, koşullara bağımlı protein S-nitrosotiyoller (protein-SNO) oluşabilir:



1.2.7 Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücre içinde endojen ve eksojen faktörlere bağılı olarak oluşan reaktif oksijen ve azot türleri, antioksidan sistemler tarafından sönmölenererek ortamdaki biyomoleküllerde oluşabilecek hasar etkileri engellenir. İyi bir antioksidan;

- a) Serbest radikalleri sönmöllemeli,
- b) Redoks metalleri ile şelat oluşturmalı,
- c) "Antioksidan ağı" içinde diğler antioksidanlarla etkileşime (rejenere) girmeli,
- d) Gen ekspresyonu üzerinde pozitif bir etkiye sahip olmalı,
- e) Kolayca emilebilir olmalı,
- f) Dokular ve biyoakışkanlardaki derişimi fizyolojik olarak uygun seviyelerde olmalı,
- g) Membran sistemlerinde de etkin olabilmelidir.

Antioksidan sistemler enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak 2 gruba ayrılır. En etkin enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz (Matés, Pérez-Gómez ve De Castro, 1999) iken, enzimatik olmayan antioksidanlar Vitamin C, Vitamin E, karotenoidler, tiyol antioksidanları (glutatyon, tioredoksin ve lipoik asit), doğal flavonoidler, melatonin ve diğler bileşikleri içerir (McCall ve Frei, 1999).

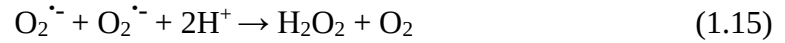
Bazı antioksidanlar hücrelerin hidrofilik veya hidrofobik ortamlarında etkili olabilirken bazıları hücrenin her iki ortamında da etkilidir. Örneğın, Vitamin C sulu fazda Vitamin E lipofilik fazda süperoksit anyon radikali ile reaksiyona girer. Bunun aksine, α-lipoik asit suda ve aynı zamanda yağda çözünebilir olduğundan hem hücre

membranlarında hem de sitozolde etkindir. Bazı antioksidanlar redox sistemlerinde potansiyellerine bağlı olarak rejenere olabilirler. Bu etki “antioksidan ağı” olarak tanımlanır. Vitamin E ve C ‘nin redoks döngüleri böyle bir antioksidan ağı oluşturur.

1.2.7.1 Enzimatik Antioksidanlar

1.2.7.1.1 *Süperoksit Dismutaz (SOD)*. Hücre içi enzimatik antioksidanların en etkililerinden biri olan süperoksit dismutaz (SOD), $O_2^{\cdot-}$ 'nin O_2 'ye ve daha az reaktif tür olan H_2O_2 'ye bozunmasını katalize eden antioksidan özellikli metaloenzimdir (McCord ve Fridovich, 1969). Süperoksit dismutazın; alt birimlerine, kofaktörlerine, aktif metal merkezinin yapısına ve amino asit seçiciliğine bağlı olarak birkaç izoformu bulunmaktadır. İnsanlarda üç tip SOD vardır: Sitozolik Cu/Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve hücre dışı SOD (EC-SOD) (Landis ve Tower, 2005).

SOD, *Ping-Pong* tipi mekanizmayla aktif bölgedeki geçiş metali iyonlarının ardışık oksidasyon ve indirgemesi ile $O_2^{\cdot-}$ 'yi oldukça yüksek reaksiyon hızıyla sönmüleyerek H_2O_2 ve O_2 'ye dönüştürür (Matés, Pérez-Gómez ve De Castro, 1999).



Cu/Zn-SOD moleküler ağırlığı yaklaşık 32 kDa olan ve iki özdeş alt birimden (homodimer) oluşan bir enzimdir (Matés, Pérez-Gómez ve De Castro, 1999). Cu/Zn-SOD, özellikle süperoksit anyonunun oksijene H_2O_2 'e bozunmasını katalize eder. Her alt birim, aktif bölge olarak bakır ve çinko iyonlarından oluşan dinükleer metal kümesini içermektedir.

Mitokondriyal Mn-SOD, alt birim başına bir mangan atomu içeren ve moleküler ağırlığı 96 kDa olan bir homotetramerdir (Matés, Pérez-Gómez ve De Castro, 1999). Mn-SOD'un katalitik etkisi, Mn (III) 'ten Mn (II)'ye ve süperoksit anyon radikalinin iki basamaklı dismutasyonu sırasında Mn (III)'e dönüşümüyle gerçekleşir.

Mn-SOD, anti-tümör aktivitesine sahip en etkin antioksidan enzimlerden biridir. Farklı hücre türleriyle yapılan araştırmalara göre, Mn-SOD'un aşırı ekspresyonunun, tümör gelişiminin gerilemesine yol açtığı belirlenmiştir (Behrend, Henderson ve Zwacka, 2003). Bununla birlikte, Mn-SOD'un tümör baskılayıcı özelliği açık değildir. Bazı kanser türlerinde özellikle gastrointestinal sistem kanserlerinde Mn-SOD ekspresyonu dolayısıyla aktivitesinde artışlara rağmen birçok kanser türünde Mn-SOD aktivitesi oldukça düşük bulunmuştur. Bu durumun, gen ekspresyonundaki bir hasardan kaynaklandığı belirtilmektedir (Behrend, Henderson ve Zwacka, 2003). Ayrıca düşük Mn-SOD aktiviteli hücre hatlarında geçiş metali iyonlarının derişimlerinin de düşük olması bu durumu desteklemektedir.

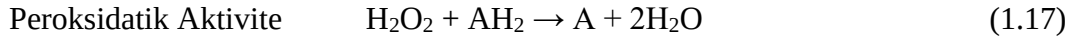
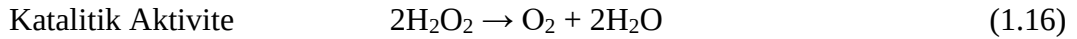
Bazı tümör hücreleri için toplam SOD (Cu/Zn-SOD ve Mn-SOD) aktivitesi de azalmıştır (Oberley ve Orberley, 1988). İlginç olarak, gastrointestinal sistem kanserlerinde Mn-SOD'un aşırı ekspresyonu belirlenmiştir. Bu bulgular, ileri seviye progresyon ve invaziv, zayıf prognoz ve metastatik fenotip ile korelasyon göstermektedir. Veriler göstermektedir ki, anormal düzeyde yüksek Mn-SOD düzeyinin hücre büyümesini baskı altına alırken kanser hücrelerinin invaziv potansiyelerini artırma eğilimindedir.

Ekstraselüler süperoksit dismutaz (EC-SOD), heparin ve heparin sülfat gibi bazı glikozaminoglikanlar için yüksek afiniteye sahip, tetramerik, bakır ve çinko içeren bir glikoprotein yapıdır (Matés, Pérez-Gómez ve De Castro, 1999). Memeli dokularındaki regülasyonu, sitokinler tarafından gerçekleştirilmektedir.

Ni içeren (Ni-SOD) tamamen farklı bir SOD sınıfı olup, yakın zamanda *Streptomyces* ve siyanobakterilerde bulunmuştur. Ni-SOD, diğer SOD'lara amino asit dizilim benzerliğinin hiç olmadığı 117 amino asit küçük bir proteindir (Barondeau ve diğer., 2004).

1.2.7.1.2 Katalaz. Tüm prokaryot ve ökaryotik hücrelerde bulunmakta olan katalaz, eritrositler haricinde ağırlıklı olarak H_2O_2 'in çeşitli oksidazlar tarafından üretildiği her tür memeli hücresinin peroksizomlarında yer almaktadır. Katalaz, oldukça reaktif olan

hidroksil radikalini oluşturan belirli reaksiyonlar için substrat görevini gören H₂O₂'in birikimini sınırlandırarak hücre içi antioksidan savunmayı sağlamaktadır (Ho ve diğer., 2004). Bir katalaz molekülü dakikada yaklaşık 6 milyon hidrojen peroksit molekülü ile tepkimeye girmektedir (Matés, Pérez-Gómez ve De Castro, 1999). Katalaz, iki farklı enzimatik aktivite ile katalize edilen reaksiyonlarda hidrojen peroksiti hidrolizler:



Katalazın H₂O₂'e olan katalitik aktivitesi 0,01 ile 0,05M arasında iken H₂O₂'in bozunumu birinci mertebe reaksiyon kinetiğine göre ilerlerken daha düşük derişimlerde kinetik sıfırncı mertebededir (Valko ve diğer., 2007; Berg, Tymoczko ve Stryer, 2002).

Hidrojen peroksitin tek substratı olmasına rağmen, katalaz reaksiyonu bir *Ping-Pong* mekanizmasıyla gerçekleşir. Burada, katalazın kofaktörü bir hidrojen peroksit molekülü ile oksitlenir ve bağlanmış oksijenin ikinci bir substrat molekülüne aktarılmasıyla katalaz rejenere edilir (Kabel ve diğer., 2013).

Katalazın aşırı ekspresyonu, hücreleri H₂O₂ ve oksidasyona dayalı hasarlara karşı daha dirençli kılar. Ayrıca, katalazın aşırı eksprese edildiği transgenik fareler, Adriamisin'nin (doksorobisin) uygulanmasını takiben miyokardiyal hasar ile norepinefrin veya anjiyotensin tedavisinde hipertansiyonun gelişimine karşı daha korunaklı oldukları görülmüştür (Yang ve diğer., 2003). Katalaz eksikliği belirlenmiş hastalarda streptokok ve pnömokolar gibi bakterilen ürettiği H₂O₂'in neden olduğu doku hasarları nedeniyle tedavisi zor ağız yaraları geliştiği belirtilmektedir.

1.2.7.1.3 Glutatyon Peroksidaz. Glutatyon metabolizması en önemli antioksidan savunma mekanizmalarından biridir (Esterbauer ve diğer., 1992; Rikans ve Hornbrook, 1997; Grazioli ve diğer., 1998; Sigalov ve Stern, 1998). Glutatyon peroksidaz enziminin, biri selenyumdan bağımsız ve diğeri selenyuma bağımlı olmak üzere 2 formu bulunmaktadır (Matés, Pérez-Gómez ve De Castro, 1999). Bu iki enzim

alt birimi sayısına, selenyumunun aktif merkezdeki bağlanma özelliğine ve katalitik mekanizmalarına göre farklılık göstermektedir.

Selenyuma bağımlı peroksidaz olan glutatyon peroksidazın, dört özdeş alt birimin her biri, enzim aktivitesi için gerekli olan tek bir selenosistein (Sec) kökü içerir (Tappel, 1978). Moleküler ağırlığı 80 kDa olan GSH-Px, GSH'yi kullanarak hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize ederek hücrelerini oksidatif hasara karşı korur.

Sitozolik ve mitokondriyal glutatyon peroksidaz (GPX1) glutatyon aracılığıyla yağ asidi hidroperoksitleri ve H₂O₂'i dönüşüme uğratır. GPX1 ile ekstrasellüler glutatyon peroksidaz GPX4 yani fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) enzimi çoğu dokularda bulunmaktadır. GPX4 hem sitozol hem de membran yapısında bulunmakta olup böbrek epitel hücreleri ile testislerde yüksek oranda eksprese edilir. PLGSH-Px, peroksitlenmiş membranlarda ve oksitlenmiş lipoproteinlerde üretilen fosfolipid hidroperoksitleri, yağ asidi hidroperoksitleri ve kolesterol hidroperoksitlerini doğrudan indirger (Imai ve diğer., 1998).Sitozolik GPX2 ve hücre dışı GPX3 sırasıyla gastrointestinal sistem ve böbrek hariç çoğu dokuda düşük miktarlarda tespit edilmiştir. Yakın zamanda fare epididimisinde spesifik olarak eksprese edilmiş yeni bir üye olan GPX5, selenyumdan bağımsızdır (de Haan ve diğer., 1998).

GPx enzimleri, peroksitleri indirgeme amacıyla selenoller (Se-OH) oluşturarak onlara iki elektron aktarmaktadır. Bu selenoenzimlerin antioksidan özellikleri, Fenton reaksiyonu için potansiyel yüzeyler olarak peroksitleri yok etmelerini sağlar. GPx, hücrelerde yüksek (mikromolar) konsantrasyonlardaki tripeptit glutatyon (GSH) ile birlikte hareket eder. GPx'in katalitik reaksiyonu için substrat, H₂O₂ veya bir organik peroksit olan ROOH'dir. GPx, GSH'yi oksitleyerek peroksiteri suya (ya da alkole) ayırıştırır:

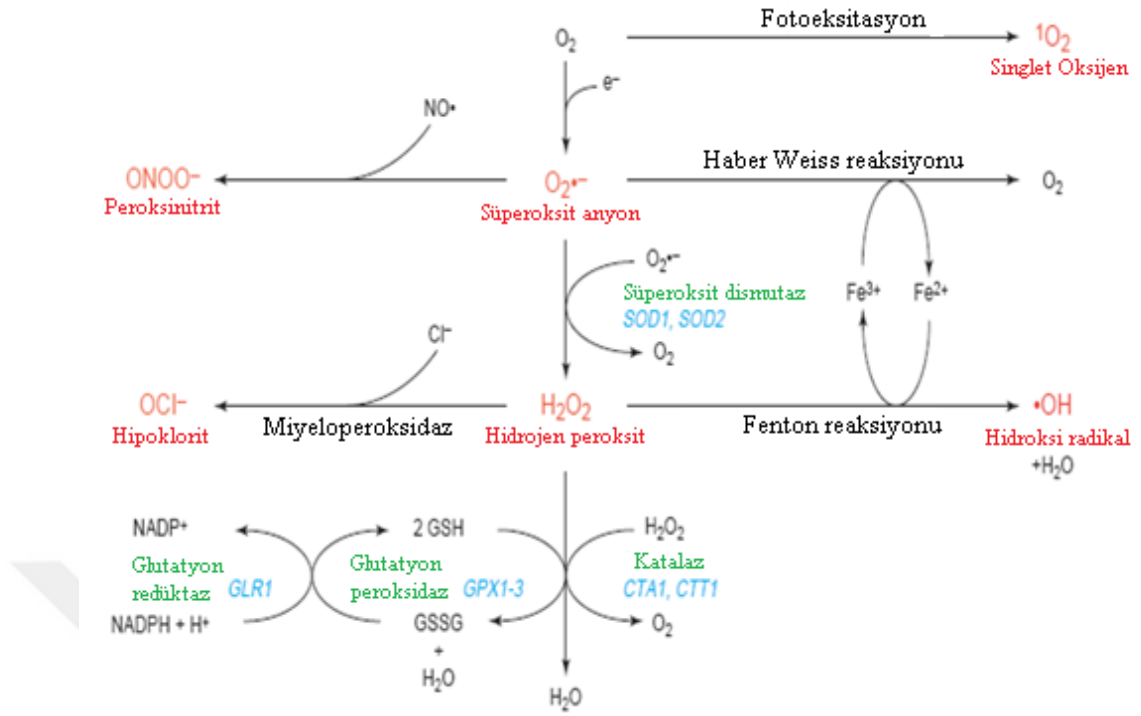


Katalazın Km değeri GPx'e a kıyasla daha yüksektir ve her iki enzim H₂O₂'e karşı yarışmalı tepkime gösterirler. Bu durumda GPx'in Km değerinin düşük olması yani H₂O₂'e olan ilgisinin yüksek olması dolayısıyla H₂O₂ 'nin düşük derişimlerinde dahi tepkimeye girebilmesi hücreyi oksidatif strese karşı koruma özelliğinin göstergesidir (Valko ve diğer., 2006).

1.2.7.1.4 Glutasyon Redüktaz. Prokaryot ve ökaryotlarda bulunan bir flavo-protein oksidoredüktazı olan glutasyon redüktaz, askorbat-redükte glutasyon döngüsünün potansiyel bir enzimi olup GSH'ın hücre içi redükte durumunun korunmasını sağlar (Romero-Puertas ve diğer., 2006). Ağırlıklı olarak kloroplasta lokalize olmakla beraber küçük miktarlarda mitokondri ve sitoplazmada da bulunur (Edwards ve diğer., 1990; Creissen ve diğer., 1994). GSSG, glutasyon redüktaz tarafından GSH'ye geri dönüştürülebilen bir disülfür köprüsü ile bağlanan iki GSH'den oluşur.

Glutasyon Redüktaz, GSH havuzunu korumak için GSSG'nin disülfid bağının NADPH'ye bağımlı reaksiyonunu, GSH'in indirgenmesi ile katalize eder (Reddy ve Raghavendra, 2006; Rao ve Reddy, 2008). Glutasyon redüktaz; askorbat-GSH döngüsü de dahil olmak üzere hücrede oluşmuş GSSG'nin GSH'a dönüşümünü katalizleyerek (Şekil 1.3) proteinlerin yapısındaki –SH gruplarının koruması ve ayrıca GST'ler için de substrat olarak kullanılması gibi yollarla hücre sistemini, oksidatif strese karşı savunmada önemli rol oynar (Reddy ve Raghavendra, 2006).

GR ve GSH, çeşitli stres altındaki bitkilerin tolerans kapasitelerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar (Rao ve Reddy, 2008). GR aktivitesi, *C. annuum* (Leon ve diğer., 2002), *A. thaliana* (Skorzynska-Polit, Dra ve Krupa., 2003), *V. mungo* (Singh, 2008) *T. aestivum* (Khan ve diğer., 2007) ve *B. juncea* (Mobin ve Khan, 2007)'da Cd varlığında artmış miktarlarda bulunmuştur. Eyidogan ve Oz, (2007); tuz stresinde *C. arietinum* L. cv. yaprak dokusunda artmış GR aktivitesi, Kukreja ve diğerleri (2005)'de, tuz stresini takiben *C. arietinum* köklerinde artan GR aktivitesini belirlemişlerdir.



Şekil 1.3 Serbest radikallerin oluşumu ve GSH dönüşümleri

Srivastava ve diğer. (2005) *A. doliolum*'da Cu^{2+} stresi altında GR aktivitesinde düşüş, tuz stresi altında ise aktivitede artış gözlemlemiştir. Yüksek ışık varlığındaki kuraklık koşullarında, *P. asperata* Mast fidelerinin GR aktivitesi artmış, ancak düşük ışık koşullarında ise kuraklık kaynaklı belirgin farklılıklar gözlenmemiştir (Yang ve diğer., 2008).

Bashir ve diğer. (2007) Fe-yeterli ve Fe-eksik koşullarda otsu bitkilerdeki GR'nin ekspresyon modellerini ve enzim aktivitelerini, arpadaki kloroplastik GR (HvGR1) ve sitozolik GR (HvGR2) için cDNA klonlarını izole ederek incelemişler ve her iki proteininde in vitro GR aktivitesi göstermekte birlikte, HvGR1 için spesifik aktivitenin HvGR2'den 3 kat yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

GR'nin oksidatif strese karşı olası mekanizmasını belirlemek amacıyla %30-70 daha az GR aktiviteli transgenik *N. tabacum* kullanılan bir çalışmada; daha az GR aktivitesi olan transgenik bitkiler, oksidatif strese karşı daha fazla duyarlılık göstermiştir. GR'nin GSH rejenerasyonunda önemli bir rol oynadığı ve böylece askorbat-glutayon çevrimi havuzunu korur (Ding ve diğer., 2009). GR'nin eksikliği,

eritrosit membranlarının H_2O_2 'e duyarlılığının artmasına bağlı hemoliz ile karakterize olup, birçok hastalığın patogeneğinde önemli rol oynayan oksidatif strese katkıda bulunur (Ulus ve Tandoğan, 2007).

1.2.7.1.5 Glutasyon S-Transferaz. Glutasyon S-transferazlar (GSTs), glutasyonun konjugasyonunu katalize ederek çeşitli elektrofilik bileşiklerle hücrel detoksifikasyonu etkileyen bir grup çözünebilir proteindir. İnsan dokularında glutasyon S-transferazın çeşitli izozimlerinin varlığı ispatlanmıştır. GST'lar, karsinojenler, terapötik ilaçlar ve oksidatif stres ürünleri dahil olmak üzere geniş aralıktaki bileşiklerin transformasyonuna glutasyon kullanarak katkıda bulunan bir enzim ailesidir. GST'ler, GST-M1 ile -M5 olarak adlandırılan beş farklı izoenzimden oluşan beş sınıfa (α, μ, π, σ ve θ) ayrılır. Kanseri ve GST'larda mutasyonlar arasında en sık bildirilen bağlantılar baskın olarak GST-M1 ile ilgilidir. Ayrıca GST'ler indirgeyici özellikleriyle membran bileşenlerini lipid peroksidasyona karşı korur. Mikrozomal fraksiyondaki GST'lar da peroksidaz aktivitesiyle bu korumayı sağlamaktadır (Mannervik, 1985; Tan ve diğer., 1988; Harris ve Stone, 1988). Bu enzimler ayrıca, endojen veya ekzojen orijinli substratı olmayan moleküllerin pek çoğunu, hücre içi bağlayıcı protein olarak katalitik olmayan yollarla kendine bağlar (Litwack ve diğer., 1971; Ketley ve diğer., 1975).

İnsan eritrositlerinden saflaştırılmış glutasyon S-transferaz (Marcus ve diğer., 1978) enziminin molekül ağırlığı 47500'dür ve iki alt birimden oluşmaktadır. Eritrosit transferazının, temel karaciğer transferazları arasında düşük izoelektrik noktaları (pH 4,5), amino asit bileşimleri, immünolojik belirleyicileri, moleküler ağırlıkları ve spesifiklikleri arasında belirgin farklar bulunmaktadır.

1.2.7.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.2.7.2.1 Glutasyon. Başlıca çok fonksiyonlu ve hücre içi enzimatik olmayan antioksidanlardan glutasyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Hücrenin ana tiyol-disülfid redoks tamponu olduğu düşünülmektedir. Glutasyon, sitozol (1-11 mM), çekirdek (3-15 mM) ve mitokondride (5-11 mM) bulunan başlıca

çözünür antioksidandır (Masella ve diğer., 2005). İndirgenmiş formu glutatyon_{ind.} (GSH) ve oksitlenmiş formu glutatyon_{oxd.} (GSSG) hücre çekirdeğindeki GSH, DNA onarımı ve ekspresyonu için gerekli olan kritik protein sülfidrillerin redoks dengelerini korur. Oksidatif ortamda, protein sülfidler (protein-SH) modifikasyona uğrarlar. Bu süreçte iki elektronlu oksidasyon ile sülfirik asitler (protein-SOH), tek elektronlu oksidasyon ile de radikaller (protein-S[•]) meydana gelir. Bununla birlikte, protein sülfidillerinin oksidasyonu, GSH tarafından sönmelenemez ve oksidasyon devam ederse, sülfirik (protein-SO₂H) ve sülfonik (protein-SO₃H) asitler gibi geri döndürülemez oksidize formlar oluşur (Ji ve diğer., 1999).

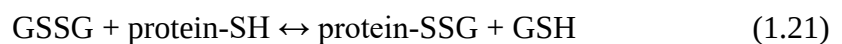
Genel olarak, tiyol bileşiklerinin antioksidan kapasitesi, tek bir elektron kaybını kolayca karşılayabilen kükürt atomuna bağlı olup, bu şekilde üretilen kükürt radikal türlerinin, yani bir tiyil radikalinin (GS[•]) ömrü, stres sırasında oluşan diğer radikallerden daha fazladır (Karoui ve diğer., 1996). Glutatyonun, R[•] radikali ile reaksiyonu:



Oluşan tiyil radikalleri, radikal olmayan, oksitlenmiş glutatyon (GSSG) oluşturmak için dimerize olabilir:



Oksitlenmiş glutatyon (GSSG), hücrelerin içinde birikir. GSH/GSSG oranı, bir organizmanın oksidatif stresinin ölçüsünü belirler (Hwang ve diğer., 1992). Ayrıca çok yüksek oksitlenmiş glutatyon GSSG derişimi oksidatif olarak birçok enzime de zarar verebilir. GSSG, protein-glutatyon-karışık disülfidler üretmek için protein sülfidril gruplarıyla reaksiyona girebilir:

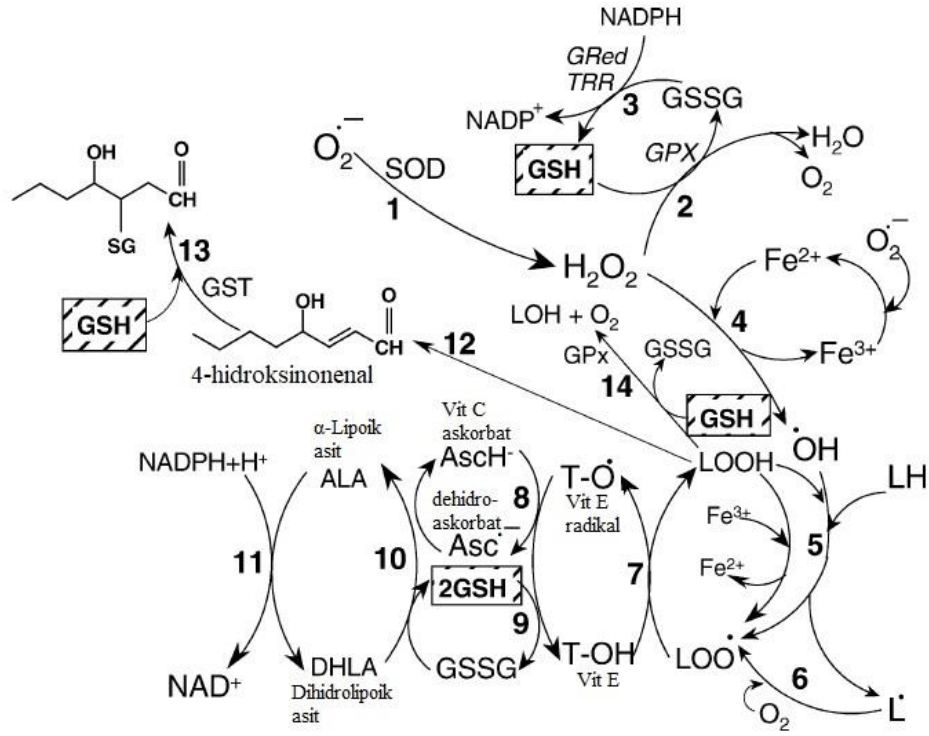


Karışık disüflitler (protein-SSG), muhtemelen protein katlanması nedeniyle GSSG'den daha uzun bir yarı ömre sahiptir. Glutasyon, oksidatif strese karşı etkisini çeşitli şekillerde göstermektedir (Masella ve diğer., 2005):

1. Glutasyon, oksidatif strese karşı çeşitli detoksifiye edici enzimlerin (glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon transferaz ve diğerleri) kofaktörüdür;
2. GSH, plazma membranından amino asit taşınmasına katılır;
3. GSH, hidroksil radikali ve singlet oksijeni doğrudan sönmeler, glutatyon peroksidazın katalitik etkisi ile hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerini detoksifiye eder;
4. Glutasyon, en önemli antioksidanlardan vitamin C ve E'leri, aktif formlarına geri dönüştürebilir ve vitamin E'nin tokoferol radikalini direk veya semidehidroaskorbatın askorbata indirgenmesiyle dolaylı olarak sönmleyebilir (Şekil 1.4).

Hücrede, glutatyonun indirgenmiş ve okside formlarının oranlarındaki ve ayrıca total GSH düzeylerindeki değişiklikler, redoks dengelerinin sağlanmasında önemlidir (Jones ve diğer., 2000). Hücresel GSH tüketimi, vasküler endotelial hücrelerde hücre proliferasyonunun azalması ve fibroblastların artmış proliferasyonu ile ilişkilidir. PDGF (Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü) reseptörünün otofosforilasyonu, düşük hücresel GSH seviyeleri tarafından inhibe edilmektedir. GSH, nükleer faktör NF- κ B ve aktivatör protein AP-1'de dahil olmak üzere çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu düzenlemede rol oynar. Glutasyon redoks çifti çekirdekte Sp-1 transkripsiyon faktörünün DNA bağlanmasını düzenlemektedir.

GSH'ın hücreleri apoptozise koruyucu etkisi, hücresel redoks durumunun detoksifikasyon ve modülasyonu ile redoks-duyarlı hücre-sinyal yolları ve pro- ve anti-apoptotik sinyallerle etkileşimi içeren multifaktöriyel mekanizmalarından kaynaklanır (Masella ve diğer., 2005).

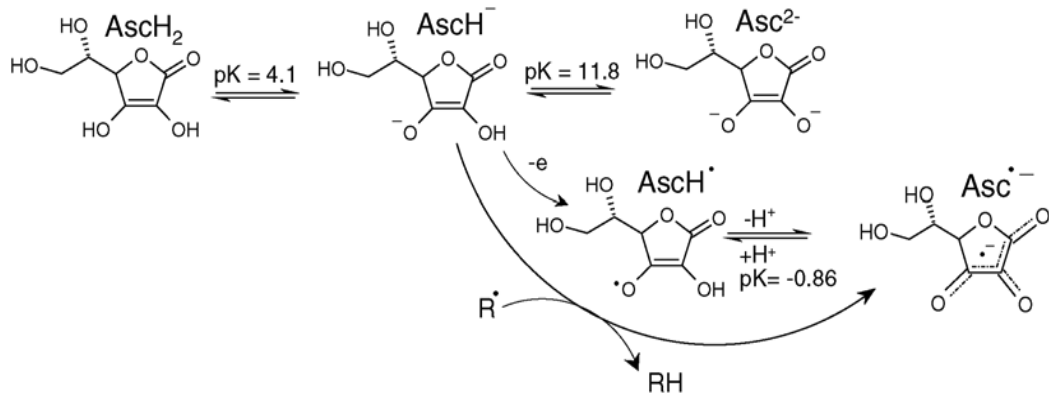


Şekil 1.4. Oksidatif stres yönetiminde glutatyon (GSH) ve diğer antioksidanların (Vitamin E, Vitamin C, lipoik asit) çeşitli yollardaki redoks dengeleri; (1): süperoksit anyon radikali, süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksit dismüte edilir. (2): Hidrojen peroksit, elektron vericisi olarak GSH gerektiren glutatyon peroksidaz enzimi (GPx) tarafından sönmölenir. (3): Oksitlenmiş glutatyon (GSSG), elektron vericisi olarak NADPH kullanan glutatyon redüktaz enzimi (GR) tarafından GSH'ye geri döndürölür. (4): Bazı geçiş metalleri (Fe^{2+} , Cu^{+} ve diğerleri) hidrojen peroksidi reaktif hidroksil radikaline (Fenton reaksiyonu) dönüştürür. (5): Hidroksil radikali, çoklu doymamış yağ asidinden (LH) bir elektron alarak karbon-merkezli bir lipit radikali ($L^{\bullet}$) oluşturur. (6): Lipit radikali ($L^{\bullet}$), moleküler oksijen ile bir lipit peroksil radikali ($LOO^{\bullet}$) oluşturur. (7): Lipid peroksit radikali ($LOO^{\bullet}$) membran içinde E vitamini (T-OH) tarafından indirgenmesiyle bir lipit hidroperoksit ve Vitamin E radikali (T-O $^{\bullet}$) oluşur. (8): Vitamin E'nin Vitamin C tarafından rejenerasyonu: Vitamin E radikali (T-O $^{\bullet}$) askorbik asit ile askorbil radikali (Asc $^{\bullet}$) meydana getirmek suretiyle vitamin E'ye (T-OH)'e geri döndürölür. (9): Vitamin E'nin GSH ile rejenerasyonu: Oksitlenmiş Vitamin E (T-O) GSH ile indirgenir. (10): Okside olmuş glutatyon (GSSG) ve askorbil radikali (Asc $^{\bullet}$) sırasıyla, α -lipoik aside (ALA) dönüşen dihidrolipoik asit (DHLA) ile GSH ve askorbat monoanyonuna dönüştürölür. (11): NADPH kullılarak ALA'dan DHLA rejenerasyonu. (12): Lipid hidroperoksitler, güçlü oksidan olan 4-hidroksinonenal gibi aldehitlere ayrılabilir. (13): 4-hidroksinonenale, glutatyon S-transferaz (GST) ile glutatiyolin katılımı ile detoksifikasyona katılır. (14): Lipid hidroperoksitler, GPx tarafından elektron vericisi olarak GSH kullılarak alkol ve dioksijene indirgenir (Masella ve diğer., 2005)

GSH düzeyi apoptozise karşı korunmada önemli bir faktör olduğundan, tümör tedavisinin kolaylaştırılması amacıyla antikanser ilaca bağlı apoptozisin etkinliği için GSH'nin azaltılması gerekmektedir. Kolon ve meme kanseri olan hastaların kanında ölçülen GSH/GSSG oranının kontrole göre dikkat çekici miktarda azaldığı bulunmuştur (Pastore ve diğer., 2003). Bu durum, kırmızı kan hücrelerindeki çeşitli dokulardan GSSG'nin daha fazla salınmasına neden olan artan peroksit oluşumu ile açıklanmaktadır.

1.2.7.2.2 Vitamin C. Vitamin C (askorbik asit) vücudun sulu ortamlarında etki gösteren önemli ve güçlü bir antioksidandır. Başlıca antioksidan ortakları Vitamin E ve karotenoidler olup antioksidan enzimlerle birlikte etkin rol oynarlar. Vitamin C, membran ve lipoproteinlerde Vitamin E ile birlikte, α -tokoferol radikallerinden α -tokoferolü yeniden üretirler (Kojo, 2004; Carr ve Frei, 1999).

Askorbik asit iyonize olabilen iki hidroksil grubuna sahip olduğundan bir di-asittir (AscH_2) (Şekil 1.5). Fizyolojik pH'da Vitamin C'nin % 99,9'u AscH^- olarak, çok küçük oranlarda da AscH_2 (% 0,05) ve Asc^{2-} (% 0,004) olarak bulunur. AscH^- donör bir antioksidandır ve radikallerle reaksiyona girerek trikarbonil askorbat serbest radikali ($\text{AscH}^\bullet$) üretir.



Şekil 1.5 Çeşitli askorbik asit biçimleri ve radikallerle reaksiyonu (Kašparová ve diğer., 2005)

$\text{AsCH}^\bullet$ 'nın pK değeri -0.86 olduğundan dolayı protonlanmış halde ancak $\text{Asc}^{\bullet-}$ şeklinde bulunur (Şekil 1.5). Bu nedenle, birçok ROS askorbat oksidasyonunun ürünü, düşük reaktif bir radikal olan semi-dehidroaskorbat radikal olup ($\text{Asc}^{\bullet-}$) bu radikalin

seviyesi biyolojik sistemlerde ki oksidatif stres derecesinin ölçüsüdür (Kašparová ve diğer., 2005; Cuzzocrea, Thiemermann ve Salvemini, 2004).

Vitamin C'nin membranları oksidasyona karşı koruduğu kabul edilmektedir (Retsky ve diğer., 1999). Linus Pauling tarafından önerilen yüksek dozda Vitamin C alımı uzun yıllar tartışılmıştır (Cameron ve Pauling, 1976). Vitamin C'nin 2000 mg/gün değerlerinde metabolizmada okalat oluşumunu bilinmekle birlikte bu ve daha yüksek derişimler için faydaları ve yan etkilerine yönelik yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, yüksek riskli popülasyondaki düşük Vitamin C seviyelerinin prekanseröz lezyonlar olan gastrik metaplazi veya kronik gastrit riskini arttırdığı bildirilmiştir (You ve diğer., 2000).

Askorbat pro-oksidan etkisini, hasarlı hücrelerden metal iyonlarını salarak gösterir. Buna ek olarak, Vitamin C, 4-okso-2-nonenal, 4,5-epoksi-2(E)-dekenal ve 4-hidroksi-2-non-enal gibi DNA-reaktif çift işlevli elektrofillere olan lipid hidroperoksit ayrışımını indükler (Lee, Oe ve Blair, 2001). Bileşik 4,5-epoksi-2(E)-dekenal, insan DNA'sında bulunan aşırı derecede mutajenik bir lezyon olan eteno-2p-deoksiadenozinin bir öncüsüdür. Yakın zamanda yapılan in vitro ve ex vivo çalışmaları, plazmadaki Vitamin C'nin, redoks-aktif demir veya bakır ile H₂O₂ varlığında dahi, doza bağımlı lipid peroksidasyon direncini arttırdığını ortaya koymuştur (Suh, Zhu ve Frei, 2003).

1.2.7.2.3 Vitamin E. Vitamin E sekiz farklı formda bulunan yağda çözünen bir vitamindir. İnsanlardaki Vitamin E'nin en aktif şeklidir olan α -tokoferol, hücre tarafından kullanılan membrana bağı güçlü bir biyolojik antioksidandır (Burton ve Ingold, 1989). Temel antioksidan özelliği lipit peroksidasyonuna karşı korumadır (Pryor, 2000). Son zamanlarda elde edilen kanıtlar, α -tokoferol ile başlıca sulu faz antioksidanı olarak kabul edilen askorbik asitin döngüsel bir süreçte birlikte çalıştığını ortaya koymaktadır. α -tokoferol, antioksidan reaksiyon sırasında bir lipit veya lipid peroksil radikaline kararsız bir hidrojen vererek bir α -tokoferol radikaline dönüşür. α -tokoferol radikalide askorbik asit ile orijinal α -tokoferol formuna indirgenebilir (Kojo, 2004).

Vitamin E takviyelerinin etkileri incelendiğinde; 200 IU/gün gibi miktarlarda alımının güçlü bir hücre döngüsü inhibitörü olan p21waf1/cip1'i indükleyerek kanser hücrelerinin tetiklenmiş apoptozu ile kolorektal kanser insidansını azalttığı gösterilmiştir (White, Shannon ve Patterson, 1997). Genel olarak, Vitamin E'nin koruyucu etkisi, serbest radikal oluşumunun engellenmesi ve endonükleazların aktivasyonunun bir sonucudur.

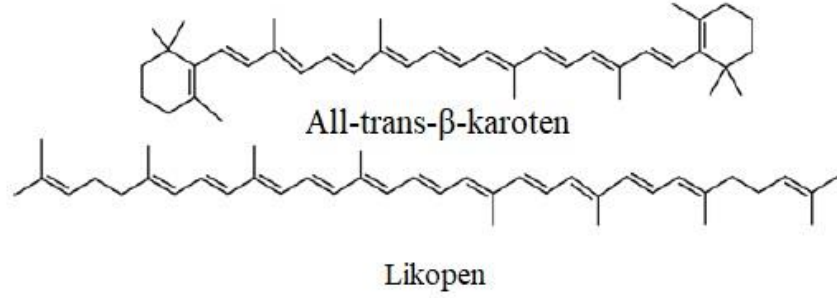
Diğer bir çalışmada, 4 yıllık bir süre boyunca kolorektal kanser adenomunu önlemek için Vitamin C ve betakaroten ile kombinasyon halinde verilen E Vitamini için olumsuz sonuçlar bildirilmiştir (Greenberg ve diğer., 1994) Vitamin C, Vitamin E'yi yenilediğinden, alınan fazla Vitamin E'nin Vitamin C'nin oksidatif hasara karşı koruyucu etkisini engellediği tespit edilmiştir (Dreher ve Junod, 1996).

Günümüzde 400 IU veya daha fazla alınan Vitamin E dozunun ölüm riskini artırabileceğini ortaya çıkaran bir araştırma (Miller ve diğer., 2005) sonuçlarına göre, günde 200 IU veya daha az bir doz ile alınan Vitamin E'nin ölüm riskinde artışa neden olmadığını, aksine yararları olduğunu bildirmiştir.

1.2.7.2.4 Karotenoidler. Karotenoidler (Car), bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan pigmentler olup, doğada 600'den fazla çeşit karotenoid bulunmaktadır (Şekil 1.6). Karotenoidler ile yapılmış çeşitli çalışmalar, belirli kanser türlerini, ateroskleroza, yaşa bağlı kas dejenerasyonunu ve çeşitli hastalıkları önleyebildiğini veya inhibe ettiğini göstermiştir. Karotenoidlerin antioksidan aktivitesi, öncelikli olarak, konjuge çift bağlı yapının, eşleşmemiş elektronları delokalize etme yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Mortensen, Skibsted ve Truscott, 2001) Bu durum, β -karotenin indirgeme olmaksızın singlet oksijeni fiziksel olarak sönmlesinin ve β -karoten ile peroksil ($\text{ROO}^\bullet$), hidroksil ($^\bullet\text{OH}$) ve süperoksit ($\text{O}_2^\bullet$) radikali gibi serbest radikaller arasındaki kimyasal reaktifliğin başlıca nedenidir. Karotenoidler, yüksek konsantrasyonlarda ise lipitleri peroksidatif hasara karşı koruyabilmektedir.

Genellikle serbest radikallerin ($\text{ROO}^\bullet$, $\text{R}^\bullet$) karotenoidler ile tepkimesi için üç mekanizma önerilmiştir:

- Radikal ekleme,
- Karotenoidten hidrojen ayırma,
- Elektron transfer reaksiyonu (El-Agamey ve diğer., 2004).

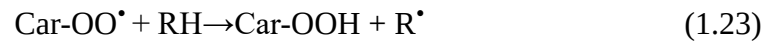


Şekil 1.6 Karotenoid yapısı

Karotenoidlerin antioksidanlardan pro-oksidanlara geçişini belirleyen temel faktörler, dioksijen (pO_2) ve karotenoid derişiminin kısmi basınçlarıdır (Rice-Evans ve diğer., 1997). Daha yüksek pO_2 'de karotenoid radikali olan $\text{Car}^\bullet$, (hidrojen ayırma yoluyla üretilen), bir karotenoid-peroksil radikali $\text{Car-OO}^\bullet$, üretmek için dioksijen ile reaksiyona girebilir (Kennedy ve Liebler, 1992):



$\text{Car-OO}^\bullet$ pro-oksidan olarak hareket ederek doymamış lipitin (RH) oksidasyonunu sağlar:



Sonuç olarak, karotenoidler (özellikle de β -karoten), genellikle 150 Torr'un altında olan düşük oksijenli kısmi basınçlarda antioksidan davranış gösterirlerken, yüksek oksijen basınçlarında antioksidan özellikleri kaybedebilmekte hatta pro-oksidan haline dönüşebilmektedir. Karotenoidlerin konsantrasyonun aynı zamanda anti/pro-oksidan

özelliklerini de benzer şekilde etkilemesi nedeniyle yüksek karotenoid konsantrasyonlarında pro-oksidan davranış eğilimi görülmektedir.

Karotenoidlerin çeşitli kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etkisi vardır. Likopen; meme, akciğer ve prostat hücre dizilerinde hücre döngüsü ilerlemesini inhibe etmektedir. Likopenin ayrıca transkripsiyon faktörlerini düzenlediği, likopen ile tedavi edilen meme kanseri hücrelerinde AP-1 bağlanmasını inhibe ettiği ve insülin benzeri büyüme faktörü-I indüksiyonunu azalttığı ve bu durumun, memeli kanseri hücresi büyümesi üzerindeki inhibitör etkisi gösterdiği belirlenmiştir (Karas ve diğer., 2000).

1.2.7.2.5 Polifenoller. Antioksidan fitokimyasallar, bir veya daha fazla hidroksillenmiş aromatik ya da fenolik halkaya sahip antioksidan aktiviteli bileşikler olup bitkilerde yaygın olarak bulunurlar. (Haslam, 1993; Herrmann, 1995). Antioksidan fitokimyasallar, yapısındaki fenolik halkaların sayısına ve türüne göre, sadece bir fenolik halkaya sahip fenolik asitler gibi basit yapılardan iki ya da ikiden fazla fenolik halkaya sahip polifenoller ve taninler gibi karmaşık yapılara kadar sınıflandırılabilirler. Aynı zamanda fenolik fitokimyasallar; şekerler, uzun karbon zincirleri ve fitosteroller gibi farklı bileşenlerle modifiye olarak çeşitli fenolik türevleri oluştururlar. Çoğu fitokimyasal, bitkinin renklerinden de sorumludur. Örneğin, polifenol sınıfından olan antosiyaninler, mor, siyah veya kırmızı renk pigmentleridir. Ayrıca fitokimyasallar, meyve ve sebzeler gibi yenilebilir bitkilerde yoğun, acı veya baharatımsı tatlar oluşmasına katkıda bulunurlar (Umar Lule ve Xia, 2005).

Bitki fenolleri, proteinlerle hidrojen bağları aracılığıyla kompleks yapılar oluşturabilmektedir. İzolasyon işlemleri sürecinde bitki hücresi membranlarının parçalanmasıyla bir araya gelen fenoller, proteinlerle hızla kompleksleşerek enzimlerin aktivitelerinin inhibisyonuna neden olabilirler. Öte yandan, fenollerin kendileri enzimatik oksidasyona çok duyarlı olduğundan, tüm bitkilerde bulunan 'fenolaz' enzimlerinin etkisiyle fenolik materyal izolasyon prosedürleri sürecinde etkinliklerini kaybedilebilirler. Bitkilerin yapısındaki fenollerin, yüksek sıcaklıklarda alkoller ile ekstre edilmesiyle enzimatik oksidasyon önlenir.

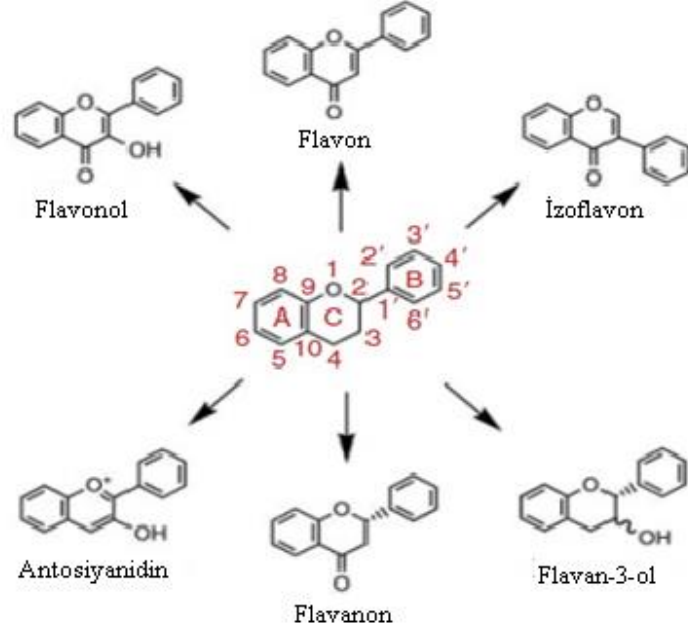
Fenolik bileşikler, genellikle şekerlerle kombine glikozidler olarak hücre boşluğunda bulunduğundan suda çözünür olma eğilimindedirler. Bu oluşan binlerce yapıdan, bilinen doğal fenolik bileşikler arasında en büyük grubu flavonoidler oluştururken basit monosiklik fenoller, fenilpropanoidler ve fenolik kinonların hepsi önemli düzeylerde yaygın olarak bulunmaktadır.

Fenolik pigmentler renkli olduklarından izolasyon ve saflaştırma sürecinde kolaylıkla izlenebilirler. Fenolik bileşikler aromatik yapıda olduklarından spektrumun UV bölgesinde yoğun bir absorpsiyon gösterirler. Buna ek olarak; fenolik bileşiklerin, alkali ortamdaki karakteristik spektrumlarında bazı batokromik kaymalar gözlenir. Bu nedenle, spektral yöntemler fenollerin tanımlanması ve kantitatif analizi için özellikle önemlidir.

Farklı bitkilerden izole edilmiş polifenoller bir dizi kanser hücre hattında kanser büyümesinin farklı evreleri göz önünde bulundurularak incelenmiştir. Örneğin; çilekten izole edilmiş kemferol, kersetin, antosiyanin, kumarik asit ve ellagik asit içeren polifenollerin insan göğüs (MCF-7), ağız (KB, CAL-27), kolon (HT-29, HCT-116) ve prostat (LNCaP, DU-145) kanser hücre hatlarındaki inhibisyon etkisi gösterilmiştir (Zhang ve diğer., 2008; Damianaki ve diğer., 2000). Benzer sonuçlar, şarap ekstraktlarından izole edilmiş polifenollerin (resveratrol, kersetin, kateşin ve epikateşin) yanı sıra yeşil çay polifenolleri (epigallokateşin, epikateşin) ile yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Weisburg ve diğer., 2004). Ek olarak, Manthey ve diğer. (2001) turuncu flavonoidlerinin HL-60 lösemi hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini bildirmiştir.

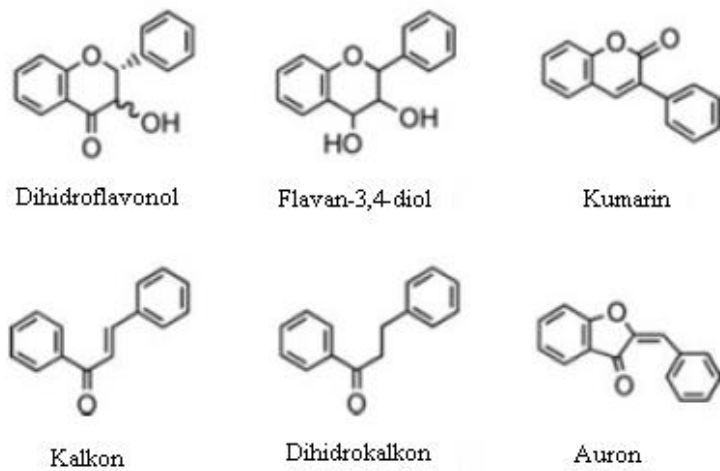
Flavonoid. Flavonoidler, 3-karbon köprüsü ile birbirine bağlı 2 aromatik halkadan oluşan 15 karbonlu polifenolik bileşiklerdir (Şekil 1.7). Yaprakların epidermisleri ile meyvelerin kabuklarında yüksek derişimlerde bulunan flavonoidler sekonder metabolit olarak önemli ve çeşitli rollere sahiptirler. Flavonoidler, bitkilerde UV koruması, pigmentasyon, azot fiksleme nodüllerinin uyarılması ve hastalık direnci gibi çeşitli süreçlerde yer alırlar (Koes ve diğer., 1994; Pierpoint, 2000). Flavonoidlerin

ana alt sınıfları; flavonlar, flavonoller, flavan-3-oller, izoflavonlar, flavanonlar ve antosiyanidinlerin genel formülleri (Şekil 1.7)'de görülmektedir.



Şekil 1.7 Flavanoid alt sınıfları

Şekil 1.8'den görüldüğü gibi besinlerdeki miktar olarak az bulunan diğer flavanoid grupları; dihidroflavonoller, flavan-3,4-dioller, kumarinler, kalkonlar, dihidrokalkonlar ve auronlardır.



Şekil 1.8 Flavanoidlerin kantitatif olarak az olan alt sınıfları

Temel flavonoid iskeleti sayısız bileşene sahip olabilir. Hidroksil grupları genellikle 4', 5' ve 7' konumlarında bulunur. Flavonoidler doğal olarak, şekerlerle glikozid formunda bulunurlar. Bu yapı, flavonoidlerin suda çözünürlüğünü arttırırken, metil grupları ve izopentil birimleri gibi diğer bileşenler ise flavonoidlere lipofilik karakter kazandırır.

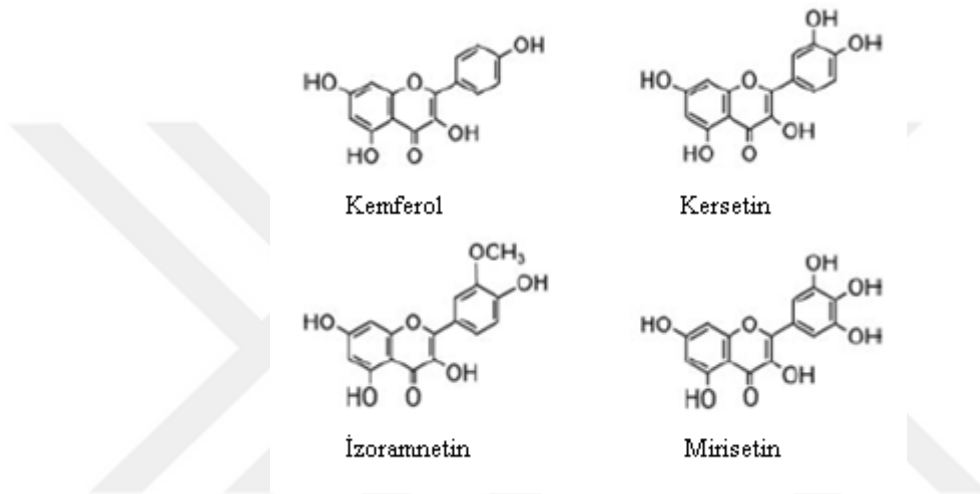
Flavonoidler, otçullara karşı koruyucu maddeler içermekle birlikte bunların birçoğu fitoaleksinlerdir. Bunların bir örneği, tropik bir bitkinin yapraklarında biriken solunum zincirinin bir inhibitörü olan zehirli izoflavon dimeri rotenondur. Güney Amerika'daki yerliler, bu bitkilerin yapraklarını suyun içine daldırarak balıkları öldürürler.

Flavonlar ve flavonoller en fazla emilimine UV bölgesinde sahiptir. Koruyucu pigmentler olarak, bitkileri UV ışığın zararlı etkisinden korurlar. Yaprakların UV ışığına maruz kalması flavonoid biyosentezinde önemli artışlara neden olur. Kalkon sentazdaki veya kalkon izomerazdaki bir kusur nedeniyle, flavonları sentezleyemeyen *Arabidopsis thaliana* mutantları UV ışığının zararlı etkilerine son derece duyarlıdır. Bazı bitkilerde, sinapik asidin yağlı asit esterleri ayrıca UV ışığına karşı koruyucu pigmentler gibi davranmaktadır.

Birçok flavonoid radikal sönmüleyici özellikleriyle, reaktif oksijen türlerinin (ROS) lipid peroksidasyonunu önlerler. Besin maddelerinin bileşenleri olarak, bunların kardiyovasküler hastalıklara ve kansere karşı koruyucu maddeler olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, flavonoid içeren yeşil çay, soya sosu ve kırmızı şarap gibi besinler sağlık için faydalıdır.

Bununla birlikte flavonoidler ve diğer fenolik maddeler, bağırsaklarda lokal olarak anti-kanserojen etki gösterebilirler. Burada intraluminal antioksidan işlevinin dışında, Faz II ksenobiyotik metabolizma enzimlerini indükleyebilir, araşidonik asit kaskadını (Shahidi ve diğer., 1995) inhibe ederek biyolojik olarak aktif prostaglandinlerin üretimini bastırabilir ve ayrıca hücre içi protein kinazları inhibe ederek mitozu inhibe edebilirler (Prasad, 1997).

Flavonol. Flavonoidlerin en yaygın olan flavonoller, yosun ve mantar dışında hemen hemen tüm bitkilerde bulunur. Mirisetin, kersetin, izoramnetin ve kemferol gibi flavonoller (Şekil 1.9) yaygın olarak O-glikozid formunda bulunurlar. Konjugasyon en sık C-halkasının 3 konumundan gerçekleşirken, karbon halkasının; 5, 7, 4', 3' ve 5' pozisyonlarından da gerçekleşebilir. Aglikonların sayısı sınırlı olmakla birlikte, sadece kemferolün 200'den fazla farklı şeker konjugesi olan çeşitli flavonol konjugatları bulunmaktadır (Strack ve Wray, 1992).



Şekil 1.9 Flavonol alt sınıfları

Sıklıkla tüketilen meyve, sebze ve içeceklerde bulunan flavonol düzeylerine yönelik yapılmış pek çok araştırma mevcuttur (Hertog ve diğer., 1992, 1993). Flavonol düzeyleri, mevsimsel ve türlere bağlı olarak oldukça büyük farklılıklar göstermektedir (Crozier ve diğer., 1997).

Kersetin, flavonol sınıfına ait iyi bilinen ve yüksek miktarda bulunan biyoflavonoidlerden biri olup, son 30 yıldır araştırmacılar tarafından kapsamlı olarak incelenmiştir (Han ve diğer., 2012; Chirumbolo ve diğer., 2010; Saragusti ve diğer., 2010; Zheng ve diğer., 2010). İn vitro araştırmalar ile bazı ön hayvan ve insan çalışmaları kersetinin, Faz I klinik antikanser ilaç özelliğiyle tümör büyümesini inhibe ettiğini göstermektedir (Han ve diğer., 2012; Sun ve diğer., 2010; Tan ve diğer., 2003). Kersetinin, Hanahan ve Weinberg'in tanımladığı kanserin neredeyse tüm ayırıcı özelliklerini modüle ettiği belirlenmiştir (Spagnuolo ve diğer., 2012).

Bir pleiotropik molekül olarak, antioksidatif ve antiproliferatif etki, hücre döngüsünün durması, apoptozun indüklenmesi ve hücre invazyonu ile anjiyogenezinin inhibisyonu gibi çeşitli yollar üzerinden kimyasal önleyici ve antikanser etkileri bulunmaktadır (Linsalata ve diğer., 2010; Tan ve diğer., 2003; Borska ve diğer., 2012; Chan ve diğer., 2013; Khonkarn ve diğer., 2011). Kersetinin, antikanser etkilerini sağladığı mekanizmalar hala tam olarak bilinmemekte ve daha yoğun araştırmalara konu olmaya devam etmektedir (Borska ve diğer., 2012).

Kersetin; elma, narenciye, kırmızı üzüm, İtalyan lahanası, brokoli ve domates gibi pek çok meyve ve sebze ile kapari, papağan, maydanoz, zeytinyağı, kırmızı şarap, kakao ve birkaç çilek (örneğin kızılçik, yaban mersini, ela, karanlık kiraz, çilek) türünde bulunur (Suh ve diğer., 2010; Zandi ve diğer., 2011; Zhang ve diğer., 2012; Angst ve diğer., 2013; Elattar ve Virji, 2010; Veeriah ve diğer., 2007; Rodgers ve Grant, 1998).

Kersetinin faz II metabolizması için en önemli hedefi 3'-hidroksil grubu olup bu hidroksil grubunun kersetinin katekol kısmı ile konjugasyonunun, aglikonlara kıyasla kersetinin biyolojik aktivitesini zayıflattığı düşünülmektedir (Van der Woude ve diğer., 2004).

Kersetinden metabolik olarak türetilmiş izoramnetinin birincil kaynağını farklı meyve ve sebzeler oluşturmaktadır (Vasanthi, Mukherjee ve Dou 2009). İlginç olan, izoramnetinin biyoyararlanımının, kersetininkinden daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Bunun nedeni metillenmiş flavonoidlerin emilim ve metabolik kararlılığının, metilleştirilmemiş ana moleküllerle kıyasla önemli ölçüde yüksek olmasıdır (Wen ve Walle, 2006; Walle, 2007).

Luo ve diğer. (2009) yaptıkları çalışmalarında kemferolün inhibisyon etkisi % 91 ile yumurtalık kanseri hücre hatları % 94 ile A2780/CP70 de sırasıyla 20 ve 40 μ M derişimlerinde etkin olduğu bulunmuştur.

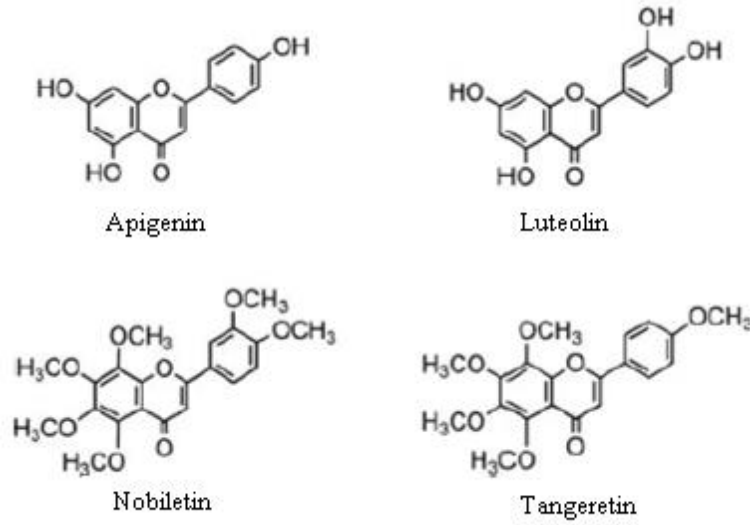
Yapılmış çalışmalar mirisetin'in akciğer, özofagus, lösemi ve prostat kanseri hücreleri üzerinde antiproliferatif bir etki yaptığını göstermiştir (Lu ve diğer., 2006; Zhang ve diğer., 2008; Nadova ve diğer., 2007; De Leo ve diğer., 2006). JB6 P+ fare epidermal hücrelerindeki raporlar, mirisetinin NF- κ B'nin aktivasyonunu bloke etmek suretiyle COX-2 ekspresyonunu inhibe ederek kimyasalların zararlı etkilerini önleyici özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Lee ve diğer., 2007).

Ayrıca mirisetinin, kolorektal karsinoma hücrelerinde MMP-2 protein ekspresyonu ve enzim aktivitesi üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Ko ve diğer., 2005). Bu etkiyi kanser hücrelerini apoptozise teşvik ederek oluşturmaya rağmen mirisetinin, migrasyon ve invazyon için kesin etkileri ile ilgili moleküler mekanizmaları halen tam aydınlatılamamıştır.

Flavon. Flavonların flavonoller ile çok yakın bir yapısal ilişkisi vardır. Flavonlar 2-fenilkromen-4-on (2-fenil-1-benzopiran-4-on) omurgasına sahiptir. Luteolin ve apigenin gibi çoğu flavon, A ve C halka sübstitüsyonlarına sahip olmalarına rağmen, C3 konumunda bir oksijenasyona sahip değildirler (Şekil 1.10).

Flavonlar ile hidroksilasyon, metilasyon, O- ve C-alkilasyon ve glikosilasyon gibi çeşitli sübstitüsyon formları mümkündür. Çoğu flavon 7-O-glikozid formunda bulunur. Flavonollerden farklı olarak, flavonların dağılımı sınırlıdır. Kayda değer miktarda sadece kereviz, maydanoz ve bazı şifalı otlarda bulunurken, nobiletin ve tangeretin gibi polimetoksillenmiş flavonlar ise turuncgillerde bulunmaktadır. (Gaitan ve diğer., 1989).

Katekol grubunun varlığı peroksil, süperoksit ve peroksinitrit radikallerine karşı sönmüleme aktivitesinin artırılması ile ilişkilidir. (Heim, Tagliafemo ve Bobilya, 2002; Cao ve diğer., 1997). Leopoldini ve diğerleri, (2004) flavonoidlerdeki bu dihidroksi işlevselliğinin hidrojen atomunun verilmesinde aktif olarak rol oynadığını, Rice-Evans ve diğerleri de, (1996) luteolin için bu işlevselliğin antioksidan aktiviteye, apigenin ve krisine kıyasla yaklaşık % 25 oranında katkıda bulunduğu sonucuna varmışlardır.



Şekil 1.10 Flavon alt sınıfları

Doğal veya sentetik olan luteolin türevleri, çeşitli nörolojik rahatsızlıkların önlenmesi ve / veya tedavisinde potansiyel ajanlar olarak da kullanılmaktadır. Örneğin bir Parkinson hastalığı modelinde, sinarozid'in (luteolin-7-O- β -D-glikopiranosid) ROS ile ilgili ürünleri verimli bir şekilde sönmlediği, GSH düzeyini arttırdığı ayrıca hücreleri, oksidatif stresden koruyarak proapoptik kaspaz-3 ve kaspaz-8'in aktivitelerini azalttığı belirlenmiştir (Lin ve diğer., 2012). Bu flavonun aynı hücresel modeldeki nöroprotektif aktivitesi de yakın zamanda teyit edilmiştir (Ho ve diğer., 2013).

Apigenin ve luteolin gibi çeşitli diyet flavonları, antitümör özelliklere sahiptir (Singh ve diğer., 2014). Luteolin, Akt ve NF- κ B inhibisyonu yoluyla apoptozu indükler ve hücre proliferasyonunu, metastazı ve anjiyogenezi engelleyerek (Lin ve diğer., 2008) hücre döngüsünün G2/M fazında durmasına neden olur (Wu ve diğer., 2008). Apigeninin, transkripsiyon faktörü 3'ün aktive edilmesi (Li ve diğer., 2009), Akt'in (protein kinaz B) engellenmesi (Lee ve diğer., 2008) ve Aktin düzenlenmesinin bozulmasıyla (Franzen ve diğer., 2009) tümörjenezini inhibe ettiği bilinmektedir.

Hipokampal hücrelerde, apigenin (5-60 μ M) nöroprotektif potansiyeli, kainik aside bağlı eksitotoksitenin doza bağımlı inhibisyonu ile hücre içi ROS üretiminin azalması, GSH düzeyinin artmasıyla ortaya çıkar (Han ve diğer., 2012).

Turunçgil kabuklarından izole edilen O-metile flavon nobiletinin, PC12 hücrelerinde H₂O₂ kaynaklı oksidatif strese karşı koruma göstermiştir (Lu ve diğer., 2010). Bu hücrelerin 3-25 µM'de nobiletine maruz kalması, SOD ve GSH aktivitelerinde doza bağımlı bir artışa, MDA düzeyleri ile lipid peroksidasyonunda azalmaya, mitokondriyal membran potansiyelinin düzenlenmesi ile birlikte caspase-3 aktivitesinin inhibisyonuna yol açar (Lu ve diğer., 2010). Ayrıca, bu flavon (10 - 50 mg/kg) yaşlanması hızlandırılmış farelerin (SAMP8) tedavisinde GSH/GSSG oranını düzenleyip, GSHPx ve SOD etkinliklerinin artırılması ve fare beyninin hipokampusundaki tau proteininin fosforilasyonunu azaltarak Alzheimer hastalığının tipik semptomları olan öğrenme ve hafıza bozukluklarının onarılmasına imkan sağlar (Nakajima ve diğer., 2013).

Eupatorin, *Tanacetum vulgare* (Schinella ve diğer., 1998), *Lantana montevidensis* (Nagao ve diğer., 2002) ve *Orthosiphon stamineus* (Tezuka ve diğer., 2000) gibi çeşitli bitkilerden izole edilebilen doğal bir flavondur. Eupatorinin göğüs kanseri hücrelerinde antiproliferatif aktivitesini, sitokrom P450 CYP1 enzimlerini (Androustopoulos ve diğer., 2008) eksprese ederek ve çeşitli kanser hücrelerinde kaspaz aktivasyonu (Dolečková ve diğer., 2012; Estevez ve diğer., 2014) göstermektedir.

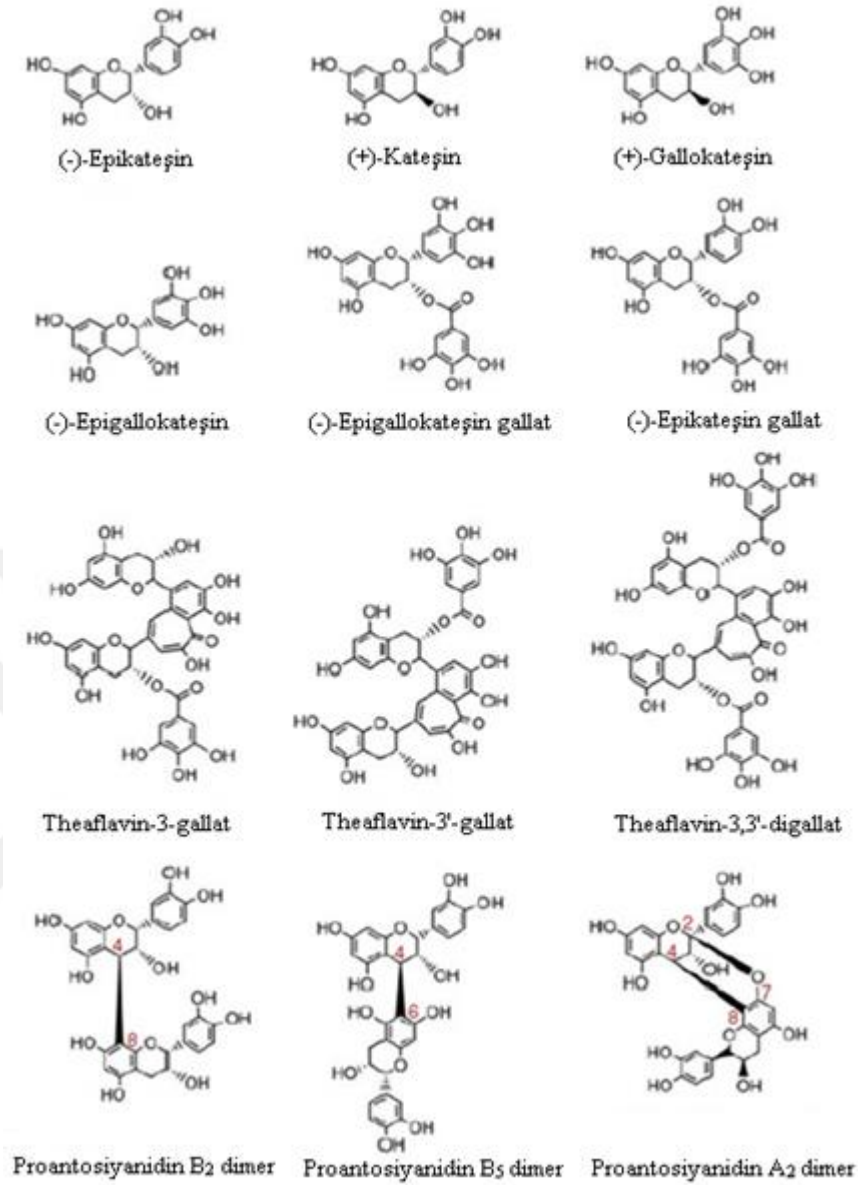
Flavan-3-ol. Flavan-3-ol'ler en kompleks flavonoid alt sınıfı olup, basit monomerler olan (+)-kateşin ve izomeri (-)-epikateşinden, yoğunlaştırılmış tanenler olarak da bilinen oligomerik ve polimerik proantosiyanidinlere (Şekil 1.11) kadar değişkenlik göstermektedir. Düzlemsel moleküller olan flavon, flavonol, antosiyanidinler ve izoflavonların aksine; flavan-3-ol, proantosiyanidin ve flavanonlar, heterosiklik C-halkasında doymuş bir C3 elementine sahip olduklarından düzlemsel değildirler.

Flavan-3-ol'lerin C2 ve C3'teki iki kiral merkezi, başta nadir olarak bulunan (-)-kateşin ve (+)-epikateşin ile yaygın olarak bulunan (+)-kateşin ve (-)-epikateşin olmak üzere, her B-halkası hidroksilasyon seviyesi için dört izomer oluşturur (Clifford, 1986).

Flavanonların sadece C2 kiral merkezleri varken, oligomerik ve polimerik proantosiyantinler C4'de ek bir kiral merkeze sahiptir. Enantiyomer çiftleri, yaygın olarak kullanılan ters fazlı HPLC kolonlarında çözülmediğinden kolaylıkla göz ardı edilebilmektedir. Görselleştirilmesi zor olmakla birlikte kiralitedeki bu farklılıklar, (epi)gallokateşin galatları moleküllerin 3-D yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bunların redoks özelliklerine ya da radikalleri sönmleme kabiliyetlerine çok az katkısı olsa da, bağlanma özellikleri üzerinde daha belirgin bir etkiye sahip olması beklenmektedir (Unno ve diğer., 2000).

Bitkilerde en bol bulunan proantosiyantin türü, sadece (epi)kateşin birimlerinden oluşmuş proantosiyantinler olan prosiyanidinlerdir. Kırmızı şaraplar, esas olarak siyah üzüm çekirdeklerinden kaynaklı oligomerik prosiyanidin ve prodelfinidinleri içerirken (Auger ve diğer., 2004), kavrulmuş kakao çekirdeklerinden elde edilen koyu renkli çikolata (*Theobroma cacao*) zengin prosiyanidin kaynağıdır (Gu ve diğer., 2004). Yeşil çay (*Camellia sinensis*), esas olarak (-)-epigallokateşin, (-)-epigallokateşin galat ve (-)-epikateşin galat gibi yüksek seviyelerde flavan-3-ol içermektedir (Şekil 1.11). Çay yapraklarının fermentasyonu sürecinde kateşin seviyesi düşmektedir (Del Rio ve diğer., 2004).

Flavan-3-ol'ün demir ve diğer önemli mineralleri şelatlama kabiliyeti, bakterilerde olduğu gibi ciddi esansiyel mineral yoksunluğu yaratarak invaziv mikroorganizmaların gelişimini sınırlar. Ayrıca bitki yapısındaki (-)-epikateşin fungal saldırılara karşı direnç sağlayabilmektedir.

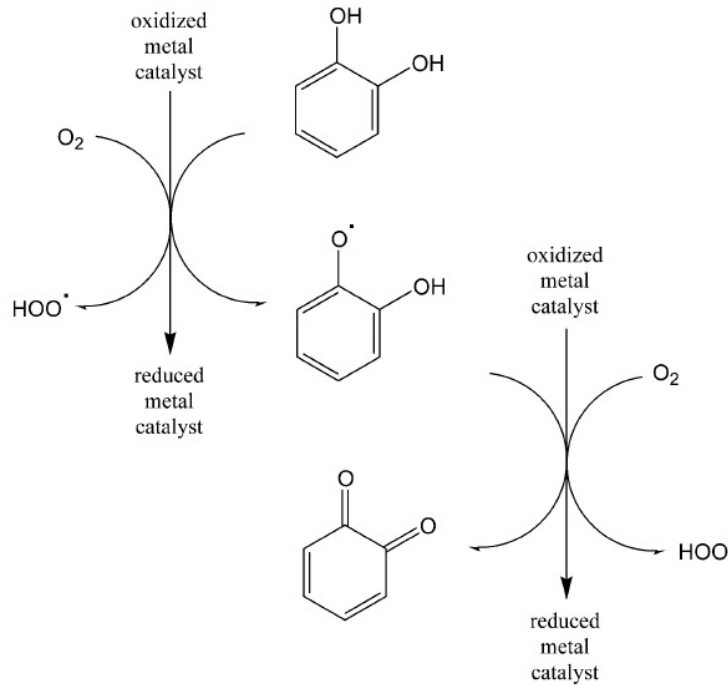


Şekil 1.11 Bazı flavan-3-ol yapıları

Bazı bitki türleri, komşu bitki türlerinin çoğalmasını önleme amacıyla (-)-kateşin gibi flavan-3-ol'lerden yararlanır. (-)-Kateşin, komşu bitki kök hücrelerinin ölümüne neden olan reaktif oksijen üretimiyle kalsiyum sinyal kaskadlarını tetikleyerek apoptozise neden olur (Ahmad ve diğer., 2000; Bais ve diğer., 2003). Eğreltiotu (*Athyrium yokoscense*) ile yapılan araştırmalarda; flavan-3-ol'lerin varlığının, bitkinin yüksek kurşun seviyelerini tolere etme kabiliyeti ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Kamachi ve diğer., 2005).

Çoklu araştırmalarla teyit edildiği gibi flavan-3-ol'ler, çoğu diğer flavonoidler gibi plazmada ağırlıklı olarak konjuge formlarında bulunur (Macanh ve Donovan, 2004). Karaciğer, böbrek, beyin, gastrointestinal sistem, plazma, idrar ve sıçanlara ait dışkılarıdaki flavan-3-ol derişimleri üzerine yapılan araştırmalar esas flavan-3-ol ve prosiyanidinlerin gastrointestinal sistemde ve sülfatlanmış metabolitlerde bulunabileceğini göstermektedir. İdrarda prosiyanidin dimerleri (B-1, B-2, B-3 ve B-4) ve trimerleri (C-2) tespit edilebildiğinden plazma, karaciğer ve böbreklerde yalnızca kateşin glukuronidleri ve metile edilmiş glukuronid metabolitlerinin varlığı düşünülmektedir. Flavan-3-oller, serbest radikallerin sönümlenmesi, geçiş metallerinin şelatlanması ile enzimlerin inhibisyonu gibi çeşitli mekanizmalarla antioksidan davranışlar göstermektedir (Cos ve diğer., 2004).

Flavan-3-ol'ler elektronik konfigürasyonu nedeniyle, elektronlarını kolaylıkla bırakarak serbest radikal formuna dönüşürler (Şekil 1.12). Radikal formundaki flavan-3-ol'ler (F[•]) radikal oksijen türleriyle reaksiyona girerek sönümlemeyi gerçekleştirirler.



Şekil 1.12 Fenolik oksidasyon ve radikal formasyonu

Flavan-3-ol ve onların mikrobiyal fenolik asit metabolitlerinden türetilmiş radikaller, başlangıçtaki radikalik formuna kıyasla kararlı ve daha az zararlı olması nedeniyle vitamin C ve E'den daha iyi antioksidan olduğu belirtilmektedir (Havsteen, 2002; Kitao ve diğer., 2006).

Flavan-3-ollerin oksidasyonu, ağırlıklı olarak nükleofilik katılma sonucunda oligomerik bileşikler üretmek üzere semikinon radikalleri üretmektedir. Bu nedenle flavan-3-oller antioksidan kapasiteleri açısından flavonollerden üstündür (Bors, Michel ve Stettmaier, 2000).

Fenton reaksiyonunda demir, hidroksil radikalleri üretimini katalize eder. Flavan-3-ol'lerin iki değerlikli geçiş metallerini şelatlama kabiliyeti, bu katyonların derişimini ve dolayısıyla oksidatif aktivite gücünü azaltır (Beecher, 2004; Janisch ve diğer., 2006).

Flavan-3-ol hidroksilasyon modelleri ve polimerizasyon derecesinin alüminyum şelatlama kapasitesine etkisini içeren bir araştırmanın sonuçlarına göre, özellikle B halkasının o-dihidroksilfenil grupları ile hidroksil gruplarının, metal şelasyonu için gerekli olduğunu, polimerizasyon derecesinin artırılmasıyla tanen-metal komplekslerinin daha yüksek kararlılığa sahip olduğu belirlenmiştir (Yoneda ve Nakatsubo, 1998).

Flavan-3-ol monomerleri ve proantosiyanidinler, plazma kolesterol düzeylerini düşürerek kan pıhtı oluşumuna katkıda bulunan platelet yapışmasını ve toplanmasını önler, LDL oksidasyonunu inhibe, endotel nitrik oksit sentazını ise aktive eder (Havsteen, 2002; Bagchi ve diğer., 2003; Wiswedel ve diğer., 2004).

Flavan-3-oller ayrıca, enzim modifikasyonu ve hücre sinyal yollarının modülasyonu yoluyla oksidatif stresi baskılar. Bu durum, flavan-3-ol yapısı ile ilişkili protein reaktivitesine büyük ölçüde bağımlıdır (Ottaviani ve diğer., 2006).

Flavan-3-ol'lerin güçlü antioksidan ve serbest radikal sönümlleme özellikleri kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde onları ideal aday haline getirmektedir. 2003 yılından bu yana yayınlanan bazı çalışmalar, yapı-kardiyoprotektif fonksiyon ilişkilerini göstermektedir (Cos ve diğer., 2004).

Steinberg ve diğerleri (2002) çalışmalarında; kakao türevi flavan-3-ol ve oligomerik prosiyanidinlerin artan zincir uzunluğunun LDL oksidatif duyarlılığını azalttığını ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, monomerlerin eşdeğer derişimlerinin, LDL'yi eşit derecede inhibe etmiş olması, prosiyanidinlerin biyolojik substrat üzerindeki antioksidan gücünün, yalnızca zincir uzunluğundan değil, halka yapısına ve katekol gruplarının sayısına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Mevcut meme kanseri araştırmalarında potansiyel tedavi olarak aromataz ve östrojen reseptörleri hedeflemektedir. Kanıtlar, flavan-3-ol'lerin aromataz inhibitörleri olarak işlev gördüğünü ileri sürmektedir (Lave ve Hudis, 2002). Aromataz inhibitörleri, in vivo östrojen seviyelerini azaltarak tümör büyümesini engeller. Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanılan birkaç seçici aromataz inhibitörü, in vivo östrojen seviyelerini %10'a varan oranlarda azaltmaktadır (Kijima ve diğer., 2006).

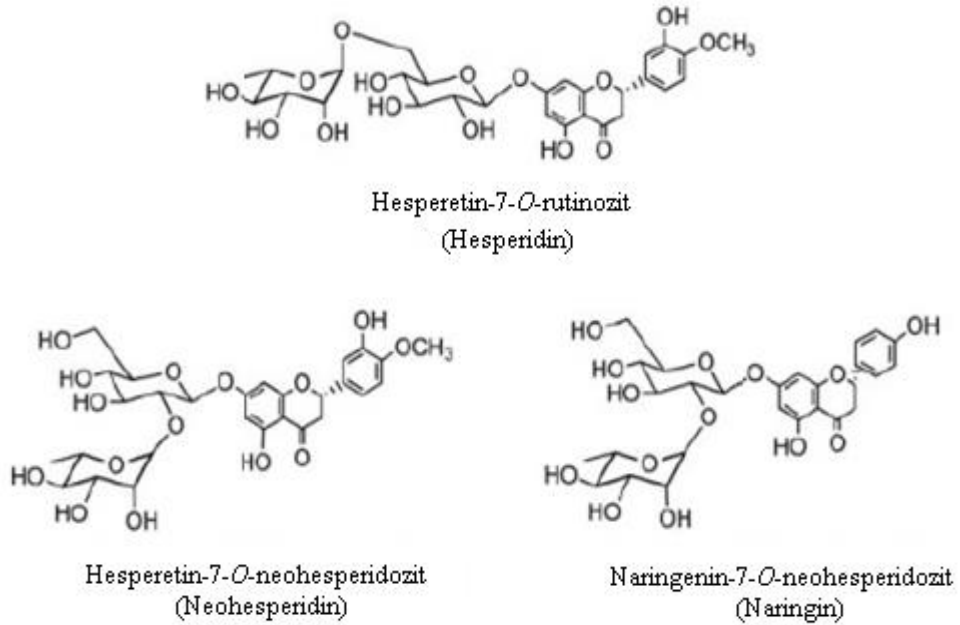
Kanser gelişiminin kimyasal bileşenlerle önlenmesi ile ilgili (-)-epigallokateşin gallat'ın (EGCG) başlıca faaliyetleri; birçok protein kinaz aktivitesinin inhibisyonu, aktive protein-1 (AP-1) ve NF κ B gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunun bloke edilmesi, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, apoptozun indüklenmesi, hücre döngüsü düzenlemesinin modülasyonu, reseptör bağlanmasıyla engellenmesiyle invazivlik ve anjiyogenezin baskılanmasıdır (Yang ve diğer., 2002).

Bazı çalışmalarda (-)-epikateşin gallat'ın (EKG), EGCG'den daha az sitotoksik (Tan ve diğer., 2000; Valcic ve diğer., 1996; Yang ve diğer., 1998) iken başka çalışmalarda benzer sitotoksiteler göstermişlerdir (Chen ve diğer., 2000; Elattar ve Virji, 2000). Ayrıca EKG'nin, EGCG'ye göre daha fazla sitotoksik olduğu çalışmalar da mevcuttur (Chen ve diğer., 2002; Lyn-Cook ve diğer., 1999; Okabe ve diğer., 1997).

İnsan kanseri hücreleriyle yapılan çalışmalarda EKG'nin EGCG gibi, kromozomların telomerini korumakla sorumlu ters transkriptaz olan telomerazı inhibe ettiği (Naasani ve diğer., 1998), hücre döngüsünde G1 arrestini indüklediği (Tan ve diğer., 2000), hücre transformasyonu (Sachinidis ve diğer., 2000) ile invazyonunu (Maeda-Yamamoto ve diğer., 1999) ve arttırılmış antioksidan yanıt elementi (ARE) aracılı gen ekspresyonunu (Chen ve diğer., 2000) inhibe ettiği belirlenmiştir.

Ortak bazı kimyasal özelliklere sahip olan EKG ve EGCG'nin her ikisi de WIL2-NS hücrelerindeki tert-bütilhidroperoksit ve hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynaklı (Sugisawa ve diğer., 2004) kromozomal hasarı önleyebilecek düzeyde güçlü radikal sönmüleme faaliyetleri sergilemiştir (Kinjo ve ark, 2002; Nakagawa ve Yokozawa, 2002).

Flavanon. Flavanonlar, C2'de kiral merkeze sahip iken, $\Delta^{2,3}$ çift bağına sahip değildirler (Şekil 1.13). Doğal olarak oluşan flavanonların çoğunda, C-halkası, C2'deki B halkasına α -konfigürasyonunda bağlanır. Flavanonların yapısı son derece reaktiftir ve hidroksilasyon, glikozilasyon ve o-metilasyon reaksiyonlarına maruz kalırlar. Flavanonlar, özellikle turunçgillerde yüksek derişimlerde bulunur. En yaygın flavanon glikozid, narenciye kabuğunda bulunan hesperetin-7-O-rutinozit (hesperidin)'dir.



Şekil 1.13 Çeşitli flavanon yapıları

Flavanon rutinozidler tatsızdır. Aksine, greyfurtan (*Citrus aurantium*) hesperetin-7-O-neohesperidozit (neohesperidin) ve greyfurt kabuğundan (*Citrus paradisi*) naringenin-7-O-neohesperidozit (naringin) gibi flavanon neohesperidozit konjugatları, yoğun acı bir tada sahiptir. Örneğin neohesperidin dihidrokalkon, alkolsüz biralarda kullanılan bir tatlandırıcıdır.

Flavanonların antioksidan aktivitesi fenolik OH⁻ gruplarının sayısına ve 3 boyutlu yönelişine bağlıdır (Cai ve diğer., 2006; Sadeghipour ve diğer., 2005). 9 farklı flavanonun (naringin, neohesperidin, neoeriocitrin, hesperidin, narirutin, naringenin, hesperetin, eriodictyol ve izosakuratronin) antioksidan özelliklerine ilişkin karşılaştırmalı bir çalışma, karotenoid (krosin) ağartma testi ile yapılmıştır. Bu çalışmaya göre katekol varlığının (B halkasında 3',4'-dihidroksi varlığı) ve o-metilasyonunun, aglikonların antioksidan aktivitesi üzerinde kayda değer bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Buna karşılık, katekolün o-metilasyonu zıt bir etkiye sahip iken, bir katekole sahip olan glikozitlerin antioksidan aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Di Majo ve diğer., 2005). O-glikozilasyon genellikle antioksidan aktiviteyi azaltır, bu da glikozidik bağda yer alan OH⁻ grubunun radikal sönmüleme tepkimesine katıldığını gösterir (Van Acker ve diğer., 1996). Antioksidan aktivitesi üzerinde farklı glikozil gruplarının az da olsa etkisi olabilmektedir. Örneğin, hesperetinin C7-OH grubu üzerinden neohesperidoz tarafından glikozilasyonu antioksidan aktiviteyi etkilerken, rutinoz ile glikosilasyonun bir etkisi bulunmamıştır (Di Majo ve diğer., 2005).

Bir hidroksil grubu üzerinden süstitüsyon, tipik olarak antioksidan aktiviteyi azaltırken, bir hidroksil grubunun eklenmesi antioksidan aktiviteyi fazlasıyla artırabilir. Örneğin, 3',5'-dihidroksinaringin (pirogallol B-halkası) antioksidan aktivitesi, naringenin için yaklaşık 70 kat daha fazladır (Ye ve diğer., 2009).

Flavanonlar hidrofilik bir ortamda daha yüksek antioksidan aktivitesi gösterirler. Lipofilik bir ortamda bazı flavanonların (neohesperidin, hesperetin, izosakuranatin) antioksidan potansiyelinde azalma görülürken, diğer flavanonlar (naringin, narirutin, naringenin, neoeriocitrin, eriodictyol) pro-oksidan durumundadır (Finotti ve Di Majo,

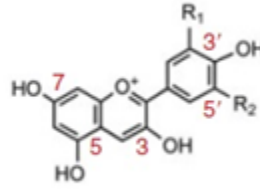
2003). Genel olarak, katekol grubundan yoksun olan flavanonlar zayıf antioksidanlar olması sebebiyle sağlık etkileriyle ilgili önemli mekanizmalar, antioksidan aktiviteleriyle ilgili değildir.

Hesperidin'in (hesperetin 7-rutinoside), enflamasyona yanıtında hücrel sinyal iletimi ve aktivasyonundan sorumlu olan kinazları ve fosfodiesterazları inhibe ettiği belirlenmiştir (Manthey ve diğer., 2001). Hesperidinin sıçanlarda karajenan ile indüklenen akciğer zarı iltihabı üzerindeki inhibitör etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, eksüdaların hacminde ve lökositlerin sayısında sırasıyla % 48 ve % 34 oranında azaldığını, bunun da hesperidinin zayıf antiinflamatuvar etkisinden kaynaklandığını göstermektedir. Ayrıca, bu araştırma grubu, hesperidin'in sıçanlarda maya kaynaklı hipertermiyi azaltabildiğini göstermiştir (Emim ve diğer., 1994). Başka bir çalışmada hesperidin, lipopolisakkarid (LPS) ile indüklenmiş siklooksijenaz-2'nin aşırı ekspresyonu, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS), prostaglandin E2 ve nitrik oksidin (NO) aşırı üretimi (Sakata ve diğer., 2003) üzerinde inhibitör etki göstermiştir.

Flavanonlar UV ışığını sönmleme kapasiteleri ile DNA hasarını engelleyebilir. UV ışınlanmış bir plasmidik DNA modelinin sonuçları, DNA'ya UV ile indüklenen hasara karşı naringenin önemli koruyucu etkisini göstermiştir (Kootstra, 1994). Flavanonların orta düzeyli antioksidan kapasitesi de DNA'nın, yakın bölgesinde üretilen serbest radikaller tarafından mutasyonlarına karşı korunmasında etkilidir. Ayrıca naringin, H₂O₂ ile indüklenen sitotoksisteyi ve apoptozu muhtemelen bir apoptoz ile ilişkili genin H₂O₂ ile indüklenen ekspresyonu üzerindeki etkisiyle inhibe eder (Kanno ve diğer., 2003). Naringenin, insan prostat kanseri hücrelerinde oksidatif hasarın ardından DNA onarımı uyararak serolojik ve mutajenik değişiklikler ortaya çıkarabilmektedir (Gao ve diğer., 2006).

Antosiyanidin. Esas olarak antosiyaninlerin konjuge türevleri olan antosiyanidinler, özellikle kırmızı, mavi ve mor renklerden sorumlu olup meyve ve çiçek dokularında yaygın olarak bulunurlar. Yaprak mezofil hücrelerini gölgelemek suretiyle bitkilerin aşırı ışık karşısında korunmasına ve polenleşmeyi sağlayan böceklerin cezbedilmesinde önemli rol oynarlar. Diğer flavonoidlerin aksine, antosiyaninler

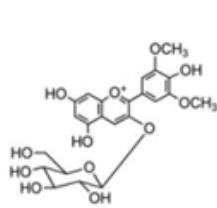
merkezi halka yapısında pozitif bir yük taşırlar ve bu nedenle katyoniktirler. En yaygın antosiyanidinler pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin ve malvidin'dir (Şekil 1.14.).



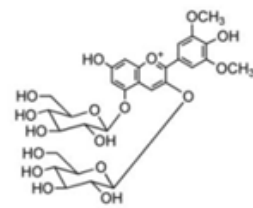
Antosiyanidin	R ₁	R ₂	MW
Pelargonidin	H	H	271
Siyanidin	OH	H	287
Delphinidin	OH	OH	303
Peonidin	OCH ₃	H	301
Petunidin	OCH ₃	OH	317
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	331

Şekil 1.14. Ana antosiyanidin yapıları

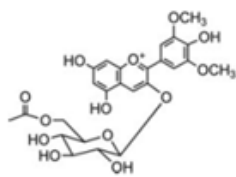
Bitki dokularında bulunan antosiyanidinler, antosiyaninler olarak bilinen şeker konjugatları olarak bulunur. Antosiyaninler ayrıca hidroksisinnamatlar ile malik ve asetik asitler gibi organik asitlerle konjuge yapılar oluşturabilirler. Konjugasyon en sık C3 üzerinden olmak üzere 3, 5, 7, 3' ve 5' karbonları üzerinden de gerçekleşebilir (Şekil 1.15). Bağlanmış olan farklı şeker birimlerinin sayısı ve yapısı nedeniyle, 500'den fazla bileşik yapısında antosiyanin bulunmaktadır (Harborne ve Baxter, 1999).



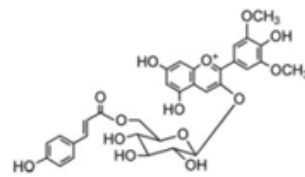
Malvidin-3-O-glukozit



Malvidin-3,5-di-O-glukozit



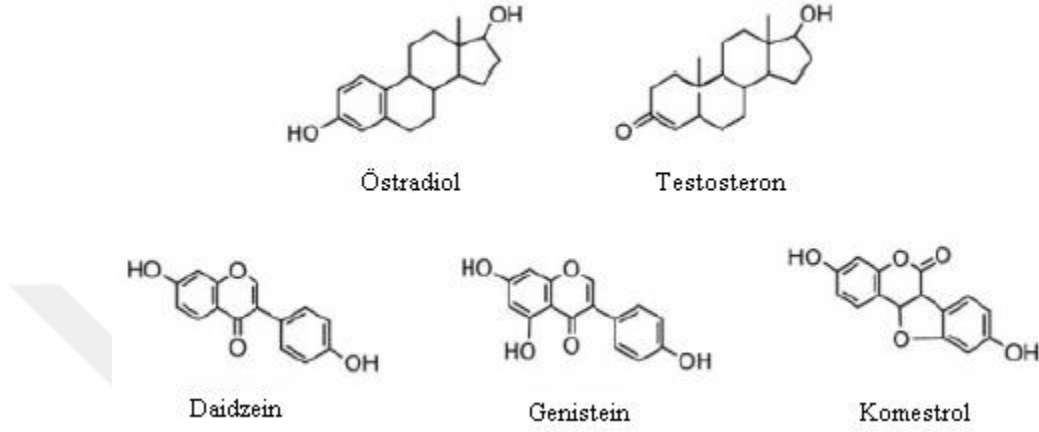
Malvidin-3-O-(6'-O-p-asetil)glukozit



Malvidin-3-O-(6'-O-p-kumaroil)glukozit

Şekil 1.15 Antosiyanidin yapıları: malvidin-3-O-glukozit konjugatları

İzoflavon. İzoflavon bileşiklerinin temel yapısı, heterosiklik piran C halkası ile bağlanmış iki benzen halkasından (A ve B) oluşan flavon yapısıdır (Messina, 1999). Flavonoidlerin aksine izoflavonlar, flavonoidlerin 2-fenilkroman iskeletinden biyogenetik olarak türetilen 3-fenilkroman iskeletine sahiptir (Şekil 1.16).



Şekil 1.16 Ana izoflavon yapıları

İzoflavonlar, en yüksek konsantrasyonu soya fasulyesinde (*Glycine max*) olmak üzere baklagillerde bulunurlar (ABD-Tarım Bakanlığı, Tarımsal Araştırma Servisi, 2002). Soya izoflavonları daha çok suda çözünen glikozidik konjugatlar olarak gıdalarda bulunur ve emiliminden önce memeli veya mikrobiyal glukozidazlar tarafından şeker biriminin enzimatik hidrolizini gerektirmektedir.

İnsanlarda genistein, dihidrogenistein ve 6-hidroksi-O-desmetilangolensin'e metabolize olurken buna karşılık daidzeinin, izoflavonoid, equol, dihidrodaidzein ve O-desmetilangolensine metabolize olduğu keşfedilmiştir.

Kabuklu ve köklü bitkilerden elde edilen izoflavonlar fito-östrojenler olarak adlandırılırlar. Bunlardan özellikle genistein, daidzein ve komeşrol, inek ve koyun gibi otçul hayvanların üremesini ciddi oranda etkileyen östrojenik aktiviteye sahiptirler. Bu izoflavonların yapısı, yumurtlamayı bloke eden steroidal hormonu östradiolü taklit etmektedir. Bu nedenle, hayvanların baklagil yemi tüketimi kısıtlanmalı veya düşük izoflavon içeren türleri seçilmelidir.

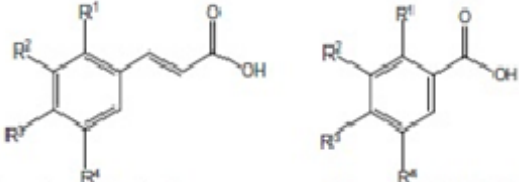
Soya ürünlerinden alınan daidzenin ve genisteinin insanlardaki prostat ve meme kanserinin görülme oranını azalttığı belirtilmektedir (Crozier, Clifford ve Ashihara, 2006). Her ikisi için ilgili mekanizmaları birbirinden farklıdır. Prostat kanseri hücrelerinin büyümesi, östradiol ile üretilen androjen testosteronu tarafından başlatılır. Doğal östradiol yetersiz olduğunda izoflavonlar androjen seviyelerini düşürebilir ve sonuç olarak tümör büyümesini inhibe eder. Meme kanseri, özellikle erken dönemlerde büyüme için östrojene bağımlıdır. İzoflavonlar, doğal östrojenlerle rekabet eder ve bunların mevcudiyetlerini kısıtlayarak kanserli hücrelerin büyümesini baskırlar.

Östrojen agonisti ve antagonisti olarak davranmaya ek olarak, soya izoflavonu olan genistein, protein-tirozin kinazın bilinen bir inhibitörü olup protein-tirozin kinaz aracılı sinyal yolunu inhibe ederek kanser hücrelerinin büyümesini zayıflatır (Akiyama ve diğer., 1987; Hunter, 1987; Ullrich ve Schlessinger, 1990).

Daidzein, genistein ile benzer bir yapıya sahip olmasına rağmen, daidzein protein-tirozin kinaz üzerinde inhibitör etkisi göstermez. Genistein ayrıca, kendisinin antiproliferatif veya proapoptotik etkilerine katkıda bulunan topoizomerez I ile II, 5 α -redüktaz ve protein-histidin kinaz aktivitelerini inhibe eder (Okura ve diğer., 1998; Evans ve diğer., 1995; Huang ve diğer., 1992).

Soya izoflavonlarının antioksidan etkiye sahip olduğu, ayrıca serbest radikalleri sönmleyerek, bu serbest radikallerin karsinogenezin ilerlemesine olan katkılarını azaltarak hücreleri koruduğu bilinmektedir (Ruiz-Larrea ve diğer., 1997; Zhou ve Lee, 1998). Ayrıca genisteinin hücre sağkalımı için önemli olan NF- κ B 'nin DNA bağlama aktivitesiyle Akt sinyal yolağını inhibe ettiği belirlenmiştir (Wu ve diğer., 1996; Van Antwerp ve diğer., 1998; Cardone ve diğer., 1998). Genisteinin bu etkilerinin, genistein ile tedavi edilen hücrelerde apoptotik süreçlerin indüksiyonuna dahil olduğu düşünülmektedir.

Fenolik Asitler. Fenolik asitler yapılarında en az bir hidrojen ve bir hidroksil grubu ile bir aromatik halkaya sahiptirler. Fenolik asitler hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar (Şekil 1.17).

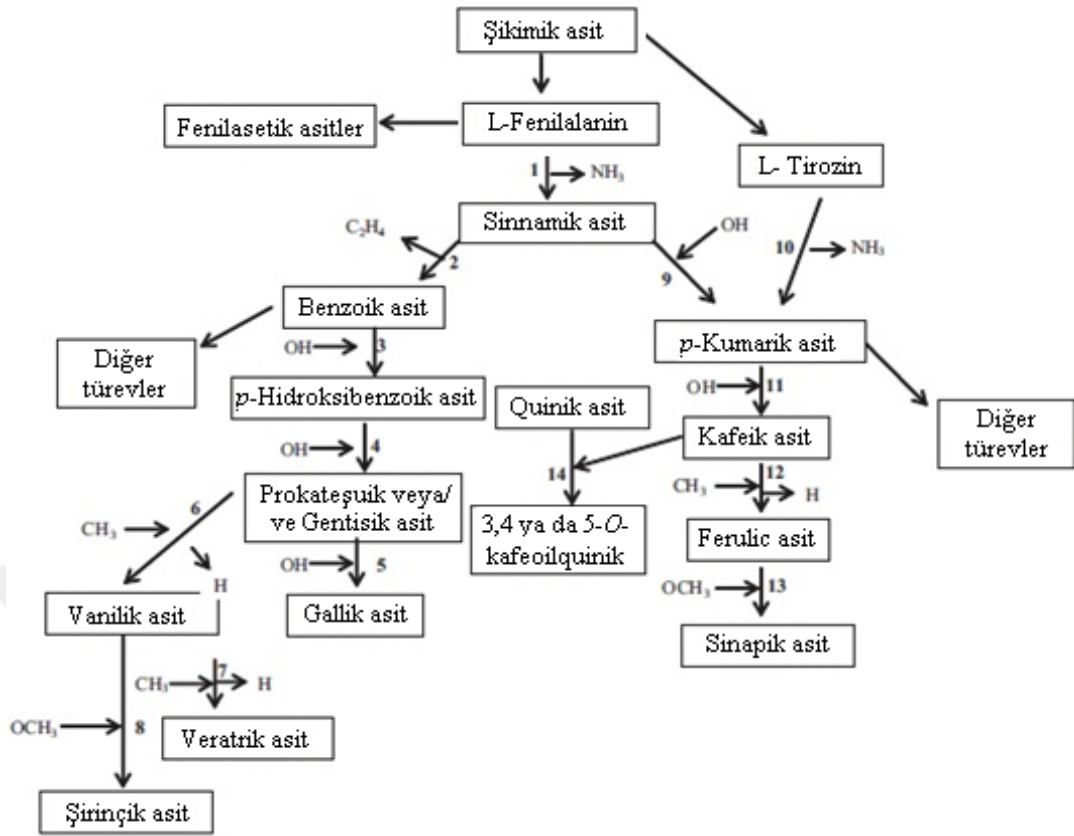


Süstitüsyon	Sinnamik asit türevleri	Benzoik asit türevleri
R ¹ =OH	<i>o</i> -Kumarik asit	-
R ³ =OH	<i>p</i> -Kumarik asit	<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit
R ³ -R ⁴ =OH	Kafeik asit	Protokateşik asit
R ² =OCH ₃ , R ³ =OH	Ferulik asit	Vanilik asit
R ² -R ³ =OCH ₃	-	Veratrik asit
R ³ -R ³ -R ⁴ =OH	-	Gallik asit
R ¹ =R ⁴ =OH	-	Gentisik asit
R ² -R ⁴ =OCH ₃ , R ³ =OH	Sinapik asit	Şirincik asit
R ¹ =OH, R ⁴ =HSO ₃	-	5-Sülfosalisilik asit
R ² =R ³ =OH	3,4 ya da 5- <i>O</i> -kaffeoilkinik asit	-

Şekil 1.17 Başlıca fenolik asitler

Kimyasal olarak, bu bileşikler, L-fenilalanin veya L-tirozinden (Rice-Evans, Miller ve Paganga, 1996) şikimik asit yolağıyla sentezlenir. Bu yoldaki fenilalanin ve tirozin çok önemli amino asitler olup doğal fenolik ürünlerin çoğunluğu için ortak öncülerdir (Şekil 1.18).

Deaminasyon, hidroksilasyon ve metilasyon, fenolik asitlerin oluşumunda rol oynayan başlıca üç tepkimedir (Şekil 1.18) (Gross, 1985). İlk olarak, sırasıyla, sinnamik ve/veya *p*-kumarik asitler veren fenilalanin ve/veya tirozin deaminasyonu meydana gelir. Sinnamik ve *p*-kumarik asit aromatik halkaları daha sonra ferulik ve kafeik asit türevlerini oluşturmak üzere hidroksillenir ve metillenir. Benzoik asit oluşumu, sinnamik asit yan zincirinin bozulmasından kaynaklanır. Benzoik asidin aromatik halkasında, protokateşik ve *p*-hidroksibenzoik asit gibi türevlerini oluşturan, aynı sinnamik ve *p*-kumarik asitler için bahsedilen hidroksilasyon ve metilasyon reaksiyonları meydana gelebilir (Gross, 1985).



Şekil 1.18 Fenolik asitler için şikimik asit yolağı (Gross, 1985)

Fenolik asitler, insan diyetinin önemli bir bölümünü temsil eden, hemen hemen tüm bitki kaynaklı gıdalarda bulunur. İnsanlarda ortalama fenolik asit alımının diyet alışkanlıklarına ve tercihlere bağlı olarak 200 mg/gün olduğu bildirilmiştir (Clifford ve Scalbert, 2000).

En çok karşılaşılan ve incelenen fenolik asitler kafeik ve ferulik asitlerdir. Kafeik asit, en sık klorojenik asit olmak üzere, ester formlarında bulunur (Clifford ve Scalbert, 2000). Kahve, kafeik, ferulik ve *p*-kumarik asit gibi bağlanmış fenolik asitler için iyi bir kaynaktır (Nardini ve diğer., 2002). Belirli bir miktar kahve içen hastalarda plazmada dolaşan, fenolik asitlerin metillenmiş, glukuronlanmış ve sülfatlanmış metabolitleri tanımlanmıştır (Marmet ve diğer., 2014).

Nardini ve diğerleri (2009), beyaz şaraptan fenolik asitlerin emilimini incelemiş ve tek bir kadeh şarap tüketiminden sonra hidroksisinnamik asitlerin gastrointestinal

sistemden emildiğini, büyük ölçüde glukuronid ve sülfat konjugatlarına metabolize edildikten sonra kan dolaşımına katıldığını bildirmişlerdir.

Fenolik asitler serbest formda alındığında ince bağırsaktan hızlıca emilerek konjuge edilir (Scalbert ve Williamson, 2000). Bununla birlikte bileşiklerin kimyasal yapıları, konjugasyon reaksiyonları ile bağırsak mikroflorasının kolonda oluşturduğu metabolitlerin miktarlarını da etkileyebilir (Scalbert ve Williamson, 2000).

Örneğin klorojenik asitte (kinik aside bağlı bir kafeik asit esteri) olduğu gibi, bağlı ester grubu onun biyolojik özelliklerini değiştirebilir. İnsan dokularında, klorojenik asitteki kafeik asidi serbest bırakabilecek esterazlar yoktur (Plumb ve diğer., 1999). Bu nedenle, klorojenik asit metabolizması için gerekli reaksiyonlarda kolon bakterileri aktif rol oynar. Bu durumla uyumlu olarak, hücre duvarlarına bağlanan ferulik veya diğer hidroksisinamik asitler, insan endojen enzimlerinden ziyade kolon mikroflorası ksilanazları ve esterazları tarafından gerçekleştirilir (Kroon, ve diğer., 1997). Bu moleküller kolon florasınca hidrolize edildiğinde absorpsiyonları azalır. Çünkü flora, aglikonları bozabilmekte ve basit aromatik asitler ortaya çıkabilmektedir (Scalbert ve Williamson, 2000).

Gallik asit, stiptik amaçlı kullanımının yanı sıra antineoplastik, bakteriyostatik, antimelanojenik ve antioksidan özellikler gibi birçok biyoaktiviteye sahiptir (Kim, 2007). Gallik asit ayrıca prostat karsinoma hücrelerinde antikanser özellikler de göstermiştir (Kaur, ve diğer., 2009).

Lu ve diğer. (2010) çalışmalarında, insan glioma hücrelerinde proliferasyonu, invazyonu ve anjiyojenezi baskılayabilme özelliğine dayanarak beyin tümörlerinin tedavisi için gallik asiti önermişlerdir. Başka bir çalışmada da gallik asitin, HeLa servikal kanser hücrelerinin ölümünü apoptoz ve nekroz ile indüklediği bulunmuştur (You ve diğer., 2010).

Yine Lou ve diğer. (2012) tarafından antimikrobiyal aktivite ile ilgili yapılan bir çalışmada, *p*-kumarik asitin bakterisit aktivitesinin, bakteriyel hücre zarlarını ve

hücrel fonksiyonları bozarak apoptozise yol açan bakteriyel genomik DNA'ya bağlandığı ikili mekanizmalara sahip olduğu rapor edilmiştir.

Glukuronidasyon ve sülfasyon, polifenoller daha hidrofilik hale getirerek etki kapasitelerini ve diğer antioksidanlarla etkileşimlerini değiştirebilir (Manach ve diğer., 2004). Hidroksil gruplarına ek olarak bir karboksil grubu taşıyan fenolik asitler için, indirgeyici hidroksil (fenil-O-glukuronid) ve karboksilik gruplarında (açıl glukuronidlerde) glukuronidasyon meydana gelebilir. Bu nedenle, açıl glukuronidler, ana bileşiğin tüm serbest indirgeyici hidroksil fonksiyonlarını muhafaza ederken, fenil-O-glukuronidlerde ise fenolik asitin en az bir hidroksil grubu, glukuronat birimine bağlanmaktadır.

Fenolik asit ve esterlerinin antioksidan aktivitesi, sterik engelleme ile güçlendirilecek olan molekül içindeki hidroksil gruplarının sayısına bağlıdır. Benzoik asitlerdeki karboksilat grubunun elektron çekme özellikleri, hidroksi benzoatların H-verme yetenekleri üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Bu nedenle hidroksillenmiş sinamatlar, benzer benzoatlara kıyasla daha etkilidir. Bununla birlikte, monohidroksibenzoatlar hidroksilasyon eğilimlerine ve hidroksil radikalının yüksek reaktivitesine bağlı olarak etkili hidroksil radikal sönmüleyicidir. *p*-Kumarik asitte olduğu gibi bir *p*-hidroksil ve karboksilat grubu taşıyan fenil halkasına bir etilenik grubunun eklenmesi, *p*-hidroksifenil asetik asit ve sinnamik asitle karşılaştırıldığında, OH grubunun indirgenmesi üzerinde olumlu bir etkiye sahipken, *m*-ve *o*-kumarik asitler birbirine yakın TEAC değerlerine sahiptir.

Bu, COOH-CH=CH - ve COOH-CH₂- gruplarının halka üzerindeki elektron verici etkisi ve halkadaki hidroksil gruplarının sayısı ile tutarlıdır. Sinnamik asitlerdeki monohidroksil grupları, fenilasetik asitlerdeki monohidroksil gruplarına kıyasla hidrojen donörü olarak daha uygundur. Sinnamik asitteki -CH=CH-COOH gruplarının varlığı, benzoik asitlerdeki karboksilat grubuna kıyasla daha fazla H-verme kabiliyeti ve radikal stabilizasyonu sağlar (Rice-Evans ve Paganga, 1996).

1.2.7.2.6 Polifenollerin Antioksidan Özellikleri. Hücrede, lipid oto-oksidasyonunu önlemede veya geciktirmede antioksidanlar etkin rol oynarlar Hücredeki serbest radikallerin sönümlenmesinde fenolik halkadaki hidroksil grupları, elektron vererek antioksidan işlevi görürler. Fenolik radikal ara ürünleri, fenolik halkada meydana gelen rezonansa bağlı olarak nispeten kararlı olduklarından yeni bir serbest radikal zincir reaksiyonu başlatmazlar. Ayrıca Fenolik radikal ara ürünleri, zincir reaksiyonunu sona erdirmek için diğer serbest radikallerle reaksiyona girebilir. Aynı zamanda fenolikler; ilgili enzimleri deaktif ederek, serbest radikal üreten metal iyonlarını şelatlayarak, reaktif oksijen ve azot türlerinin oluşumunu baskırlar (Cotelle, 2001). Fenolik halkalardaki hidroksil gruplarının sayısı ve konumu da flavonoidlerin antioksidan kapasitesinde önemlidir. (Bors ve Michel, 2002). Fenil halkasına bağlı -CH=CH-COOH grubu, rezonansın stabilitesini artırdığından hidroksisinnamik asit türevlerinin, karşılık gelen hidroksibenzoik asit türevlerine kıyasla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Rice-Evans ve diğer., 1996).

Antioksidanlar oksidasyonu birincil antioksidan olarak doğrudan veya ikincil antioksidan olarak dolaylı olmak üzere iki şekilde sönümleyebilir. Birincil antioksidanlar, E vitamini (α -tokoferol) gibi fenolik bileşikler içerir ve bu bileşenler indüksiyon süresince tüketilir. İkincil antioksidanlar, metal iyonlarının bağlanması, oksijenin giderilmesi, hidroperoksitlerin radikal olmayan türlere dönüştürülmesi, UV radyasyonunun absorbe edilmesi veya singlet oksijenin deaktif edilmesi gibi çeşitli mekanizmalarda yer alır. Normal olarak, ikincil antioksidanlar sadece ikinci bir minör bileşen olduğunda antioksidan aktivite gösterirler. Bu, metal iyonlarının varlığında etkili olan sitrik asit gibi şelatlayıcı ajanlar ile tokoferollerin veya diğer primer antioksidanların varlığında etkili olan askorbik asit gibi indirgeyici ajanlarda gözlemlenebilir.

İnsan hastalıkları ve sağlığında süperoksit anyonu ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin önemi nedeniyle, flavonoidlerin bu radikallere karşı reaktivitesi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Genellikle kullanılan iki süperoksit anyon kaynağı vardır. Bunlar enzimatik (hipo) ksantin-ksantin oksidaz (X / XO) sistemi ve fenazin

metosülfat-NADH sistemi veya potasyum süperoksit gibi enzimatik olmayan kaynaklardır (Uneo ve diğer., 1984; Robak ve Gryglewski, 1988; Chen ve diğer., 1990). Flavonoidlerin ksantin oksidaz inhibitörleri ve süperoksit radikal sönmleyicileri olarak yapı-aktivite ilişkisi Cos ve diğer., (1998) tarafından rapor edilmiştir.

C-5 ve C-7'deki hidroksil gruplarının ile C-2 ve C-3 arasındaki çift bağın, ksantin oksidaz üzerinde yüksek bir inhibitör aktivitesi için vazgeçilmez olmasının yanı sıra, B halkasındaki C-3' ve C-3 üzerinde bulunan bir hidroksil grubu yüksek süperoksit anyon radikali sönmleme aktivitesi için esansiyeldir. Ksantin oksidaz ve süperoksit anyon radikali sönmleme etkilerine göre flavonoidler altı gruba ayrılır:

1. Ksantin oksidazı inhibe edici aktivitesi olmayan süperoksit anyon radikali sönmleyeciler,
2. İlave bir süperoksit anyon radikali sönmleme aktivitesi olmayan ksantin oksidaz inhibitörleri,
3. İlave bir süperoksit anyon radikali sönmleme aktivitesine sahip ksantin oksidaz inhibitörleri,
4. Süperoksit anyon radikali üretiminde ek bir pro-oksidan etkiye sahip ksantin oksidaz inhibitörleri,
5. Ksantin oksidaz üzerinde etkiye sahip olan ancak süperoksit anyon radikali üretiminde pro-oksidan etkiye sahip olan flavonoidler,
6. Ksantin oksidaz veya süper oksit anyon radikalini etkilemeyen flavonoidler.

Hidroksil radikalının süperoksit anyona kıyasla reaktivitesinin yüksek olması sebebiyle zararı daha fazladır. Flavonoidlerin hidroksil radikale olan reaktivitesi genellikle süperoksit anyonuna göre çok daha yüksektir. Örneğin, rutin, (+)-kateşin, (-)-epikateşin ve 7,8-dihidroksi flavon, hidroksil radikalını, manitol gibi tipik bir hidroksil radikal sönmleyiciden 100-300 kat fazla sönmler (Hanasaki ve diğer., 1994).

Flavonoidler ayrıca singlet oksijen (1O_2) ile reaksiyona girer. Yeşil çayda bulunan (-)-epigallokateşin gallat (EGCG), (-)-epigallokateşin (EGC) ve (-)-epikateşin (EC) gibi flavonoidlerin, 1O_2 'yi sönümlediği belirtilmiştir (Guo ve diğer., 1999). Yapı-aktivite ilişkisi için, 13 flavanoid (flavonol, flavon, flavanon ve flavan sınıflarından) seçilerek, bunların 1O_2 ile olan reaktivitesi incelenmiştir. Fiziksel sönümleme etkinliğinin, esasen B halkası üzerindeki katekol grubu tarafından kontrol edildiğini, buna karşılık C halkasının yapısının (özellikle çift bağı aktive eden bir hidroksil grubunun mevcudiyeti), bu bileşiklerin 1O_2 ile olan kimyasal tepkime verimliliğini belirleyen ana faktörler olduğu belirlenmiştir (Tournaire ve diğer., 1993).

Flavonoidler, hücrelerdeki reaktif oksijen türlerinin üretimini de engeller. Bazı flavonoidler, uyarılmış insan nötrofillerinin (PMN'ler) O_2 tüketimini, O_2 'nin süperoksit anyonuna indirgenmesinden sorumlu enzim olan NADPH-oksidaz üzerindeki inhibisyon etkisi ile yavaşlatır. Flavonoidlerin varlığında PMN'lerin uyarılmasının gerçekleştirilmesi durumunda süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit üretimi önemli ölçüde azalır. Bazı flavonoidler, nötrofillerde bulunan ve HOCl gibi güçlü oksidanlar üretmek için H_2O_2 ile Cl^- oksidasyonunu katalize etmekle görevli miyeloperoksidaz aktivitesini önemli derecede azaltır.

Her ne kadar NO'nin kendisi nispeten reaktif değilse de, konsantrasyonu, nörotransmitterini ve ikinci mesaj fonksiyonunu bastırdığında ve özellikle de biyolojik moleküllerin çoğunda çok reaktif bir oksidan olan peroksinitrit ($ONOO^-$) üreten süperoksit anyonuyla reaksiyona girdiğinde zararlı hale gelir. Bazı çalışmalar, flavonoidlerin reaktif azot türlerini etkili bir şekilde sönümlediği göstermiştir. Bazı flavonoidlerin $ONOO^-$ sönümleme etkinliğinin etkin bir peroksinitrit sönümleyici olan ebselen'den on kat daha fazla olduğu bulunmuştur (Haenen ve diğer., 1997; Masumoto ve diğer., 1996). Antosiyanidinler, van Acker ve diğer., (1995) ve Haenen ve diğerlerinin (1997) tanımladığı gibi, NO ve $ONOO^-$ 'nin etkili sönümleyicileridir.

Polifenoller, hücreleri oksidatif stres kaynaklı sitotoksiteden kolayca korurlar (Skaper ve diğer., 1997; Duthie ve diğer., 1997). Buna ek olarak, bu bileşikler, antitümör, antiviral, antibakteriyel, kardiyoprotektif, prooksidan ve antimutajenik

aktiviteyi içeren geniş bir etki spektrumu gösterirler (Rice-Evans ve diğer., 1996; Markovits ve diğer., 1989; Chen ve diğer., 1998). Polifenoller, tümör hücrelerine karşı sitotoksik etkilerini;

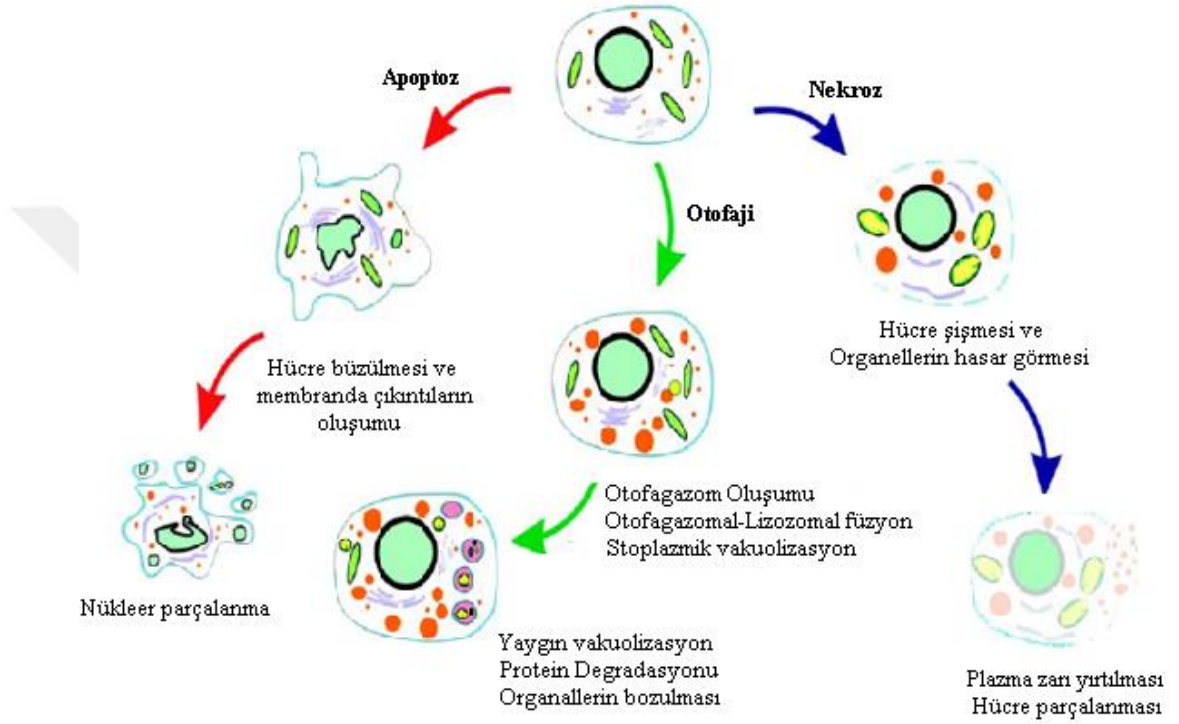
1. Topoizomeraz inhibisyonu (Markovits ve diğer., 1989),
2. Fosfatidilinositol 3-kinaz inhibisyonu (Agullo ve diğer., 1997),
3. Hücre döngüsü durması (Lepley ve diğer., 1996),
4. Tümör bastırma proteini p53'ün birikimi (Plaumann ve diğer., 1996) veya c-fos ve c-myc genlerinin ekspresyonu arttırması (Chen ve diğer., 1998) ile gösterirler.

Reaktif ara maddelere metabolik aktivasyon, polifenoller ve flavonoidler, peroksidazlar ve polifenol oksidazlar için substratlar gibi davranabildiklerinden sitotoksik mekanizmaya katkıda bulunarak, kuinon veya kinometamit tipi prooksidan ve / veya alkilleyici ürünler üretir (Galati ve diğer., 2001; Jorgensen ve diğer., 1998; Metodiewa ve diğer., 1999).

1.3 Reaktif Oksijen Türleri ve Hücre Ölümü (Apoptozis)

Apoptozis, hücrelerin genetik olarak belirlenmiş eliminasyonunu kapsayan, “programlanmış” hücre ölümünün önemli ve ayırt edici bir şekli olarak kabul edilir. Apoptoz, normal olarak gelişim ve yaşlanma sırasında, hücre popülasyonlarının dokularda muhafaza edilmesi için homeostatik bir mekanizma olarak, bağışıklık reaksiyonlarında, hücreler hastalık veya zararlı maddeler tarafından hasar gördüğünde bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkmaktadır (Norbury ve Hickson, 2001). Ayrıca apoptoz, “kaspaz” adı verilen bir sistein proteazları grubunun başlatıcı proteinlerle aktivasyon zincirleri sonunda gerçekleşen bir süreçtir. Apoptotik hücre ölümü genetik olarak programlanmış bir mekanizma olup hücrenin intihar etmesine izin verir. Apoptotik hücre ölümü, hasar görmüş ya da enfekte hücrelerin elimine edilmelerini sağladığından çok hücreli organizmaların canlılıklarını devam ettirmelerinde kritik öneme sahiptir. Programlanmış hücre ölümü; Apoptozis, otofaji ve nekrosiz olarak üç farklı şekilde gerçekleşir (Şekil 1.19).

Apoptoz internal ve ekstrenal faktörlerle tetiklenebilir. Bazı hücrelerde eksternal ligand ve protein çapraz bağlanmasıyla apoptozise yol açabilen Fas veya TNF reseptörlerini eksprese eder (Hirsch ve diğer., 1997; Zeiss, 2003). Kanser tedavisinde kemoterapik bazı ajanlar veya radyoterapik ışınlama hücrelerde DNA hasarı ile sonuçlanmakta olup bu durumda p53'e bağlı yol izi üzerinden apoptotik ölüme yol açmaktadır.



Şekil 1.19 Hücre ölüm şekilleri

Ekzojen veya endojen faktörlerin hücrede apoptotik veya nekrotik ölüme neden olması faktörlerin türüne ve aynı zamanda düzeyine bağlı olarak değişir. Düşük dozlarda, ısı, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik antikanser ilaçlar gibi çeşitli zararlı uyarıcılar apoptozu indükleyebilirken aynı uyarıların yüksek dozları nekroz yolu ile ölüme neden olabilmektedirler.

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve mitokondri, hem fizyolojik hem de patolojik koşullar altında apoptozis indüksiyonunda önemli rol oynar. Mitokondri hem ROS'un kaynağı hem de hedefidir. Kaspaz aktivasyonunu tetikleyen mitokondriden sitokrom c salınımına ROS'ların etkisi doğrudan veya dolaylı olarak görülmektedir.

Sitokrom c salımı, adaptör molekül Apaf1'in agregasyonu için önemlidir (Green ve Reed, 1998). Bcl-2 ailesi Bax'ın proapoptotik üyeleri, mitokondri dış membranındaki porlardan sitokrom c'nin serbest bırakmasını sağlarlar. Bax da dahil olmak üzere bazı Bcl-2 aile üyelerinin iyon kanalları oluşturma kabiliyeti, bu proteinlerin sitokromun çıkışına izin veren dış mitokondriyal membrandaki gözenekleri açtığını göstermiştir. ROS'un bu senaryoda nasıl davrandığı tam olarak anlaşılamamıştır. Mitokondriyal gözeneklerin ROS ile oksidasyonu, mitokondriyal membran potansiyelinin bozulması nedeniyle sitokrom c salınımına katkıda bulunabilmektedir.

Apoptozis genelde düzensiz olup birçok patolojik duruma katkıda bulunabilir. İnflamasyon halinde apoptoz genel olarak yavaşlar. Enflamatuvar hücreler tarafından ROS'ların üretimi, konak savunma mekanizmalarına ve doku hasarına katkıda bulunur. Diğer taraftan ROS'lar, temel hücre fonksiyonları için gerekli sinyal iletim olaylarında önemli rol oynamaktadır. Apoptozis ile ilgili olarak, ROS'lar genelde ölüm sürecinin indüksiyonu sağlar. Ancak, belirli koşullar altında, ROS'lar da anti-apoptotik de olabilmektedir.

Katalazın yanı sıra yüksek hücre içi glutatyon seviyeleri, ROS tarafından tetiklenen apoptoza engel olabilmektedir. Örneğin nötrofillerde oluşan H₂O₂ kaynaklı apoptozis, katalaz varlığında önlenabilmektedir (Kasahara ve diğer., 1997). Katalazın ayrıca spontan nötrofil apoptozunu da engellediği belirtilmiştir. Ayrıca hücre içi yüksek glutatyon seviyelerinin, bu hücrelerde Fas reseptör aracılı apoptozu önlediği de belirlenmiştir (Watson ve diğer., 1997).

Wedi ve diğer., (1999) Sodyum arsenit kaynaklı ROS üretiminde, eozinofil apoptozis indüksiyonu gözlemlerken, yüksek konsantrasyonlarda bir etki gözlemlenmemiştir. Apoptoza neden olan etkiler glutatyon ve N-asetilsistein ile bloke edilmiştir. Bu iki antioksidan ayrıca spontan ve Fas reseptör aracılı eozinofil apoptozunu da engellemektedir (Wedi ve diğer., 1999).

Nötrofil ve eozinofillerde fenilarsin oksitin düşük derişimlerinin apoptozu indüklerken, yüksek derişimlerinde ise apoptozisin inhibisyonu gözlenmiştir (Yousefi

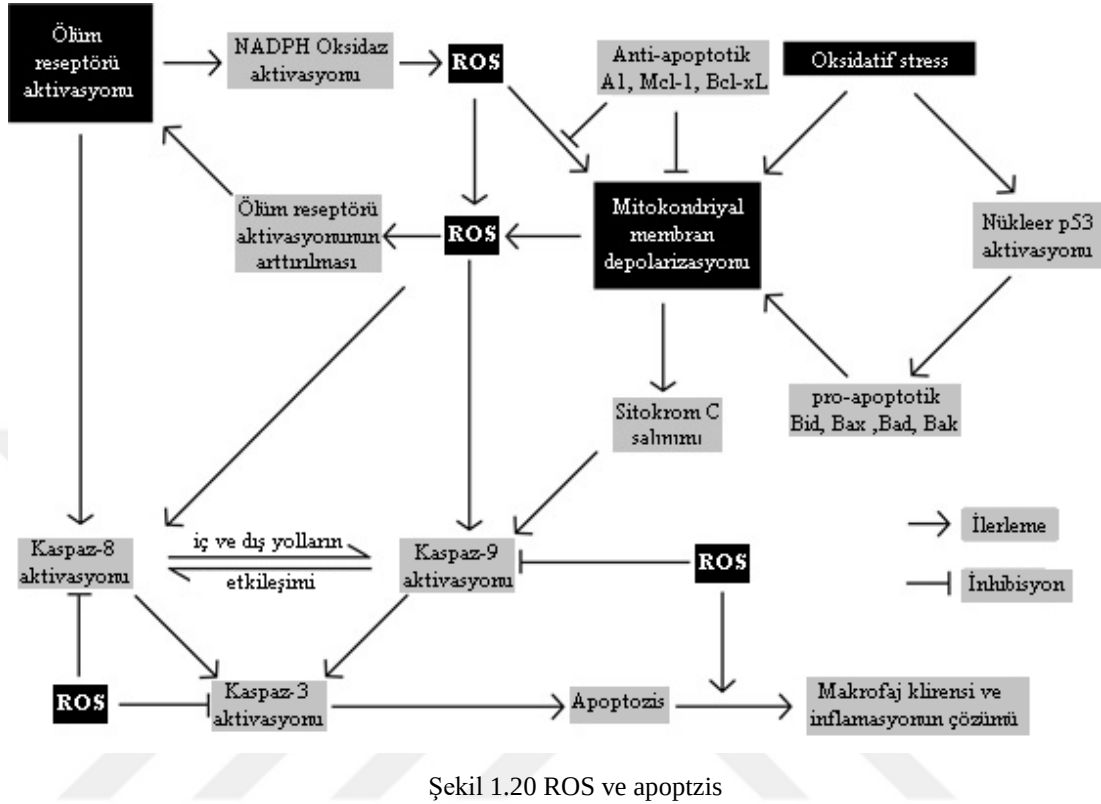
ve diğer., 1994). Bu araştırmada, apoptozisin tirozin fosforilasyonu ile düzenlendiğini ve bazı apoptozisi düzenleyici proteinlerin fosforilasyonunun ROS kaynaklı olduğu ileri sürülmüştür.

Tümör nekroz faktörü (TNF)/sinir büyüme faktörü (NGF) familyasının reseptörleri, hücre büyümesi ve farklılaşmadan hücre ölümüne kadar değişen pleiotropik fonksiyonlar gösterirler. Bu ailenin bir alt kümesinin çeşitli sistemlerde apoptozisi tetiklediği ve ölüm alıcıları olarak adlandırıldığı gösterilmiştir. TNF/NGF reseptör ailesinin tüm üyelerinin ekstrasellüler alanda yaygın sistein dağılımına ilaveten bu reseptörler, sitoplazmik ölüm domeini olarak adlandırılan, kaspaza bağımlı mekanizmalarla ölümü indüklemek için yeterli ve gerekli, domainlerinde yaygın olarak reseptörlerini içermektedir (Ashkenazi ve Dixit, 1998; Wallach ve diğer., 1999).

Bununla birlikte apoptosizde, ROS üretimi gibi diğer mekanizmalar da eşit derecede önemlidir. Örneğin, antioksidan N-asetilsistein, bazı sistemlerde TNF ile indüklenen apoptozisi bloke etmesi sürecinde ROS'ların fonksiyonel bir rolünün olduğunu düşündürmektedir (Talley ve diğer., 1995; Cossarizza ve diğer., 1995). ROS'lar, mitokondri kaynaklı üretilmekte ve stozoldeki kaspaz kaskadının aktivasyonuna neden olan süreçlerden sorumlu olabilmektedir (Şekil 1.20). Diğer yandan, ROS ile indüklenen TNF, bazı sistemlerde NF- κ B'nin aktivasyonu nedeniyle anti-apoptotik yolları aktive edebilmektedir. Bu yoldan eksprese edilen anti-apoptotik genler net olmamakla beraber, süperoksit dismutaz ile katalaz gen bölgelerini içerdiği düşünülmektedir (Wong ve Goeddel, 1989).

Aynı zamanda TNF/NGF reseptör ailesine ait olan Fas reseptörünün (Krammer, 1999) aktivasyonu, büyük olasılıkla ROS kullanan bir sinyal iletim yoluna yol açar. Bu varsayım, antioksidanların Fas reseptörü aracılı apoptozu bloke ettiği gerçeğine dayamaktadır (Um ve diğer., 1996; Chiba ve diğer., 1996). TNF sistemine benzer şekilde, Fas reseptörüyle indüklenen ROS seramid oluşturabilir (Hebestreit ve diğer., 1998). Ayrıca, ROS'un apoptozisin indüklenmesinin yanı sıra, hem Fas reseptörünün

hem de Fas ligand genlerinin uyarılmasında rol oynadığı açıklanmıştır (Delneste ve diğer., 1996; Hug ve diğer.,1997; Bauer ve diğer., 1 998).



Nitrik oksitin epitelyal hücreler, mezanjiyal hücreler ve endotelial hücreler ile kanser hücreleri gibi farklı hücre sistemlerinde apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (Shami ve diğer., 1998; Hajri ve diğer., 1998). Ayrıca, NO^{*}, makrofajlar veya NK hücreleri tarafından kullanılan anti-kanser mekanizmalarında da rol oynar (Cui ve diğer., 1994; Filep ve diğer., 1996). NO^{*} ile apoptozisin indüksiyon mekanizmaları tamamen açık değildir. Bazı yazarlar Fas reseptör ekspresyonunu artırdıklarını gözlemlerken, bazıları artmış ROS salınımı ile mitokondriyal permeabilite geçişinin tetiklenmesinin, merkez mekanizma olduğunu öne sürmüştür (Hortelano ve diğer., 1997).

NO^{*}-kaynaklı apoptozisin Bcl-243 tarafından bloke edilmesi, mitokondrinin gerçekten de ana hedefinin NO^{*} olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan NO^{*}, anti-apoptotik etkiler de göstermektedir. Bazı sistemlerde, pro-ve anti-apoptotik etkiler NO^{*} derişimine bağlıdır. Örneğin NO^{*}, bazı hücre sistemlerinde TNF- (Shen ve diğer.,

1998), Fas ligand- (Hebestreit ve diğer.,1998) ve LPS aracılı (Geneviva ve diğer., 1998) apoptozu inhibe eder. Alerjik hastalık durumlarında eozinofillerde sıklıkla görülen Fas reseptör direncinin, artan NO[•] derişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. NO[•], ROS'un apoptozis tetikleyici etkisine karşı olan, hücre içi glutasyon düzeyinin artmasına neden olan ısı şoku proteinlerini de indüklemektedir. NO[•]'nun apoptozisi inhibe edebileceği bir diğer strateji de apoptozis temel bileşenlerinden kaspasların nitrozilasyonudur.

1.4 *Pistacia vera*'ya Yönelik Literatür Araştırmaları

Dünya literatüründe *Pistacia vera*'nın çeşitli organellerinde; fiziksel, antioksidan ve anti-mikrobiyal özelliklerine, yağ asidi ve fenolik bileşen profillerine ve sınırlı düzeydede olsa bu bileşenlerin antikansorejen özelliklerine yönelik çeşitli araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmalardan başlıcaları aşağıda özet olarak ele alınmıştır.

Özçelik ve diğer. (2005) yapmış oldukları çalışmada; *Pistacia vera*'nın farklı kısımlarından etanol: hekzan (1:1) ile özütlenen lipofilik ekstraktların, antifungal, antibakteriyel ve antiviral özelliklerini, kontrol olarak oseltamivir ampisilin, ofooksazol, ketokonazol, flukonazol, asiklovir 'in kullanıldığı, herpes simplex (DNA) ve parainfluenza virüsleri (RNA) üzerinde incelemiştir. Tüm ekstraktlar, aynı konsantrasyonlarda belirgin antifungal aktivite göstermiştir. Minimum antibakteriyel aktivite 128-256 mg/mL konsantrasyonları arasında tespit edilmiştir. Çekirdek ve tohum özütleri diğer bölümlere ve kontrollere kıyasla daha önemli antiviral aktivite göstermiştir.

Yapılan başka bir çalışmada Ghalem ve Mohamed (2009); *E. coli*, *S. aureus* ve *Proteus spp*'sinin büyüme hızlarına *P. vera* kök eksudatlarından etanol ile hidrodistillenen esansiyel yağların inhibisyon etkileri incelemiştir. *P.vera* L. esansiyel yağ reçinesinin antimikrobiyal etkisi, gram-negatif bakterilere karşı gram pozitif bakteriler kadar etkili olmuştur. Ayrıca tüm suşlar içinde *Proteus spp*'nin en yüksek inhibisyonunu gösterdiği belirlenmiştir.

Tomaino ve diğer. (2010) Bronte-Sicilya antepfıstığı tohumları ve derisi arasındaki fenolik bileşenler ve antioksidan aktivite farklılıklarının karakterizasyonunu inceledikleri çalışmalarında metanol: su (2:1) ile sonikasyonla elde edilen *P. vera* çözeltilerden dış kabuğundaki fenolik bileşiklerin toplam içeriği, tohum kısmından çok daha yüksek olup tohum için $0,46 \pm 0,03$ mg CatE/g ve dış kabuk için $70,27 \pm 5,42$ mg CatE/g olarak belirlenmiştir. HPLC sonuçları, daedzein, genistein, apigenin, genistein-7-O-glukosidin sadece fıstık çekirdeklerinde mevcut olduğunu, kemferol, naringenin, kersetin, luteolin, epikateşin, siyanidin-3-O-glukozit ve siyanidin-3-O-glikozit yalnızca antep fıstığı kabuklarında bulunduğunu göstermiştir. Dört farklı deneyle belirlenen ekstraktların antioksidan aktivitelerine göre antepfıstığı kabukları, tüm testlerde tohumlardan daha iyi etkinlik göstermiştir.

Alma ve diğer. (2004) Türkiye'de yetiştirilen *P. vera* sakızından hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilmiş esansiyel yağın kimyasal bileşimini GC ve GC-MS ile analiz etmiş, sonuç olarak uçucu yağın bileşiminin % 89,67 monoterpen, % 8,1 oksijenlenmiş monoterpen ve % 1,2 diterpenden meydana geldiğini belirlemiştir. Ayrıca yağın 13 bakteri ve 3 patojen mayanın büyümesine yönelik antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış ve örneklerin dokuz bakteri ve tüm mayalar üzerinde inhibisyonu gözlenmiştir. Bu aktivitenin, biyoaktif bileşiklere ve derişime bağımlı olduğu bulunmuştur.

Bronte-Sicilya *P. vera* yer fıstığı çeşitlerinin antioksidan özelliklerin araştırıldığı başka bir çalışmada ise *P. vera* yer fıstıkları örneklerinin metanol/su (2:1 v/v) ve diklorometan ekstraktlarını kullanmıştır (Gentile ve diğer., 2007). Ölçülen toplam antioksidan aktivitesi, hidrofilik ekstrede (Trolox eşdeğerleri/g fındık $27,55 \pm 2,30$ mmol), lipofilik olana kıyasla ($0,51 \pm 0,08$ mmol Trolox eşdeğerleri/g fındık) 50 kat daha yüksek bulunmuştur. Lipofilik ekstrede tokoferollerden sadece E vitamininin izomeri olan γ -tokoferol bulunmuştur. Ayrıca izoflavonlar hariç, diğer bazı biyoaktif moleküllerin miktarlarının antep fıstığı kavrulduktan sonra belirgin bir şekilde azaldığı ve toplam antioksidan aktivitesinin yaklaşık % 60 oranında düştüğü belirtilmiştir.

Mokhtarpour ve diğer. (2014) yaptıkları çalışmalarında; *P. vera* yan ürünlerindeki fenolik bileşiklerin ve tanenlerin ekstraksiyonu üzerine, çözücünün, parçacık boyutunun, ekstraksiyon süresinin ve ultrasonikasyonun etkilerini incelemiştir. En fazla toplam fenolik içeriği (TP) %70 sulu aseton çözeltisiyle elde edilirken (tannik asit eşdeğeri olarak, % 13,86 kuru madde) ve en düşük TP içeriği su çözeltisinde (% 9,87) ölçülmüştür. Parçacık boyutu ve ekstraksiyon süresinin TP içeriği üzerinde herhangi bir etkisi belirlenmemiştir. Yüksek tanen içeriği, sulu metanol ve suya (% 7,82) kıyasla % 50 sulu etanol ile elde edilmiştir. Bununla birlikte, % 70 sulu aseton ile % 50 sulu etanol ve % 50 sulu metanol arasında herhangi bir fark gözlenmemiş, ultrason ile elde edilen ekstraksiyonun toplam fenolik ve toplam tanen içerikleri 12 saatlik ekstraksiyon (ultrasonik olmadan) ile karşılaştırılmış iki yöntem arasında fark gözlenmemiştir.

Fenolik bileşiklerin incelendiği başka bir çalışmada Erşan ve diğer. (2016) yeşillenmemiş kırmızı ve yeşil fıstığın (ekzo-ve mezokarp) asitli (% 0,1 HCl v/v) sulu metanol (% 80 v/v) ekstraktlarının HPLC-DAD-ESI-MSⁿ ve HR-MS ile incelenmeleri sonucu 66 bileşik tespit etmişlerdir. Kırmızı ve yeşil fıstık arasındaki fark antosiyaninlerin varlığı olarak belirlenmiştir. İlk kez, farklı galloillenmiş hidrolize edilebilir tanenler, antosiyaninler ve küçük anakardik asitler tanımlanmıştır.

Martorana ve diğer. (2013) Bronte-Sicilya fıstıkları üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada ise; fıstık dış kabuk (TP) ve tohumlarından (SP) elde edilen iki polifenol bakımından zengin ekstraktın kimyasal içeriği ve antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Analiz sonuçlarına göre, TP ekstresinde en yüksek düzeyde antosiyaninler bulunmuştur. Bu durum toplam fenolik bileşen olarak değerlendirildiğinde, TP ekstresi yine yaklaşık on kat daha yüksektir. Gönüllüler üzerindeki uygulanmalara göre en yüksek etki TP ekstraktında gözlenmiş olmakla birlikte her iki ekstrenin de UV-B ile indüklenen cilt eritemini azalttığı tespit edilmiştir.

Küçüköner E. ve Yurt B. (2003) çalışmalarında, Türkiye'de yetiştirilen *P. vera* çeşitlerinin (Uzun, Kırmızı, Siirt, Ohadi, Halebi) petrol eteri ekstraktlarındaki toplam

protein içeriğini , % $20,18 \pm 0,23$ ile % $23,62 \pm 0,37$ olarak belirlemiştir. *P.vera* fıstıkları arasında, palmitik, palmitoleik ve linolenik asitler dışında yağ asidi içeriği bakımından önemli farklılıklar saplanmıştır ($P < 0,05$).

İşleme ekipmanı ve tesisleri tasarlamak için Kashaninejad ve diğer. (2006) fıstık somununun ve çekirdeğinin bazı fiziksel ve aerodinamik özelliklerini belirlemiştir. Bu çalışmada, fıstık somununun ve çekirdeklerinin birkaç fiziksel özelliği, % 4,10-38,10 aralığında (w.b.) nem içeriğinin bir fonksiyonu olarak değerlendirilmiştir.

Hosseinzadeha ve diğer. (2012) *P.vera* yaprakları ile meyvelerinin sulu ve etanolik ekstraktlarının yanı sıra sakızın hidroalkolik özütünün antioksidan aktivitelerini in vitro yöntemleri kullanılarak incelemiş, flavonoid ve tanenlerin varlığı da fitokimyasal testler ile belirlenmiştir. Tüm ekstrelerde serbest radikal sönmüleyici aktivite gözlemlenmiştir. Malondialdehit oluşumunu engellemede meyvelerin ve yaprakların etanolik özleri, sulu ekstraktlardan daha fazla etki göstermiştir.

Goli ve diğer. (2005) *Pistacia vera* kabuğunu, metanol, su ve etil asetat çözgenleriyle iki farklı ekstrakte yöntemi (çözücü ve ultrasonikasyon yardımcı yöntemler) kullanarak ekstrakte etmiş ve sonuçlarını karşılaştırmıştır. Su ve metanol ekstraktlarının fenolik içeriği 5-6 mg/gdw etil asetata kıyasla daha yüksek olup sırasıyla 32,0-34,0 ve 32,0-33,0 mg/gdw olarak belirlenmiştir. Verilere göre ekstraksiyon yönteminin sonuçlara herhangi bir etkisi bulunmamıştır.

Kabuksuz *Pistacia vera* L.'nın fenolik fraksiyonu ve tokoferollerine, fıstığın olgunluğu ve güneşte kurutma sürecinin etkisini Ballisteri ve diğer. (2009) incelemiştir. Fenolik içerik olarak en çok antosiyaninler tespit edilirken, olgunlaşma ile birlikte miktarlarının artırdığı, güneşte kuruma sürecinde ise önemli kayıpların olduğunu tespit etmişlerdir. Flavonoidlerden kersetin daidzein, daidzin genistein, eriodictyol, luteolin, genistin ve naringenin tüm fıstık örneklerinde tespit edilmiş olup toplam flavanoidlerin seviyeleri (21,5 mg/100g KM), olgunlaşma (14,0 mg/100g KM) ve kuruma (9,6 mg/100 g KM) ile azalmıştır.

Saitta ve diğer. (2008) Antepfıstığı çekirdeklerinin n-hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağını, metanolik KOH ile sabunlaştırıp, İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ile inceleyip, alkilfenollerin varlığını ilk kez rapor etmişlerdir. Ayrıca doymuş, tekli doymamış ve ikili doymamış zincire sahip on altı farklı 3-alkilfenol (kardanol) belirlenmiş olup toplam kardanol miktarı $440 \pm 95 \text{ mg kg}^{-1}$ 'dır.

Tsokou ve diğer. (2007) *P.vera* L. meyve ve yapraklarının esansiyel yağlarını GC ve GC/MS ile analizi sonucu esansiyel yağ içeriğinin, olgunlaşmamış antepfıstığı meyvelerinde (%0,5 w/w) yapraklardan (% 0,1 w/w) daha fazla olduğu bulunmuştur. Meyve esansiyel yağında belirlenen 21 bileşik arasında başlıca (+) - α -pinen (%54,6) ve terpinolen (%31,2) iken, yaprakların esansiyel yağındaki 33 farklı bileşikten başlıcaları α -pinen (%30,0), terpinolen (%17,6) ve bornil asetat (%11,3) olduğu tespit edilmiştir.

P. vera sakızının antioksidan ve radikal sönmüleyici özellikleri standart antioksidanlar BHA ve BHT, α -tokoferol, trolox ile karşılaştırılmış, indirgeme gücü, DPPH, DMPD⁺ ve O₂⁻ sönmüleme ve metal şelatlama aktiviteleri incelenmiştir (Sehitoglu ve diğer., 2015). *P.vera* sakızı ve standart antioksidanların 10 ppm derişimi için Linoleik asit peroksidasyon inhibisyonu incelendiğinde yalnızca α -tokoferol'den daha yüksek değer gösterdiği belirlenmiştir.

Shahraki ve diğer. (2013) İlk olarak *P. vera* özütlerinin tip 2 diyabet hepatosit modelinde görülen oksidatif ve karbonil strese karşı sitoprotektif etkileri metanol, su ve etil asetat ekstraktlarında incelenmiştir. Hem hidroperoksit kaynaklı oksidatif strese karşı hem de glioksal kaynaklı protein karbonilasyonuna karşı, metanolik *P. vera* ekstraktının yüksek stabilite gösterdiği bunu sırasıyla; su, gallik asit, kateşin, α -tokoferol ve etil asetat ekstraktlarının takip ettiği belirlenmiştir.

Sunulan tezde Antep, Siirt, Urfa yörelerinden temin edilen *P. vera* meyve kısımlarının kabukları oda sıcaklığında, karanlıkta, hafif hava akımlı ortamda kurutulup öğütüldükten sonra uygun çözgen ortamlarında elde edilen izolatların yapılarında bulunan fenolik bileşiklerin aydınlatılması, DPPH radikal ile hidroksil

radikal sönümlleme, metal şelatlama kapasitesi ve indirgeme gücü aktiviteleri testleri ile antioksidan özelliklerinin tayin edilmesi ve ayrıca HeLa, MCF-7, OE-33, ACC-201 gibi hücre hatlarında da anti proliferatif ve apoptotik etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Araştırmada, atık niteliği taşıyan *P. vera* dış kabuklarının gerek gıda sektöründe koruyucu destek maddesi ve gerekse sağlık sektöründe anti kanserojen olarak uygulanabilirliğinin belirlenmesiyle Türkiye açısından ekonomik potansiyeli ortaya konulmuş olacaktır.



BÖLÜM İKİ

MATERYAL VE METOD

Deneysel çalışmalarda kullanılan *Pistacia vera* türleri Antep, Siirt ve Urfa yörelerinden ağustos ayında toplandı. Hücre kültür çalışmalarında kullanılan HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 hücre hatları, Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürü Koleksiyonu (DSMZ) 'den satın alındı.

Kullanılan kimyasallar: Etanol, metanol, n-hekzan, etil eter, etil asetat, hidroklorik asit, sodyum hidroksit, asetik asit, asetonitril, formik asit, ortofosforik asit, EDTA, FeCl₃, askorbik asit, H₂O₂, deoksiriboz, TCA, TBA, FeCl₂, ferrozin, potasyum ferrisiyanit, trikloroasetik asit, DMSO, PBS, epigallokateşin, kateşin, epikateşin, apigenin, luteolin, eupatorin, rutin, kemferol, isorhamnetin, mirisetin, kersetin, hesperetin, naringenin, hesperidin, gallik asit, kafeik asit, benzoik asit, vanilik asit, sinapik asit, şirincik asit, ferulik asit, klorojenik asit, t-sinamik asit, 4-hidroksi-benzoik asit, p-kumarik asit, o-kumarik asit, protokatekuik asit olup kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

2.1 *Pistacia vera* Örneklerinin Hazırlanması

Antep, Siirt ve Urfa yöresi *P. vera* 'larının dış kabukları karanlık ortamda kurutulmuştur. Ayrılan dış kabuklar öğütülmesinin ardından sokslet cihazında n-hekzan ile ön ekstraksiyon işlemi uygulanmış ve katı örnekler liyofilize edilip tekrar kurutularak ve -20°C'de stoklanmıştır.

2.2 Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve HPLC Analizleri

2.2.1 Flavan-3-ol Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi

Hekzan ekstraksiyonun sonras 2 gram kuru örnek ultrasonik banyoda, 40 mL metanol ve 60°C'de 2 saat süreyle ekstrakte edilmesinin ardından 4500 rpm'de 15dk santrifüjlenmiştir. Ekstraksiyon işleminin 2 kez tekrarlanmasıyla elde edilen metanoldeki flavan-3-ol ekstraktı evaporasyon işlemiyle kurutulmuştur.

Santrifüj sonrası elde edilen pellet kısmı asit hidrolizi amacıyla 40 mL 2,5 N HCl-MeOH (4:1) karışımında süspanse edilip su banyosunda 100°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Hidrolizi takiben 3x24 mL dietil eter ve 4x24 mL etil asetat ile ardışık sıvı-sıvı ekstraksiyonları uygulanmıştır. Toplanan etil asetat ve dietil eter fazları kuruluğa kadar evapore edilip birleştirildikten sonra flavan-3-ol asit ekstraktı olarak tanımlanmıştır.

Flavan-3-ol metanol ve asit hidroliz ekstratlarının metanoldeki çözeltileri HPLC'de De Villiers ve diğer. (2004) tarafından tanımlanan yöntem ile analiz edilmiştir. İşlem, C18 ters faz kolonu (150 mm x 4,6 mm, 5 µm partikül) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz (A) % 2 asetik asit/su ve (B) 70/30 asetonitril/su olan gradiyent sistemde 0-3 dk., %5 B; 3-8 dk., %5-15 B; 8-10 dk., %15-20 B; 10-12 dk., %20-25 B; 12-20 dk., %25-40 B; 20-30 dk., %40-80 B oranları kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 20 µL, kolon sıcaklığı 30°C, dalga boyu 315 nm ve akış hızı 1,2 mLdk⁻¹ olarak belirlenmiş, standart olarak da epigallokateşin, kateşin, epikateşin kullanılmıştır.

2.2.2 Flavon Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi

Kantifikasyon analiz için, önceden öğütülmüş kuru örnekten 2 gram alınarak 150 mL etil eter ortamında 20 dakika süreyle karıştırılmıştır. Ardından 75 mL etil eterle 10 dk süreyle işlem iki kez tekrar edilmiş, toplanan ekstraktlar filtrelenip vakum ortamında 30°C'de kurutulmuştur. Flavon örnekleri metanolde çözündürülüp HPLC ile analiz edilmiştir (Valentao ve diğer., 1999).

İşlem, C18 ters faz kolonu (150 mm×4,6 mm, 5 µm partikül) kullanılarak ölçülmüştür. Mobil faz (A) su/formik asit (19:1) ve (B) metanol olan gradiyent sistemde 0 dk., %50 B; 5 dk., %80 B; 30 dk., %80 B oranları kullanılmış, enjeksiyon hacmi 20 µL, kolon sıcaklığı 30 °C, dalga boyu 350 nm ve akış hızı 1 mLdk⁻¹ olarak belirlenmiş, standart olarak apigenin, luteolin ve eupatorin kullanılmıştır.

2.2.3 Flavonol Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi

2 gram kuru örnek 100 mL % 95 sulu metanol ve 30 ml 25% (w/w) HCl (7.7M, 281g/L) içeren sokslet cihazında 1 saat ekstre edilmiş, filtrasyon sonrası örnek 60 mL MeOH ile 10dk boyunca ardışık 2 kez daha işlem tekrarlanmıştır. Toplanan örneklerin hacmi metanol ile 100 mL'ye tamamlandıktan sonra Olszewska'nın (2008) tanımladığı yöntemle HPLC ile analiz edilmiştir.

İşlem, C18 ters faz kolonu (150 mm×4,6 mm, 5 µm partikül) kullanılarak yapılmıştır. Mobil faz (A) % 0,5, ortofosforik asit/su ve (B) metanol olan gradiyent sistemde 0–10 dk., %40–60 B; 10–21 dk., %60 B; 21–23 dk., %60–40 B; 23–26 dk., %40 B; 26–30 dk., %40 B oranları kullanılmış, kolon sıcaklığı 30°C, dalga boyu 370 nm, enjeksiyon hacmi 20 µL ve akış hızı 1 mLdk⁻¹ olarak belirlenmiş ve standart olarak rutin, kersetin, kemferol, isorhamnetin ve mirisetin kullanılmıştır.

2.2.4 Flavanon Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi

2 gram kuru örnek alınarak 75 mL %80 etanol ile 90 °C'de 2 saat ekstrakte edilip santrifüj sonrası vakumda kurutulmuştur. Flavanon örneği olarak adlandırılan örnek için rezidü, metanolde çözülüp filtrelenip HPLC'de analiz edilmiştir.

Pellati ve diğer. (2008) tanımladığı yöntemle C18 ters faz kolonu (150 mm × 4,6 mm, 5 µm partikül) kullanılarak HPLC analizi yapılmıştır. Mobil faz (A) %0,6, asetik asit/su ve (B) metanol olan gradiyent sistemde 0–5 dk., %20–40 B; 5–8 dk., %40 B; 8–12 dk., %40–60 B; 12–25 dk., %60 B; ve 25–30 dk., %60–20 B; oranları

kullanılmış, kolon sıcaklığı 30⁰C, dalga boyu 285 nm, enjeksiyon hacmi 20 µL ve akış hızı 1 mLdk⁻¹ olarak belirlenmiş ve standart olarak hesperetin, naringenin ve hesperidin kullanılmıştır.

2.2.5 Fenolik Asit Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi

6 gram kuru örnek, %80 metanol ile 5:1 oranında oda sıcaklığında 1 saat süreyle 2 kez ekstrakte edilmiştir.

2.2.5.1 Serbest ve Asit-Baz Hidrolizli Fenolik Asitler

Ekstraksiyon sonrası filtre edilen süpernatantlar evaporatör ile kurutulup, pH'sı 2,0 olan 12 mL suda çözülmesinin ardından 3 kez tekrarlanacak şekilde 12 mL etil eter ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çözeltinin eter fazı, Serbest Fenolik Asitleri (SFA) içerir.

Su fazı ise 2M NaOH ile pH 7,0'e nötralizasyon sonrası evaporatörde vakum altında kurutulup tekrar 12 mL 2M NaOH 'de çözülerek 4 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Karışım HCl ile pH 2,0'ye ayarlanıp etil eter ile yine 3 kez ekstrakte edilmiştir. 2 fazlı ekstraktın eter fazı Baz-Hidrolize Fenolik Asitleri (BHFA) içerir.

Diğer su fazı 12 mL 6M HCl ile 95⁰C'de 20dk süreyle karıştırılıp 3 kez etil eter ekstraksiyonuna tabii tutulmuştur. Ayrılan eter fazı Asit-Hidrolize Fenolik Asitleri (AHPA) içerir.

6 gram kuru örneğin %80 metanol 5:1 (v/w) ile oda sıcaklığında 1 saat süreyle 2 kez ekstraksiyonu sonrası katı fazda yukarıdaki işlemlerden farklı olarak metanolde ekstrakte edilemeyen ancak asidik ve bazik ortamda hidrolize edilebilen fenolik asitler tanımlanmıştır.

A) Birinci aşamada, katı örneğin yarısı alınarak 60 mL 2M NaOH çözeltisinde oda sıcaklığında 4 saat süreyle bazik hidroliz işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından işlem

görmüş katı örnek bu kez 6 M HCl'de 95°C'de 1 saat süreyle asit hidrolizine maruz bırakılmıştır. Ekstreler sırasıyla Kb₁ (Fenolik Asit Katı Baz 1) ve Ka₂ (Fenolik Asit Katı Asit 2) fraksiyonları olarak tanımlanmıştır.

B) İkinci aşamada katı örneğin diğer yarısı alınarak aynı koşullarda, önce asit ardından ise baz hidrolizi uygulanmıştır. Ekstreler sırasıyla Ka₁ (Fenolik Asit Katı Asit 1) ve Kb₂ (Fenolik Asit Katı Baz 2) fraksiyonları olarak tanımlanmıştır.

A ve B aşamalarında elde edilmiş tüm fraksiyonlar pH 2,0'de 60 ml etil eter ile 3 kez ekstrakte edilmiş, vakum altında kurutulup metanolde çözölmüş ve filtrelenerek Kim ve diğer., (2006) tanımladığı yöntemle HPLC'ye uygulanmıştır.

Bu işlemde C18 ters faz kolonu (150 mm×4,6 mm, 5 µm partiköl) kullanılarak HPLC analizi yapılmıştır. Mobil faz (A) asetonitril ve (B) %2 asetik asit/su olan gradiyent sistemde 0-30 dk., %85-100 B; 30-55 dk., %50-85 B; 55-60 dk., %0-50 B ve 60-65 dk., %0-100 B oranlarında; kolon sıcaklığı 30°C, enjeksiyon hacmi 20 µL ve akış hızı 1 mLdk⁻¹ olarak belirlenmiş ve standart olarak gallik, kafeik, benzoik, vanilik, sinapik, şiringik, ferulik, klorojenik, sinnamik, 4-hidroksi-benzoik, *p*-kumarik, o-kumarik, protokatekşuik asitler kullanılmış. Ölçümler benzoik asit ve sinamik asit türevleri için sırasıyla 280 ve 320 nm'de yapılmıştır.

2.2.6 Metanol/Su Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi

2 gram kuru örnek alınarak 100 mL 3/2 metanol/su ile 90 °C'de 4 saat ekstrakte edilip santrifüj sonrası vakumda kurutulmuştur. Örnek için rezidü, metanolde çözölüp HPLC'de De Villiers ve diğer. (2004) tarafından tanımlanan yöntem ile analiz edilmiştir.

İşlem, C18 ters faz kolonu (150 mm×4,6 mm, 5 µm partiköl) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz (A) %2 asetik asit/su ve (B) 70/30 asetonitril/su olan gradiyent sistemde 0-3 dk., %5 B; 3-8 dk., % 5-15 B; 8-10 dk., % 15-20 B;10-12 dk., % 20-25 B; 12-20 dk., % 25-40 B; 20-30 dk., % 40-80 B oranları kullanılmıştır.

Enjeksiyon hacmi 20 µL, kolon sıcaklığı 30°C, dalga boyu 280, 315, 350 nm ve akış hızı 1,2 mLdk⁻¹ olarak belirlenmiştir.

2.2.7 Etilasetat/Su Ekstraktının Hazırlanması ve HPLC ile Analizi

2 gram kuru örnek alınarak 100 ml 7/3etilasetat/su ile 90 °C'de 4 saat ekstrakte edildikten sonra etil asetat ve su fazları ayrı ayrı alınarak santrifüj sonrası vakumda kurutulmuştur. Örnek için rezidü, metanolde çözülüp filtrelenip HPLC'de De Villiers ve diğer. (2004) tarafından tanımlanan yöntem ile analiz edilmiştir.

İşlem, C18 ters faz kolonu (150 mm×4,6 mm, 5 µm partikül) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz (A) %2 asetik asit/su ve (B) 70/30 asetonitril/su olan gradiyent sistemde 0–3 dk., %5 B; 3–8 dk., %5–15 B; 8–10 dk., %15–20 B; 10–12 dk., %20–25 B; 12–20 dk., %25–40 B; 20–30 dk., %40–80 B oranları kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 20 µL, kolon sıcaklığı 30°C, dalga boyu 280, 315, 350 nm ve akış hızı 1,2 mLdk⁻¹ olarak belirlenmiştir.

2.3 Fenolik Bileşenlerin Antioksidan Aktivite Tayinleri

2.3.1 DPPH Radikal Sönümleme Aktivitesi

DPPH radikal sönümle aktivite testi, Shimada ve diğerleri (1992) tarafından tanımlanan yöntemle gerçekleştirilmiştir Ekstraktların veya askorbik asidin 5,5 mL'lik çeşitli dilüsyonları, 1 mL % 0,001'lik DPPH-Etanol çözeltisi ile karıştırılıp 517 nm'de boşluğa karşı renk değişimi ölçülmüştür.

$$\begin{aligned}\Delta A &= A_0 - \text{Örnek absorbans değerleri} \\ \text{Yüzde sönümleme} &= \Delta A \times 100 / A_0\end{aligned}\quad (2.1)$$

2.3.2 Hidroksil Radikal Sönümleme Kapasitesi

Hidroksil radikal sönümleme kapasitesi, Halliwell ve diğerlerinin tanımladığı yöntemde ufak modifikasyonlar yapılarak ölçülmüştür (Halliwell ve diğer., 1987).

Deiyonize su ile hazırlanan EDTA (1 mM), FeCl₃ (1 mM), askorbik asit (1 mM), H₂O₂ (1 mM) ve deoksiriboz (0,028 M) stok çözeltilerinden analiz için 0,1 mL örneğe 0,104 mL EDTA, 0,1 mL FeCl₃, 0,1 mL H₂O₂, 0,1 mL deoksiriboz, 0,396 mL fosfat tamponu (20 mM, pH 7,4) ve 0,1 mL askorbik asit eklenmiştir. Karışım daha sonra 1 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. A₀ için örnek yerine son hacim tampon ile tamamlanmıştır.

İnkübe edilen karışım, 1,0 mL (% 2) TCA ve 1,0 mL (% 1) TBA ile karıştırılıp 15 dk süreyle kaynatılıp soğumaya bırakılmıştır. Renk gelişimi, deoksiriboz yerine tampon çözelti bulunan karışıma karşı 532 nm'de ölçülmüştür.

$$\begin{aligned} \Delta A &= A_0 - \text{Örnek absorbans değerleri} \\ \text{Yüzde sönümlleme} &= \Delta A \times 100 / A_0 \end{aligned} \quad (2.2)$$

2.3.3 Metal Şelatlama Kapasitesi

Fe²⁺-şelatlama aktivitesi, Fe²⁺-ferrozin kompleksinin oluşumu ölçülerek belirlenmiştir (Carter, 1971). Örnekler 250 mL Sodyum asetat tamponu (100 mM, pH 4,9) ve 30 µL FeCl₂ (% 0,01, w/v) ile karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 12,5 mL ferrozin (40 mM) eklenmiştir. Fe (II) iyonlarının ferrozine bağlanması 562 nm'de ölçülen renkli bir kompleks oluşturmuştur.

2.3.4 İndirgeme Gücü Aktivitesi

Ekstraktların indirgeme gücü testi, Oyaizu'nun belirlediği yöntemine göre uygulanmıştır (Oyaizu, 1986). 1 mL örnek ekstratlar fosfat tamponu (2,5 mL, 0,2M, pH 6,6) ve potasyum ferrisiyanit (2,5 mL, %1) ile karıştırılmıştır. Karışım 20 dakika, 50 °C'de inkübe edilmiştir. Karışıma bir kısım (2,5 mL) trikloroasetik asit (%10) ilave edilip 10 dk santrifüjlenmiştir. Çözeltinin üst fazından alınan 2,5 mL destile su (2,5 ml) ve FeCl₃ (0,5 mL,% 0,1) ile karıştırılıp absorbansı 700 nm'de ölçülmüştür.

Vitamin C'nin tepkime ortamında bulunan değişik derişim aralığı ile 300 nm'deki absorbans değerleri arasında grafik çizilerek örneklerin absorbans değerleri C vitamini eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır.

2.4 Hücre Kültürü Uygulamaları

2.4.1 MTT Hücre Proliferasyonu Uygulaması

MTT testi, Mosmann yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Mosmann 1983). Süspanse haldeki hücre hatları 96 kuyucuklu bir mikropate de oyuk başına 1×10^4 hücrede olacak şekilde ekim işlemi yapılmış, bu hücreler 37°C'de % 5 CO₂ içeren nemlendirilmiş bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Daha sonra, hücreler 12-48 saat boyunca farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlara maruz bırakılmıştır. Hücreler için kontrol olarak aynı oranda DMSO içeren besi ortamı kullanılmıştır. Ölçüm için, plakalara MTT çözeltisi (5 mg/mL PBS) eklenip 37°C'de optimal inkübasyon ortamına yerleştirilmiştir. Metabolik olarak aktif olan hücreler MTT'yi mavi formazan kristallerine indirgemştir. 4 saat sonra, MTT-formazan kristalleri DMSO ile çözölüp 570 nm'de yapılan ölçümler kontrolle kıyaslanarak IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

BÖLÜM ÜÇ

TARTIŞMA VE SONUÇ

P. vera meyve kabuklarından farklı koşullarda elde edilen ekstrelerde bulunan flavanol, flavon, flavan-3-ol, flavanon ile serbest ve baz-asit hidrolize fenolik asitlerin RP-HPLC ile aydınlatılmasının ardından; antioksidan DPPH, hidroksil radikal sönmüleme, metal şelatlama kapasitesi ve indirgeme gücü aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın son aşamasında ekstrelerin sitotoksik etkilerini belirleme amacıyla HeLa, MCF-7, OE-33, ACC-207 hücre hatlarında IC₅₀ değerleri belirlenmiştir.

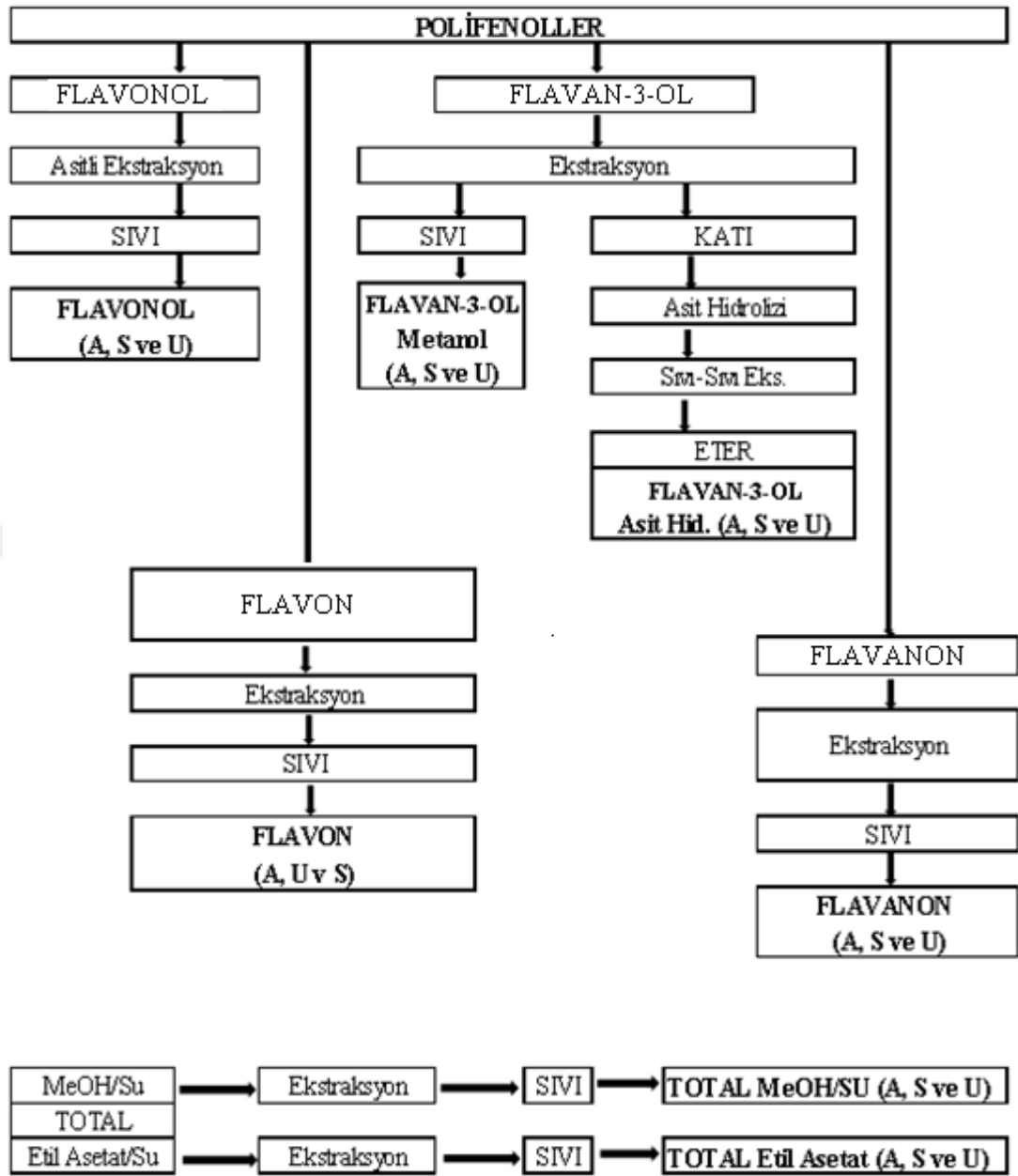
3.1 *Pistacia vera* Ekstraktlarının Fenolik Bileşenlerinin Aydınlatılması

Araştırmada kullanılan farklı bölgelerden elde edilmiş *P.vera* örnekleri tez kapsamında Antep (A), Siirt (S) ve Urfa (U) olarak sembolize edilmiştir. Materyal ve Metod bölümünde detaylı ele alınmış olan polifenollerin incelenen her bir grubunun işlem koşulları şematize edilmiş (Şekil 3.1a ve -3.1b) ve koşullar Tablo 3.1’de detaylandırılmıştır. Tabloda ayrıca araştırmalarda yaygın olarak rastlanmakta olan 3/2 metanol/su ve 7/3 etil asetat/su ekstraksiyon koşullarına da yer verilmiştir.

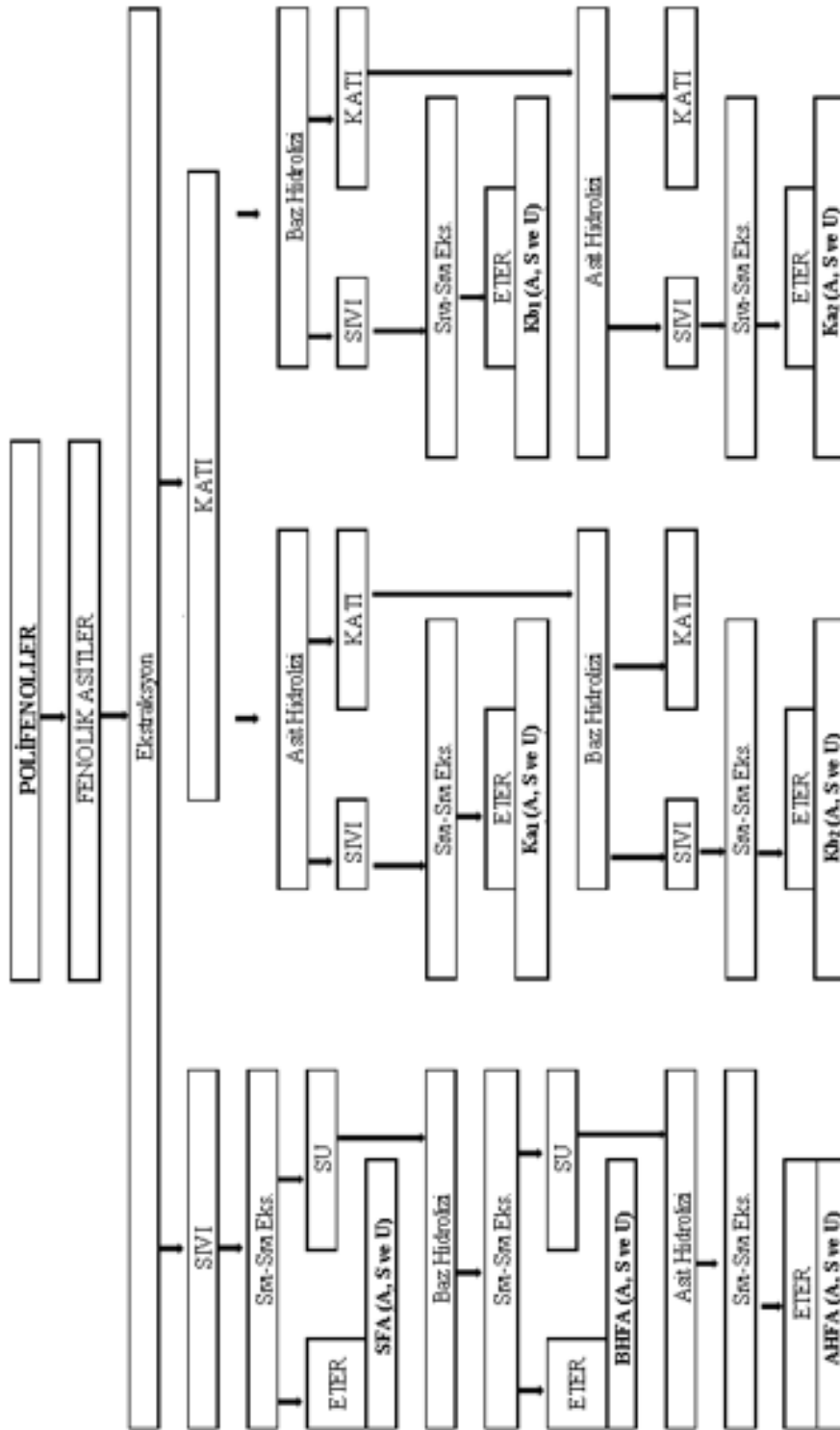
P. vera örneklerinin polifenol; flavanol, flavon, flavan-3-ol, flavanon ve fenolik asit; serbest, asit ve baz hidrolizi örnekleri ile genel; metanol/su ve etilasetat/su ekstraktlarının HPLC sonuçları ve miktarları aşağıdaki Şekil ve Tablolarda sırasıyla gösterilmiştir.

Tablo 3.1 *Pistacia vera* örneklerinin hazırlanmasında kullanılan yöntemler

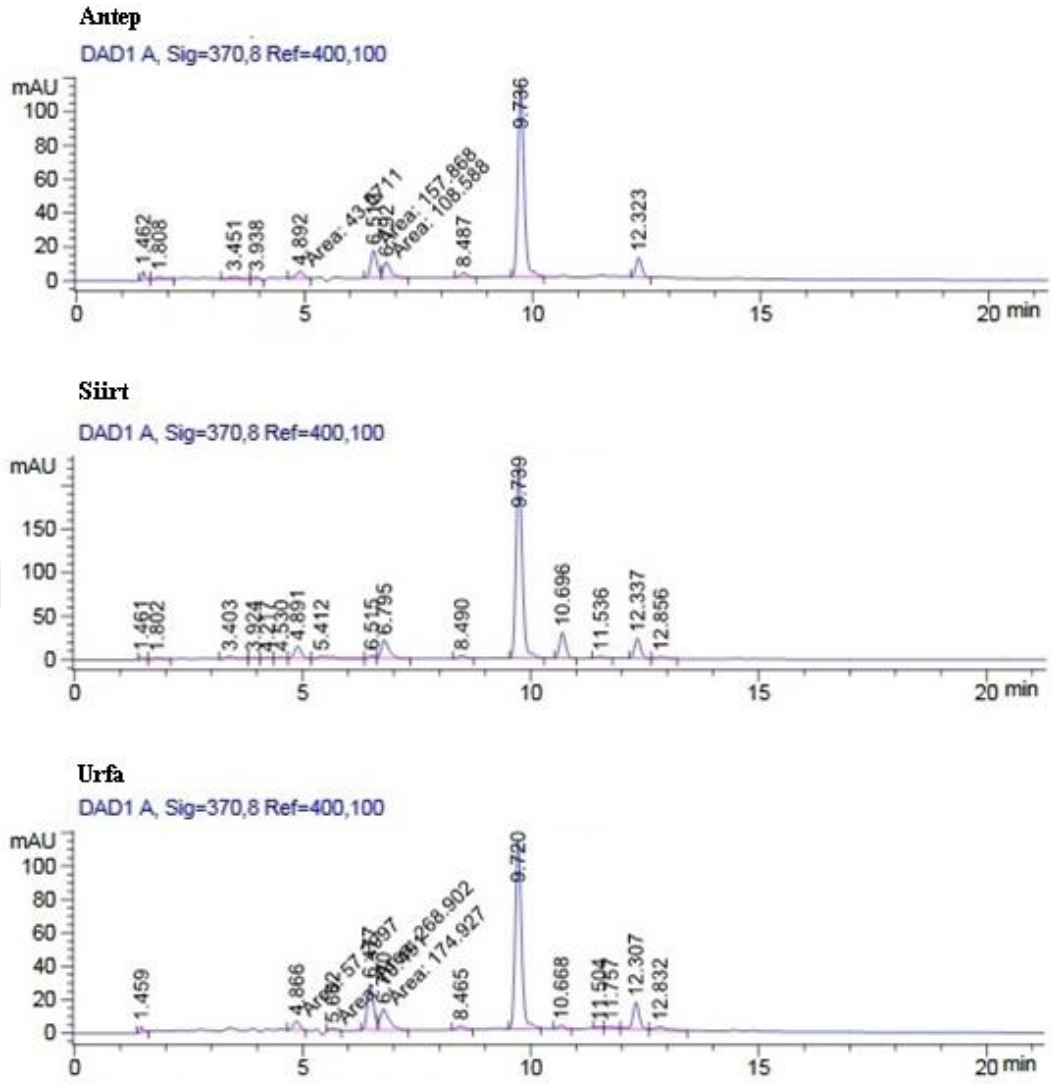
Fenolik Bileşen		Çözgen	Yöntem	Süre	Sıcaklık	HPLC -nm
Flavonol		%95 MeOH + %25 HCl (10:3)	Asitli Ekstraksiyon	1 Sa	Oda Sıcaklığı	370
Flavon		Etil Eter	Ekstraksiyon	20 Dk	Oda Sıcaklığı	350
Flavan-3-ol		MeOH, ↓ 2,5 N HCl + MeOH (4:1)	MeOH Sonikasyonu ↓ Asit Hidrolizi	15 Dk ↓ 2 Sa	Sonikasyon 60 °C ↓ Asit Hidrolizi 100 °C	315
Flavanon		%80 EtOH	Ekstraksiyon	2 Sa	90 °C	285
Fenolik Asitler	Serbest Fenolik Asitler (S)	%80 MeOH (5:1 V/W)	Ekstraksiyon	1 Sa	Oda Sıcaklığı	280 ve 320
	Baz Hidrolizi (B)	2 M NaOH	SFA ↓ B	4 Sa	Oda Sıcaklığı	
	Asit Hidrolizi (A)	6 M HCl	SFA B ↓ ↓ B A ↓ A	1 Sa	95 °C	
MeOH/SU		3/2 MeOH/Su	Ekstraksiyon	8 Sa	90 °C	280 315
Genel EA/SU		7/3 Etil Asetat/Su	Ekstraksiyon	8 sa	90 °C	ve 350



Şekil 3.1a *P.vera* örneklerinin sınıflandırılması



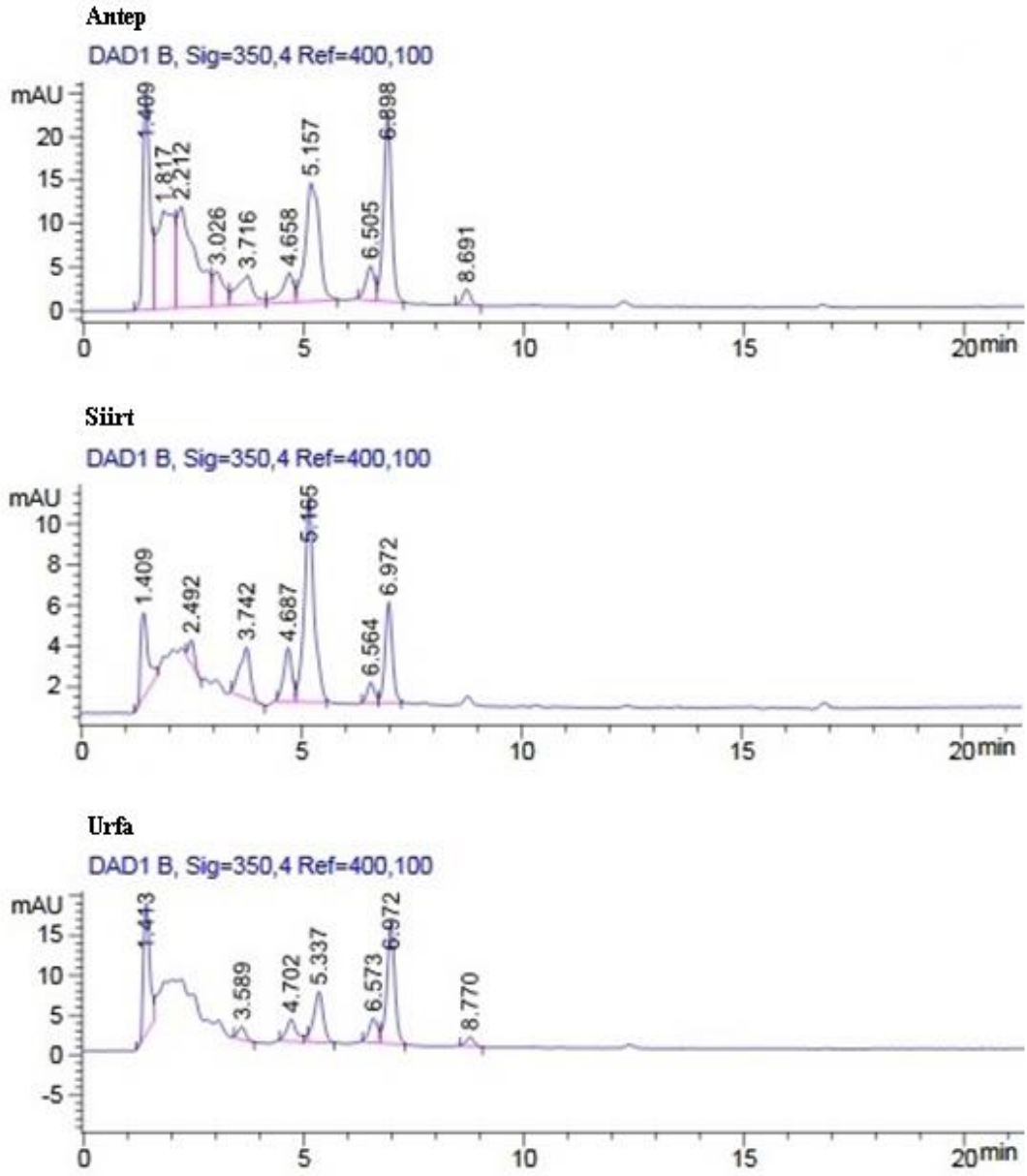
Şekil 3.1b *Pistacia vera* fenolik asitlerinin sınıflandırılması



Şekil 3.2 *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen flavonol sonuçları

Tablo 3.2 *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen flavonol miktarları

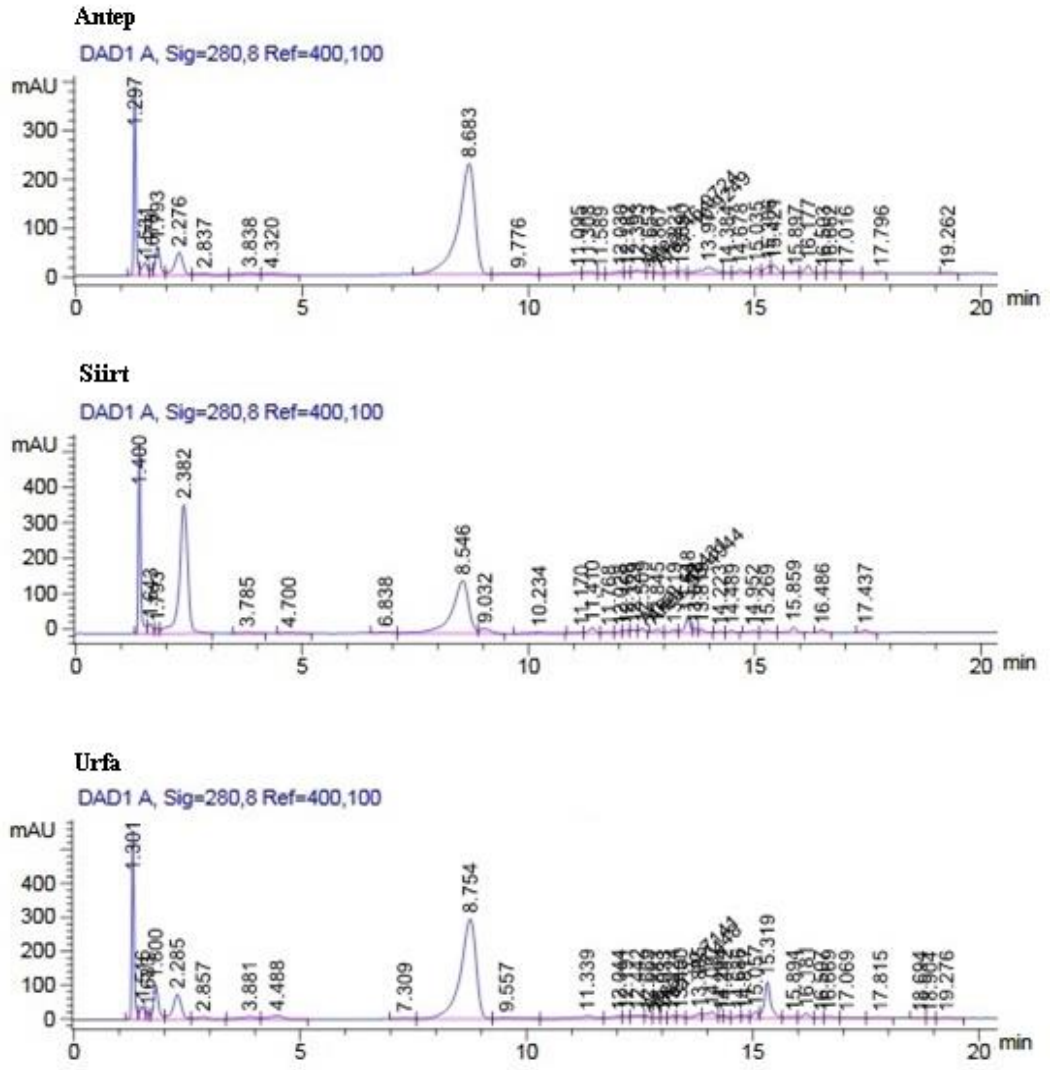
Fenolik Bileşen (Flavonol)	R_t (Antep)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R_t (Siirt)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R_t (Urfa)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep		Siirt		Urfa
Rutin	-	-	5,412	0,56	5,652	0,45
Mirisetin	6,792	0,55	6,795	0,94	6,770	0,79
Kersetin	9,736	1,38	9,739	2,99	9,720	1,62
Kemferol	12,323	0,40	12,337	0,65	12,307	0,59
İzoramnatin	-	-	12,856	0,06	12,832	0,07

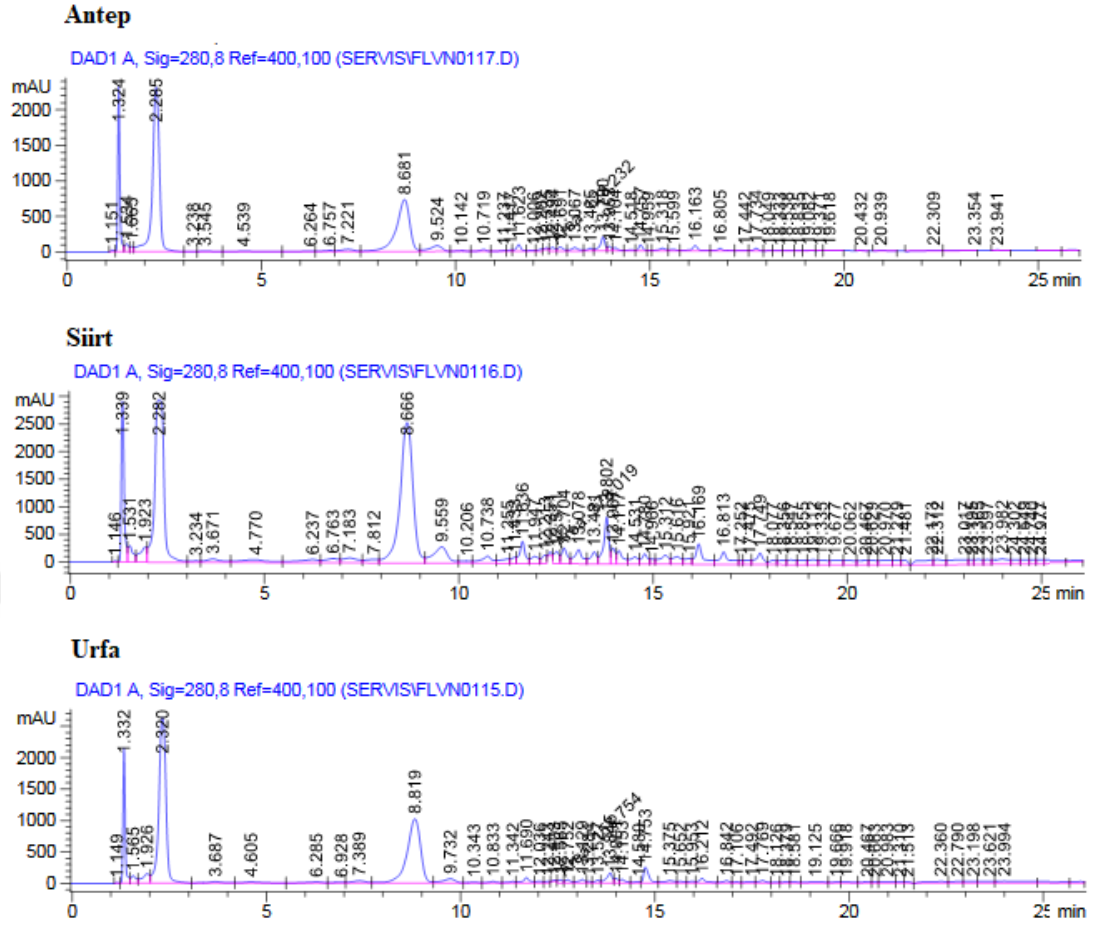


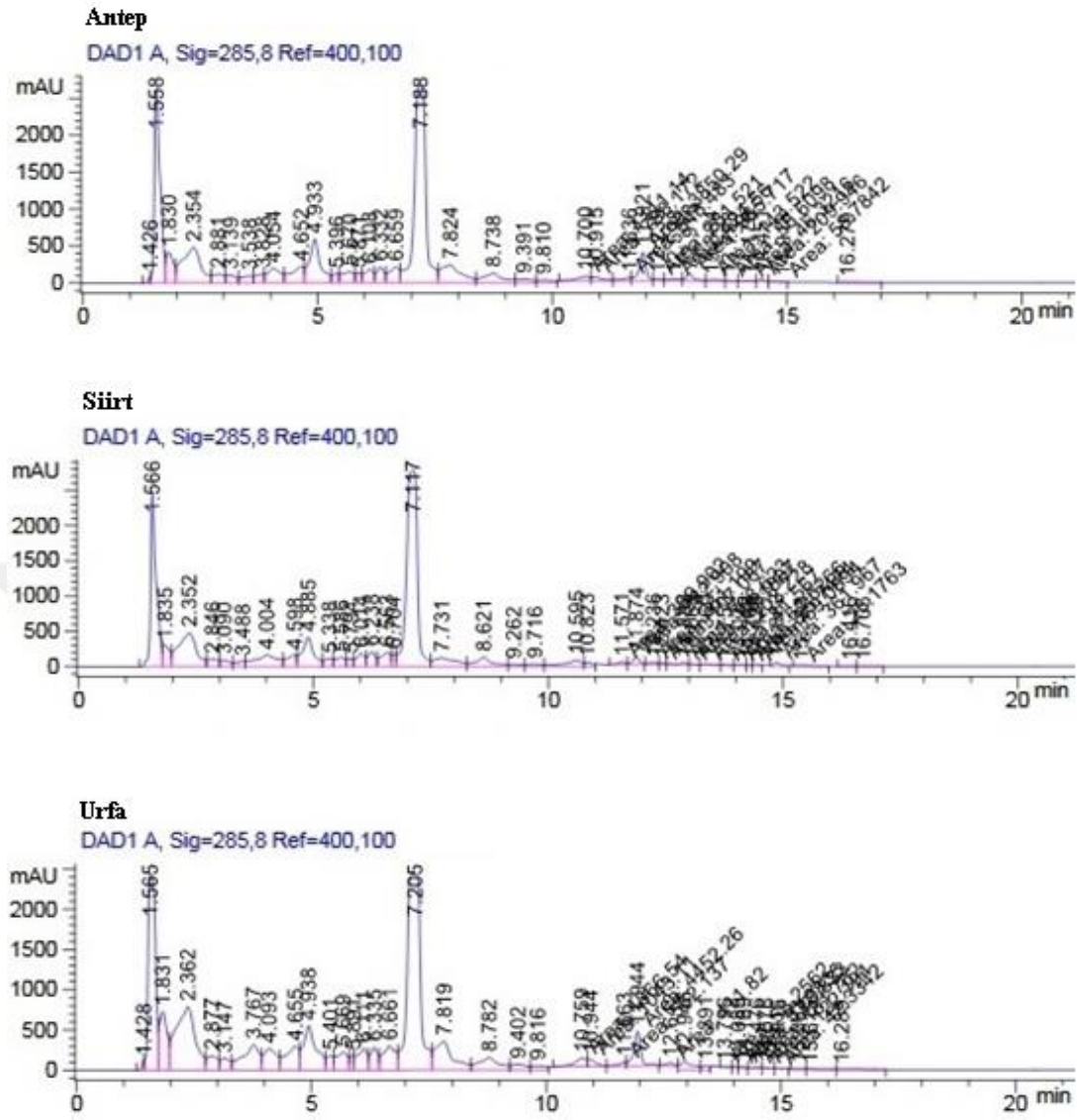
Şekil 3.3 *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen flavon sonuçları

Tablo 3.3 *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen flavon miktarları

Fenolik Bileşen (Flavon)	R _t (Antep)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Siirt)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Urfa)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep		Siirt		Urfa
Apigenin	5,157	0,0298	5,165	0,0265	5,337	0,0210
Luteolin	6,898	0,0705	6,972	0,0485	6,972	0,0530
Eupatorin	8,691	0,0154	-	-	8,770	0,0133



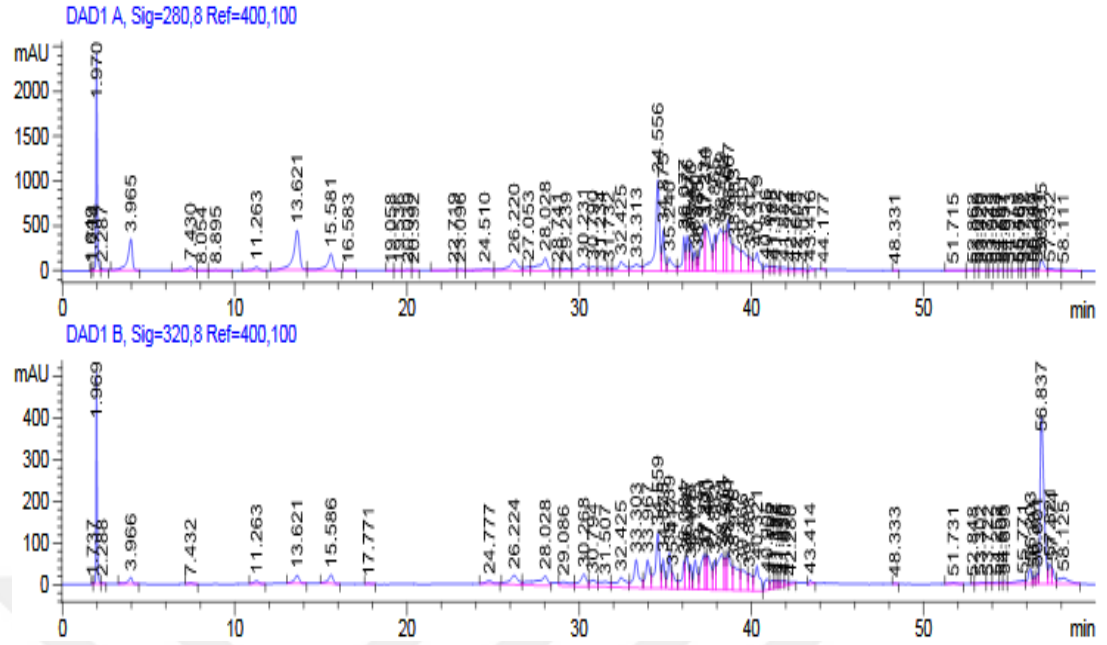




Şekil 3.6 *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen flavanon sonuçları

Tablo 3.6 *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen flavanon miktarları

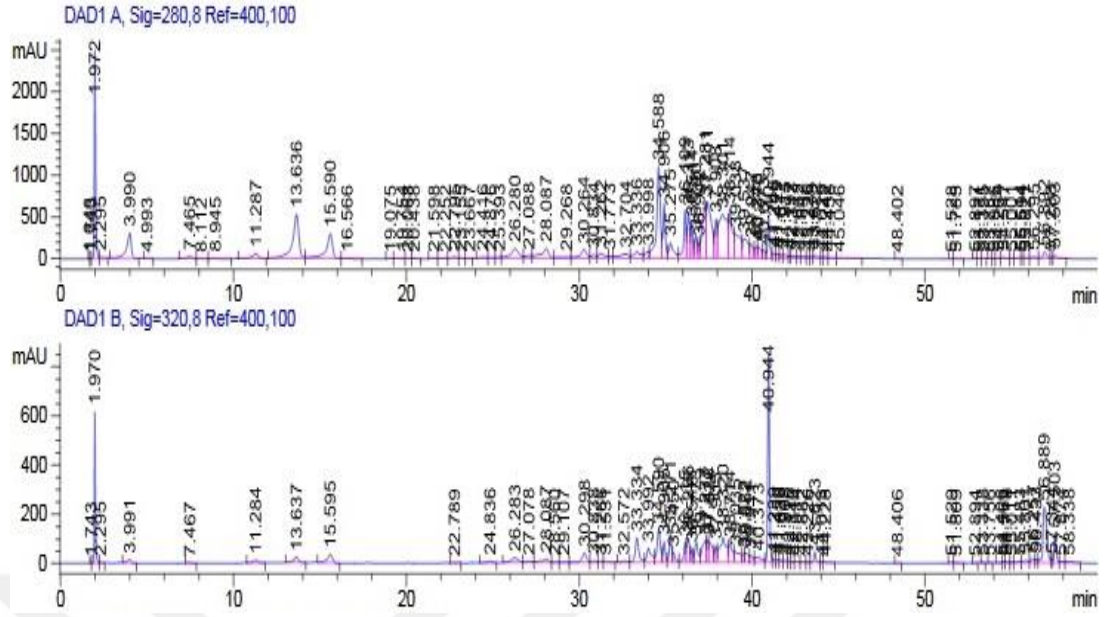
Fenolik Bileşen (Flavanon)	R _t (Antep)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Siirt)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Urfa)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep		Siirt		Urfa
Hesperidin	10,915	0,256	10,823	0,268	10,944	0,339
Naringenin	14,176	0,145	14,076	0,165	14,189	0,168
Hesperetin	14,918	0,199	14,863	0,251	14,916	0,223



Şekil 3.7 Antep *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen SFA sonuçları

Tablo 3.7 Antep *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen SFA miktarları

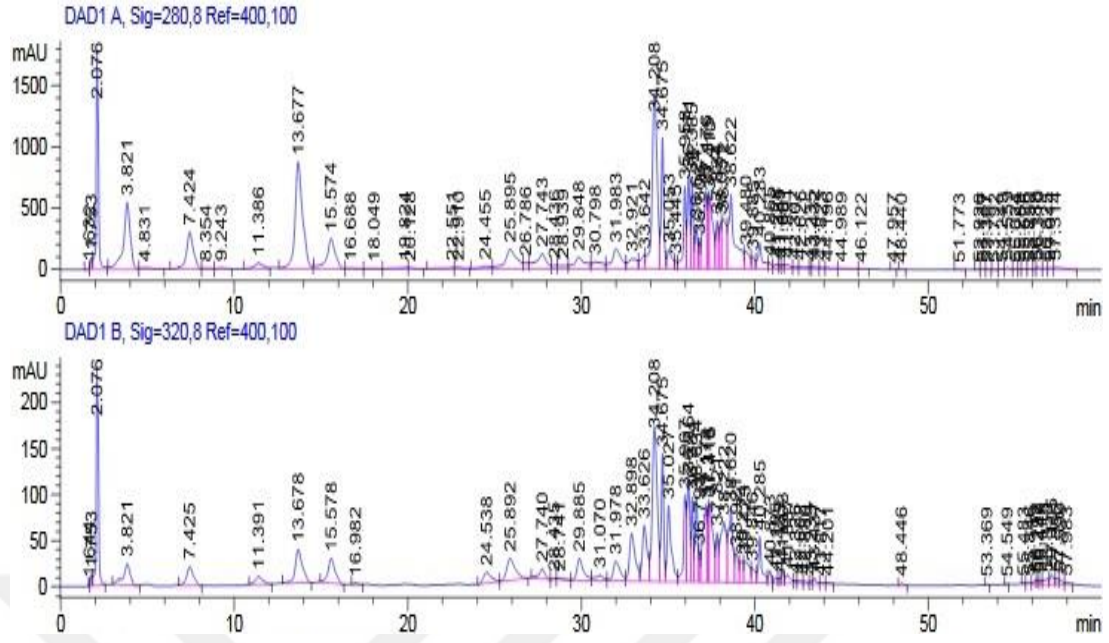
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _i)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _i)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep			Antep
Gallik Asit	3,965	0,1540	Kafeik Asit	17,771	0,0012
Benzoik Asit	30,790	0,1561	o-Kumarik Asit	35,240	0,0317
Vanilik Asit	-	-	Sinapik Asit	30,268	0,0117
Şirincik Asit	19,536	0,0002	Ferulik Asit	29,086	0,0043
Klorojenik Asit	16,583	0,0017	t-Sinamik Asit	41,372	0,0067
4-Hidroksi-Benzoik Asit	-	-	p-Kumarik Asit	24,777	0,0008
Protokateşuik Asit	7,430	0,0251	Toplam		0,3934



Şekil 3.8 Siirt *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen SFA sonuçları

Tablo 3.8 Siirt *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen SFA miktarları

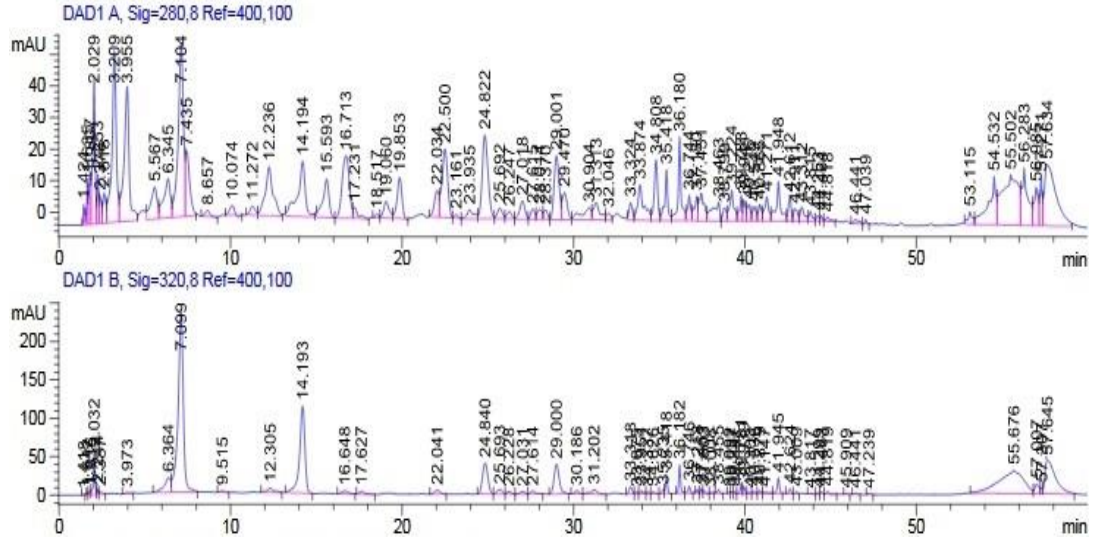
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Siirt			Siirt
Gallik Asit	3,990	0,11137	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	30,834	0,09210	o-Kumarik Asit	35,275	0,02795
Vanilik Asit	-	-	Sinapik Asit	30,298	0,00831
Şirincik Asit	19,754	0,00101	Ferulik Asit	29,107	0,00121
Klorojenik Asit	16,566	0,00399	t-Sinamik Asit	41,248	0,00402
4-Hidroksi-Benzoik Asit	-	-	p-Kumarik Asit	24,836	0,00035
Protokateşuik Asit	7,465	0,01021	Toplam		0,2605



Şekil 3.9 Urfa *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen SFA sonuçları

Tablo 3.9 Urfa *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen SFA miktarları

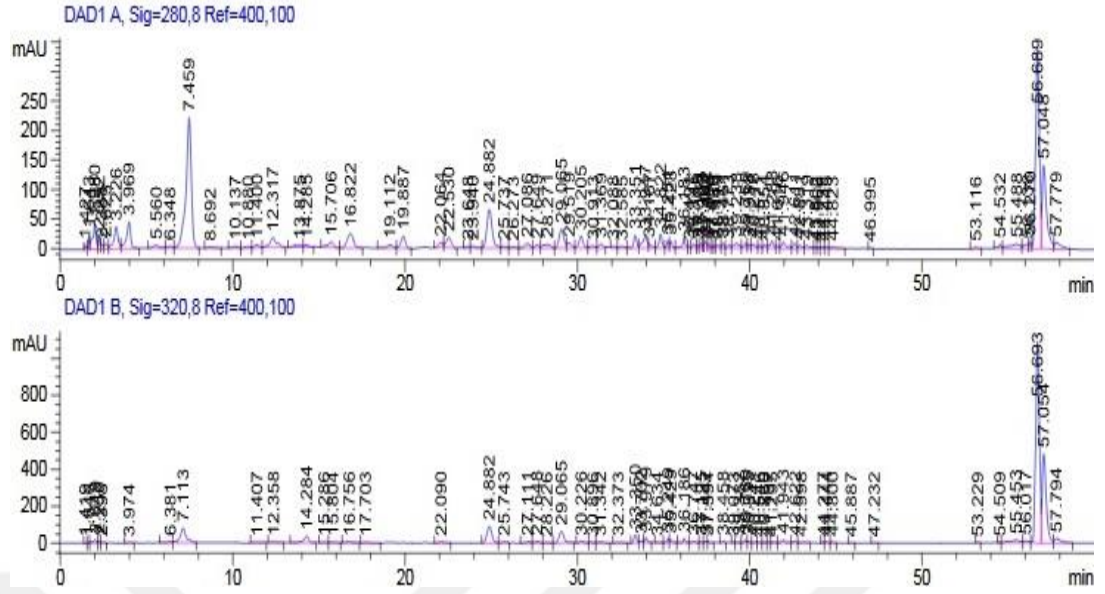
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Urfa			Urfa
Gallik Asit	3,821	0,32673	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	30,798	0,33642	o-Kumarik Asit	35,053	0,02851
Vanilik Asit	16,688	0,00493	Sinapik Asit	-	-
Şirincik Asit	19,824	-	Ferulik Asit	-	-
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,385	0,00174
4-Hidroksi-Benzoik Asit	-	-	p-Kumarik Asit	24,538	0,00114
Protokateşuik Asit	7,424	0,22752	Toplam		0,9332



Şekil 3.10 Antep *P. vera* ekstrlerinin HPLC’de belirlenen BHFA sonuçları

Tablo 3.10 Antep *P. vera* ekstrlerinin HPLC’de belirlenen BHFA miktarları

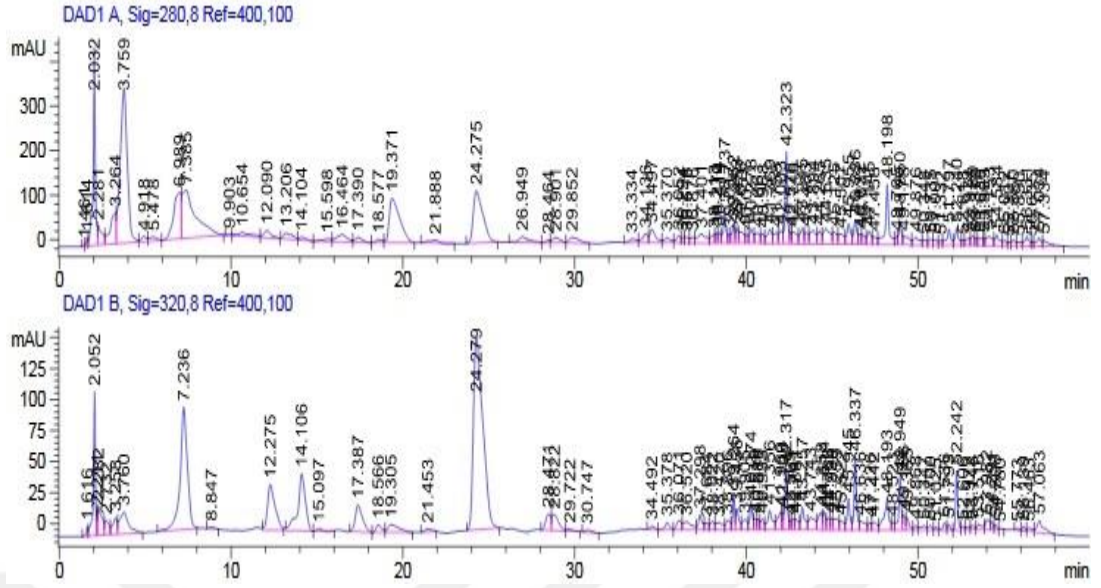
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep			Antep
Gallik Asit	3,955	0,0212	Kafeik Asit	17,627	0,0018
Benzoik Asit	30,904	0,0190	o-Kumarik Asit	35,418	0,0034
Vanilik Asit	16,713	0,0186	Sinapik Asit	30,186	0,0035
Şirincik Asit	19,853	0,0035	Ferulik Asit	29,000	0,0080
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,271	0,0010
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,236	0,0128	p-Kumarik Asit	24,840	0,0033
Protokateşuik Asit	7,435	0,0106	Toplam		0,1067

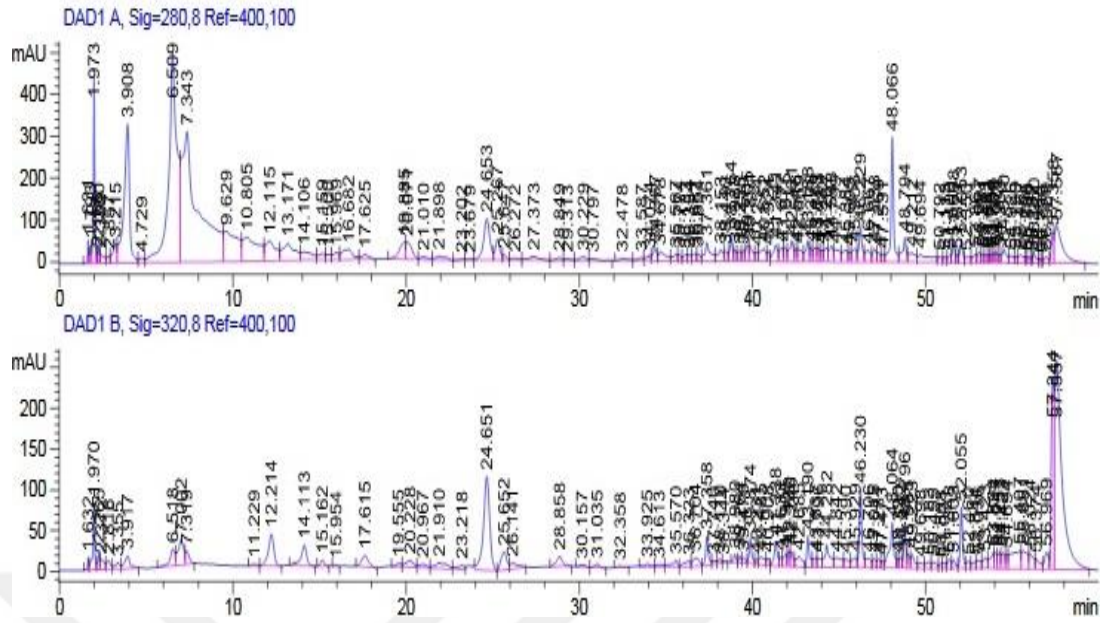


Şekil 3.12 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen BHFA sonuçları

Tablo 3.12 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen BHFA miktarları

Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Urfa			Urfa
Gallik Asit	3,969	0,01537	Kafeik Asit	17,703	0,00136
Benzoik Asit	30,913	0,00770	o-Kumarik Asit	35,251	0,00218
Vanilik Asit	16,822	0,01779	Sinapik Asit	30,226	0,00340
Şirincik Asit	19,887	0,00504	Ferulik Asit	29,065	0,00953
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,288	0,00129
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,317	0,01119	p-Kumarik Asit	24,882	0,00583
Protokateşuik Asit	7,459	0,13381	Toplam		0,2145

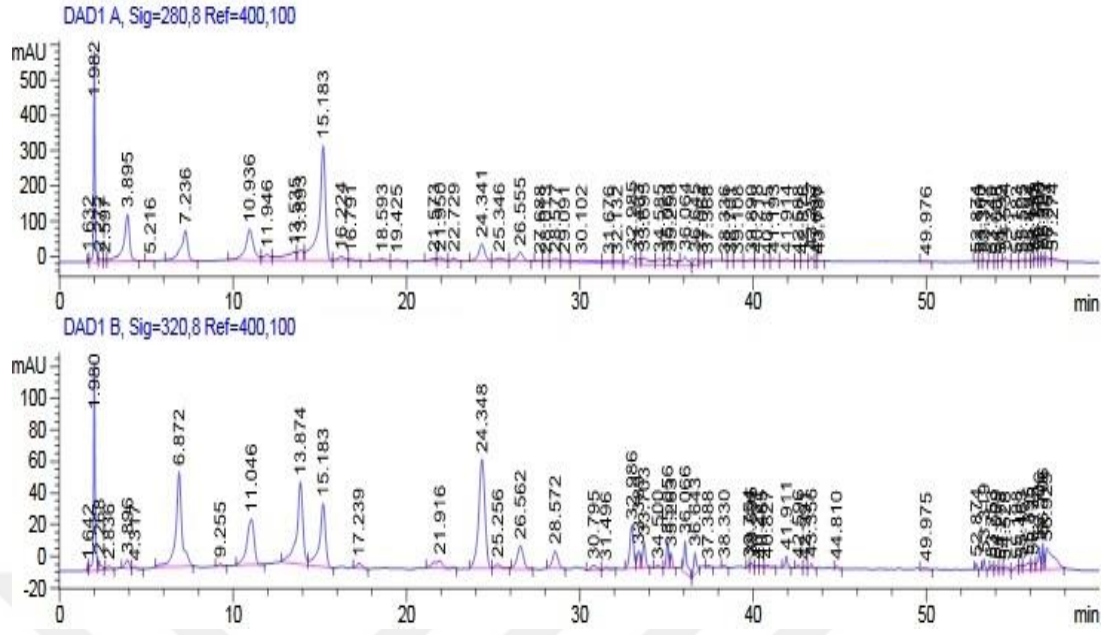




Şekil 3.15 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen AHFA sonuçları

Tablo 3.15 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen AHFA miktarları

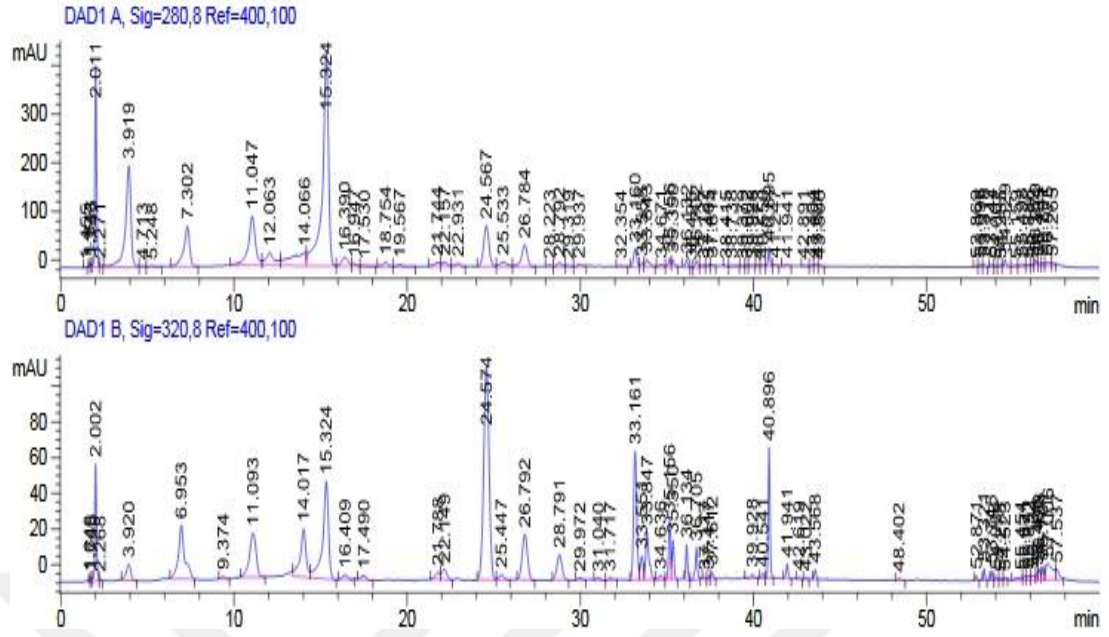
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Urfa			Urfa
Gallik Asit	3,908	0,15603	Kafeik Asit	17,615	0,00345
Benzoik Asit	30,797	0,00885	o-Kumarik Asit	-	-
Vanilik Asit	16,682	0,02902	Sinapik Asit	30,157	0,00268
Şirincik Asit	19,885	0,01418	Ferulik Asit	28,858	0,00336
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,341	0,00447
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,115	0,04848	p-Kumarik Asit	24,651	0,00895
Protokateşuik Asit	7,343	0,53953	Toplam		0,8190



Şekil 3.16 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Kb₁ sonuçları

Tablo 3.16 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Kb₁ miktarları

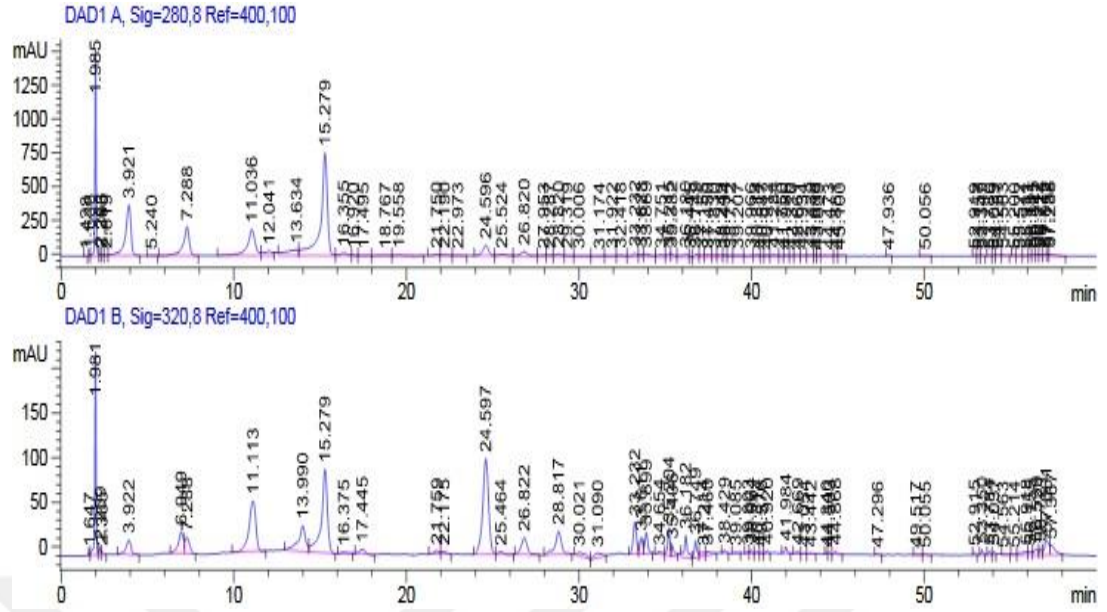
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep			Antep
Gallik Asit	3,895	0,2076	Kafeik Asit	17,239	0,0041
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	35,061	0,0115
Vanilik Asit	16,791	0,0005	Sinapik Asit	-	-
Şirincik Asit	19,425	0,0016	Ferulik Asit	28,572	0,0088
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,193	0,0013
4-Hidroksi-Benzoik Asit	-	-	p-Kumarik Asit	24,348	0,0165
Protokateşuik Asit	7,236	0,1875	Toplam		0,4395



Şekil 3.17 Siirt *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb₁ sonuçları

Tablo 3.17 Siirt *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb₁ miktarları

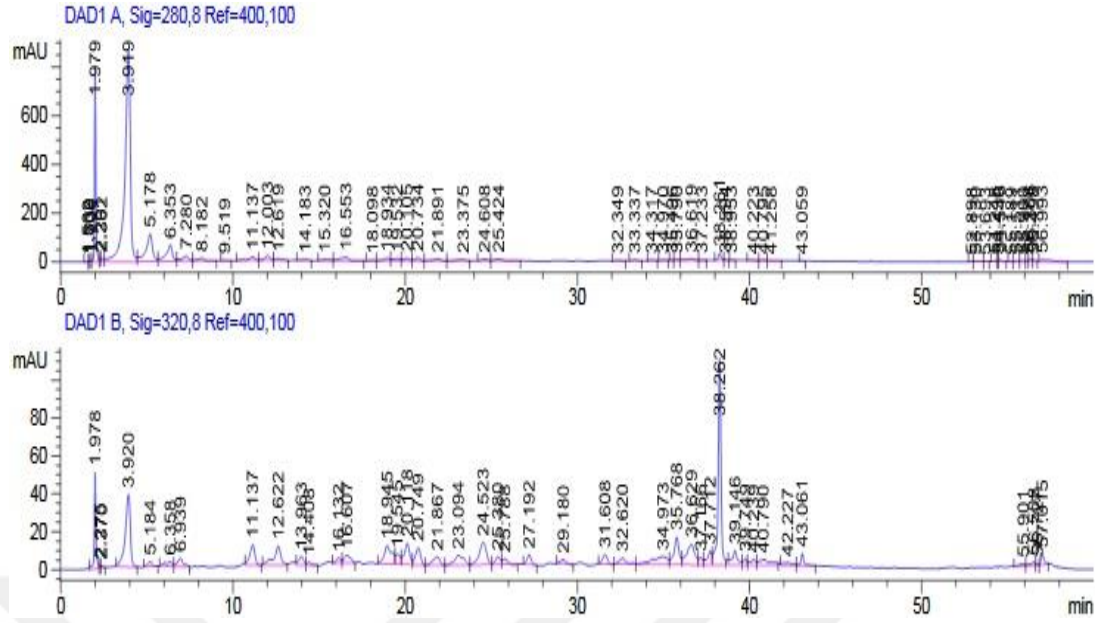
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Siirt			Siirt
Gallik Asit	3,919	0,27684	Kafeik Asit	17,490	0,00351
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	35,156	0,00638
Vanilik Asit	16,947	0,00413	Sinapik Asit	29,972	0,00643
Şirincik Asit	19,567	0,00100	Ferulik Asit	28,791	0,00871
Klorojenik Asit	16,409	0,00592	t-Sinamik Asit	41,247	0,00069
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,063	0,06541	p-Kumarik Asit	24,574	0,02247
Protokateşuik Asit	7,302	0,14720	Toplam		0,5487



Şekil 3.18 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb₁ sonuçları

Tablo 3.18 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb₁ miktarları

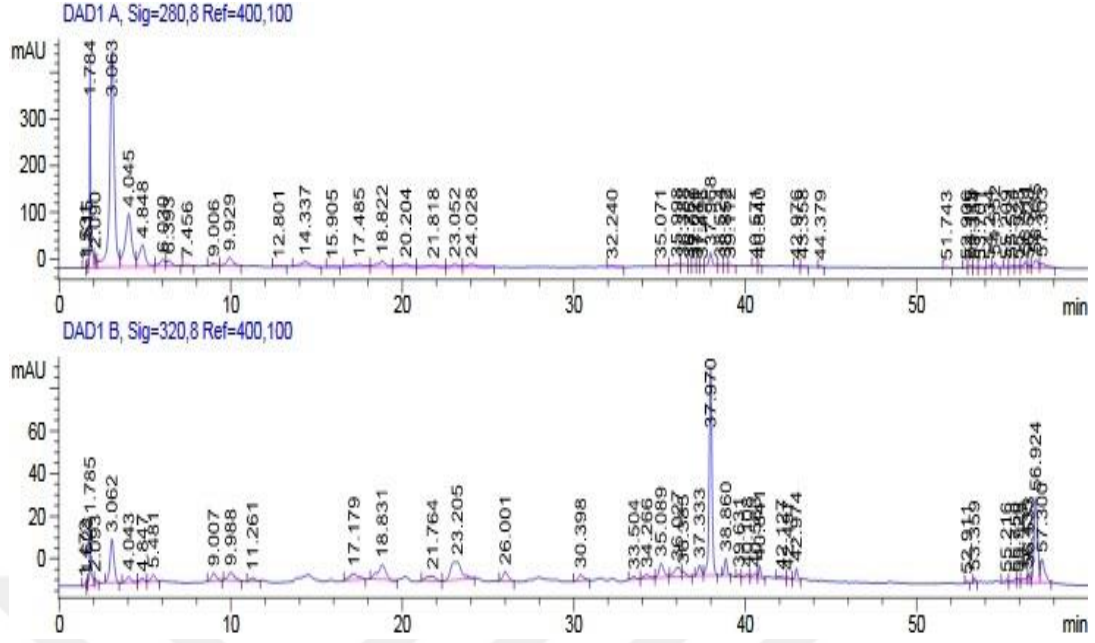
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Urfa			Urfa
Gallik Asit	3,921	0,51406	Kafeik Asit	17,445	0,00457
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	-	-
Vanilik Asit	16,920	0,00288	Sinapik Asit	30,021	0,01088
Şirincik Asit	19,558	0,00325	Ferulik Asit	28,817	0,01556
Klorojenik Asit	16,375	0,00385	t-Sinamik Asit	41,284	0,00599
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,041	0,07694	p-Kumarik Asit	24,597	0,02199
Protokateşuik Asit	7,288	0,39431	Toplam		1,0543



Şekil 3.19 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Ka₂ sonuçları

Tablo 3.19 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Ka₂ miktarları

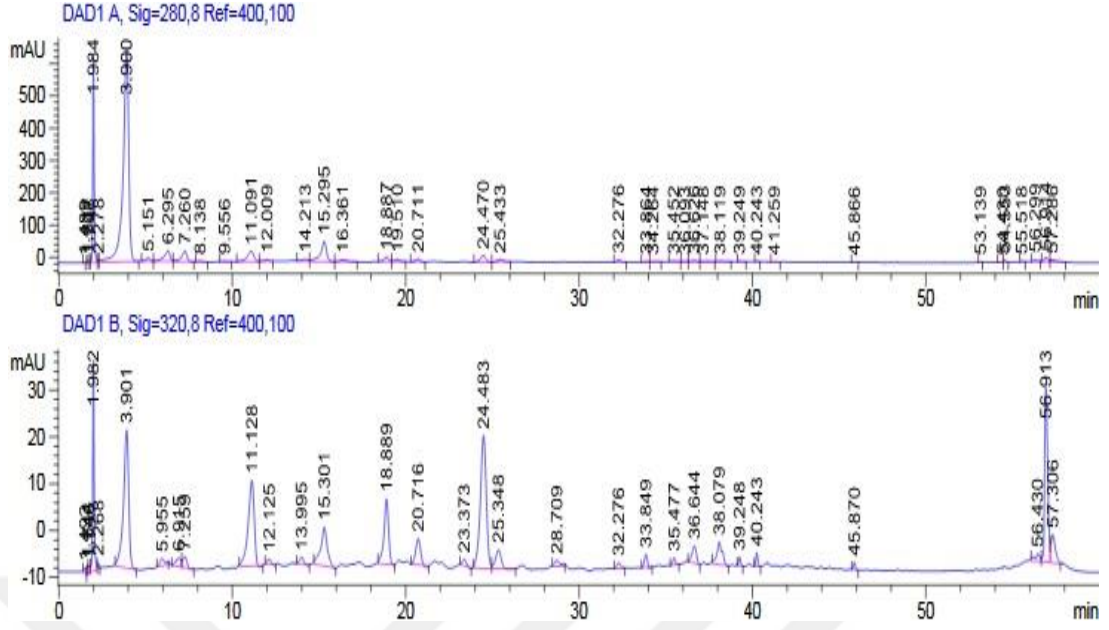
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep			Antep
Gallik Asit	3,919	1,0634	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	34,970	0,0034
Vanilik Asit	16,553	0,0352	Sinapik Asit	-	-
Şirincik Asit	19,532	0,0077	Ferulik Asit	29,180	0,0040
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,258	0,0004
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,003	0,0257	p-Kumarik Asit	24,523	0,0027
Protokateşuik Asit	7,280	0,0378	Toplam		1,1802



Şekil 3.20 Siirt *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka₂ sonuçları

Tablo 3.20 Siirt *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka₂ miktarları

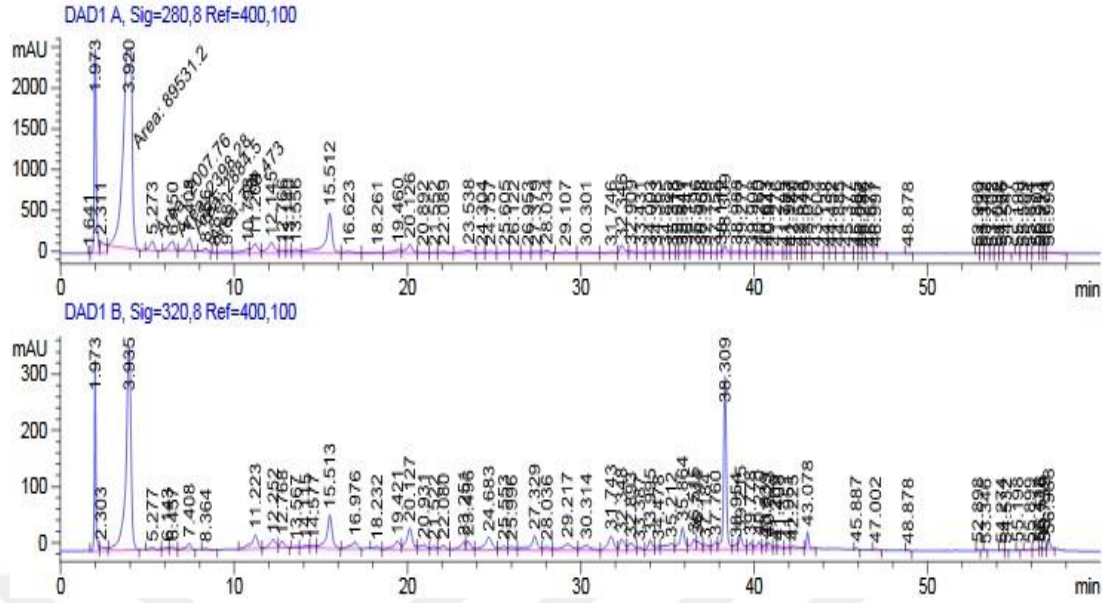
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Siirt			Siirt
Gallik Asit	3,063	0,55098	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	35,071	0,00425
Vanilik Asit	14,337	0,02788	Sinapik Asit	30,398	0,00847
Şirincik Asit	17,485	0,00689	Ferulik Asit	-	-
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	40,840	0,00036
4-Hidroksi-Benzoik Asit	9,929	0,02893	p-Kumarik Asit	-	-
Protokateşuik Asit	7,456	0,02309	Toplam		0,6508



Şekil 3.21 Urfa *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Ka₂ sonuçları

Tablo 3.21 Urfa *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Ka₂ miktarları

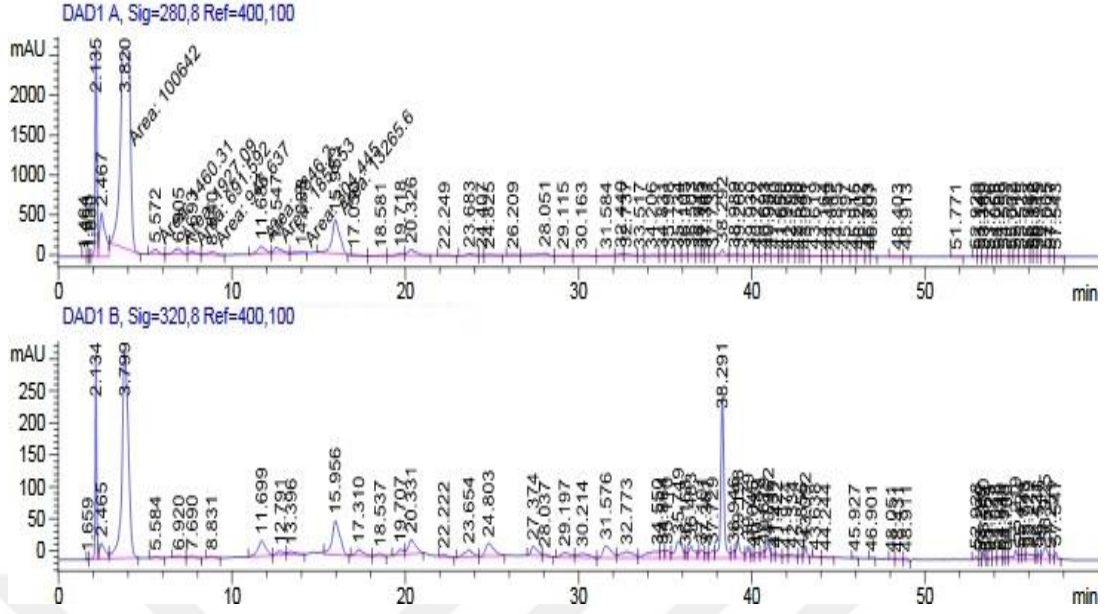
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Urfa			Urfa
Gallik Asit	3,900	0,61512	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	-	-
Vanilik Asit	-	-	Sinapik Asit	-	-
Şirincik Asit	19,510	0,00251	Ferulik Asit	28,709	0,00272
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,259	0,00020
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,009	0,00014	p-Kumarik Asit	24,483	0,00397
Protokateşuik Asit	7,260	0,03505	Toplam		0,6597



Şekil 3.22 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Ka₁ sonuçları

Tablo 3.22 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Ka₁ miktarları

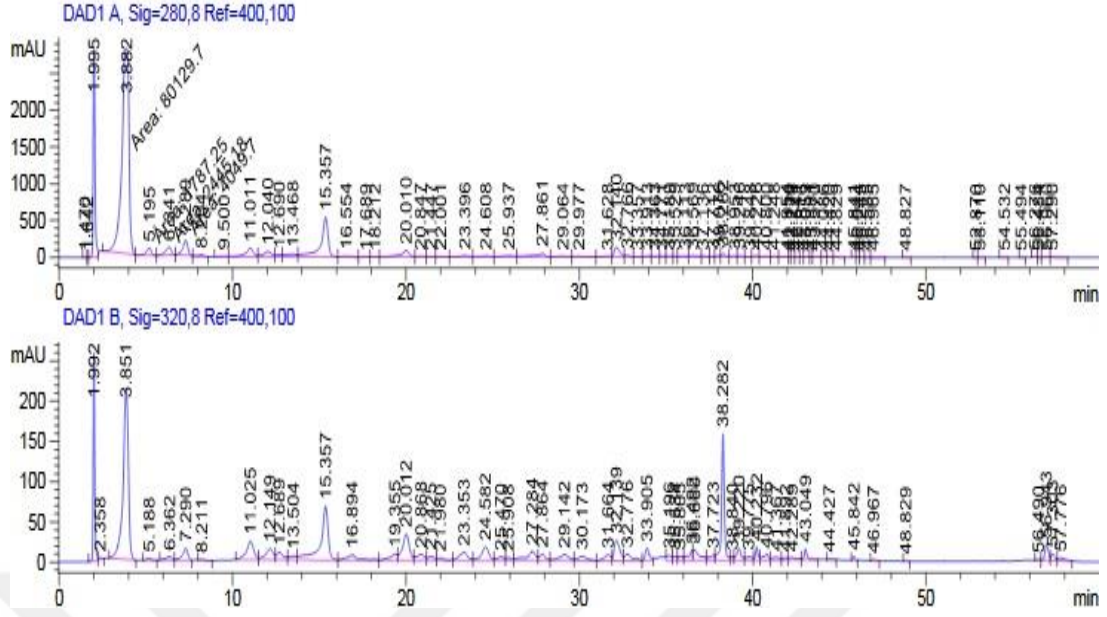
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep			Antep
Gallik Asit	3,920	6,0671	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	30,301	0,2843	o-Kumarik Asit	35,318	0,0105
Vanilik Asit	16,623	0,0766	Sinapik Asit	30,314	0,0190
Şirincik Asit	19,460	0,0661	Ferulik Asit	29,217	0,0138
Klorojenik Asit	16,976	0,0388	t-Sinamik Asit	41,276	0,0080
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,145	0,3338	p-Kumarik Asit	24,683	0,0068
Protokateşuik Asit	7,408	0,2389	Toplam		7,1637



Şekil 3.23 Siirt *P. vera* ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka₁ sonuçları

Tablo 3.23 Siirt *P. vera* ekstrlerinin HPLC’de belirlenen Ka₁ miktarları

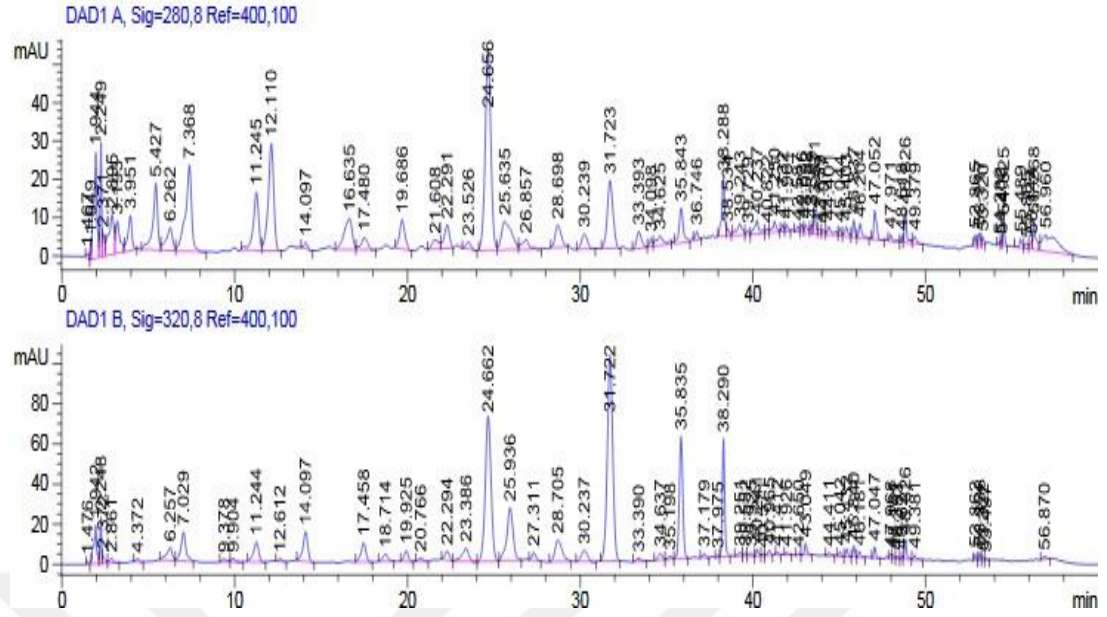
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Siirt			Siirt
Gallik Asit	3,820	6,72604	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	35,198	0,01308
Vanilik Asit	17,030	0,02884	Sinapik Asit	30,214	0,01696
Şirincik Asit	19,718	0,03696	Ferulik Asit	29,197	0,00912
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,280	0,00521
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,547	0,14391	p-Kumarik Asit	24,803	0,00636
Protokateşuik Asit	7,693	0,05528	Toplam		7,0417



Şekil 3.24 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka₁ sonuçları

Tablo 3.24 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Ka₁ miktarları

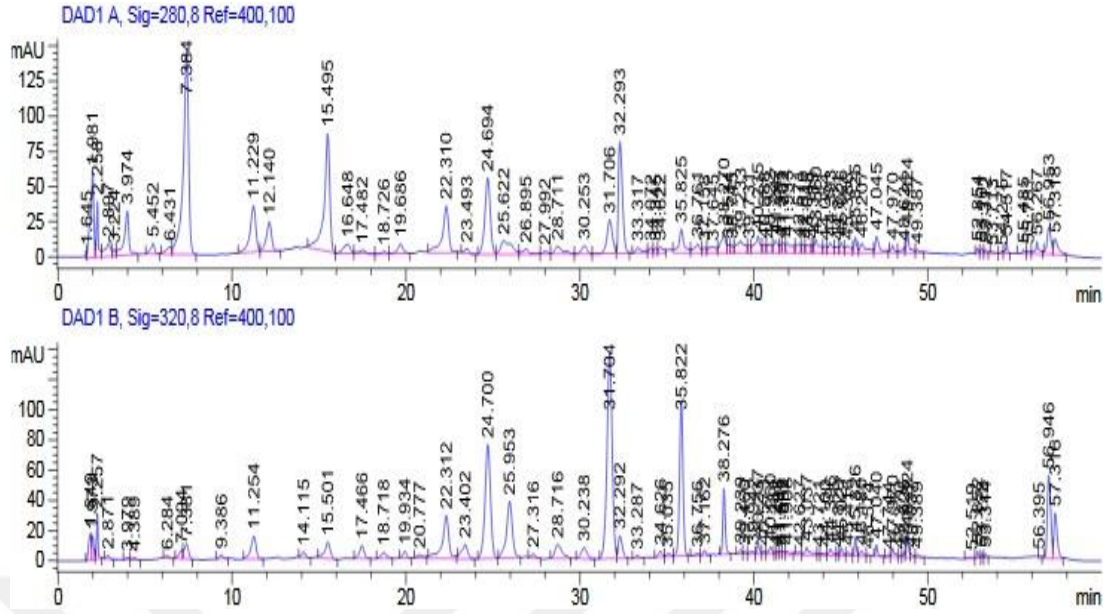
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Urfa			Urfa
Gallik Asit	3,882	5,05978	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	35,189	0,06710
Vanilik Asit	16,554	0,02976	Sinapik Asit	30,173	0,01317
Şirincik Asit	-	-	Ferulik Asit	29,142	0,00972
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,248	0,03789
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,040	0,17673	p-Kumarik Asit	24,582	0,00456
Protokateşuik Asit	7,289	0,31323	Toplam		5,7119



Şekil 3.25 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Kb₂ sonuçları

Tablo 3.25 Antep *P. vera* ekstrelerinin HPLC’de belirlenen Kb₂ miktarları

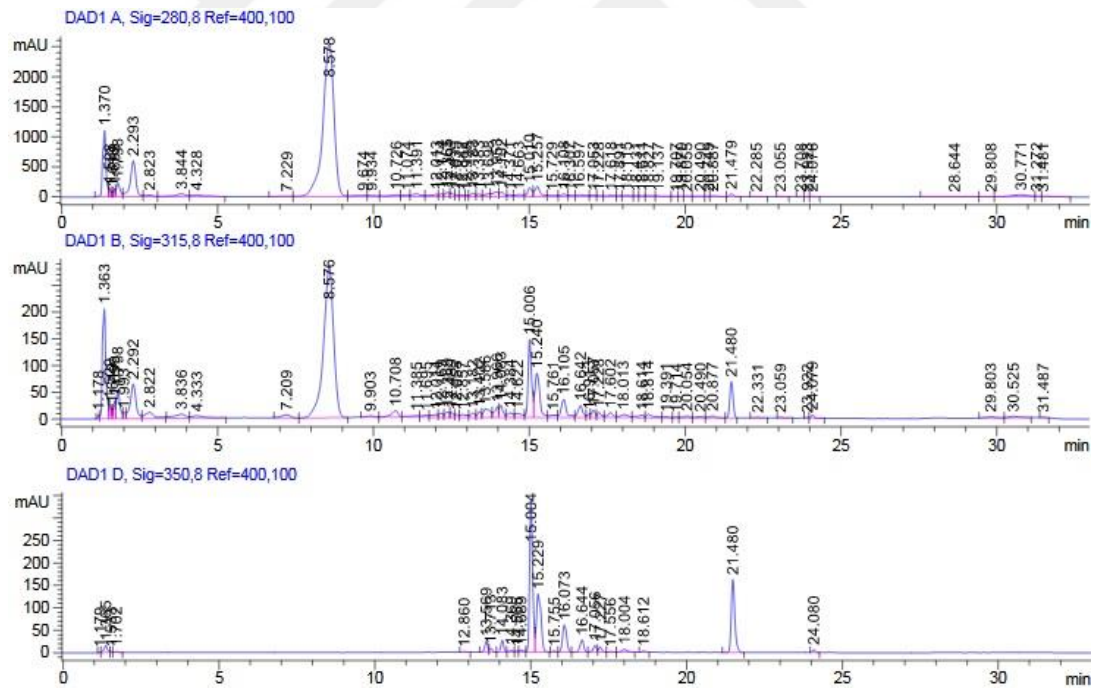
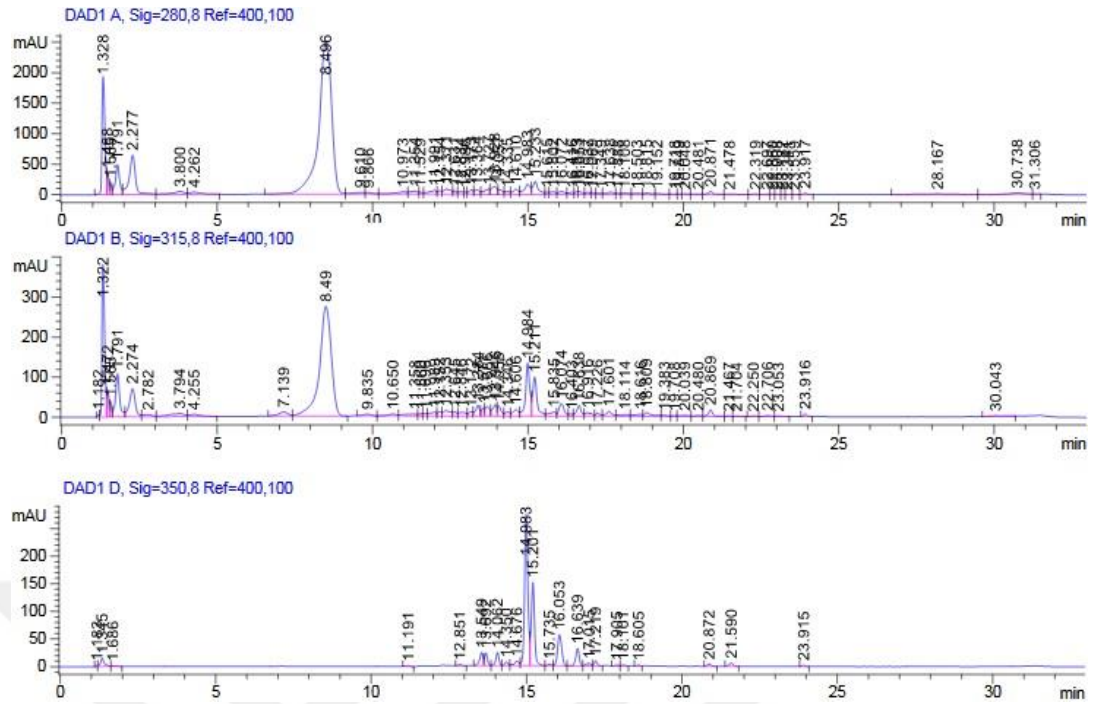
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Antep			Antep
Gallik Asit	3,951	0,0034	Kafeik Asit	17,458	0,0063
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	-	-
Vanilik Asit	16,635	0,0185	Sinapik Asit	30,237	0,0103
Şirincik Asit	19,686	0,0045	Ferulik Asit	-	-
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,250	0,0008
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,110	0,0390	p-Kumarik Asit	24,662	0,0148
Protokateşuik Asit	7,368	0,0402	Toplam		0,1379

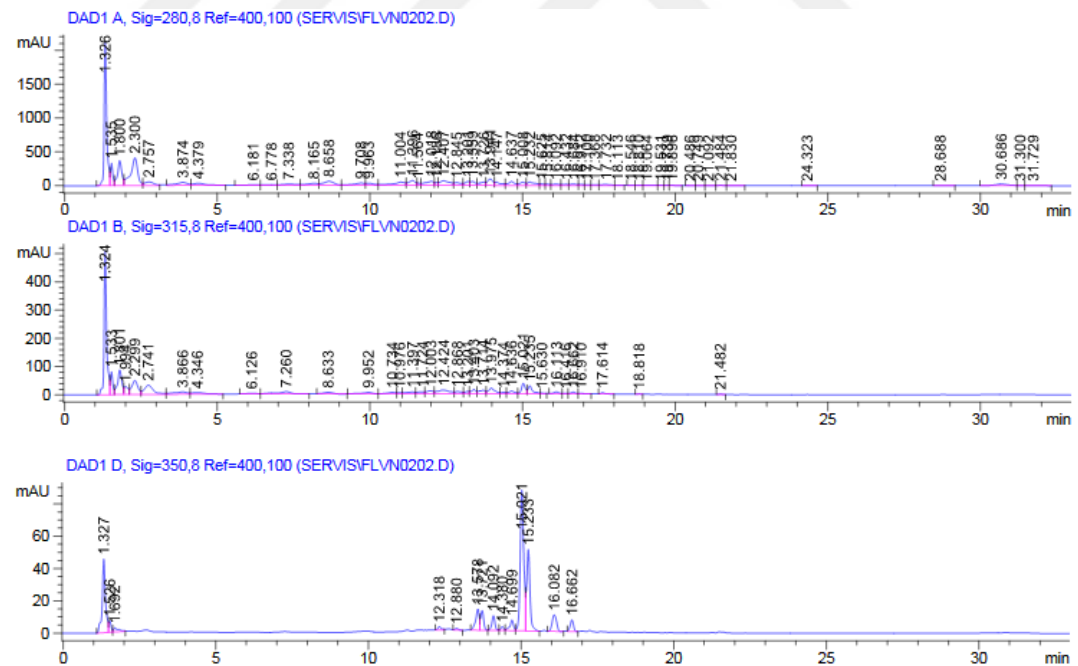
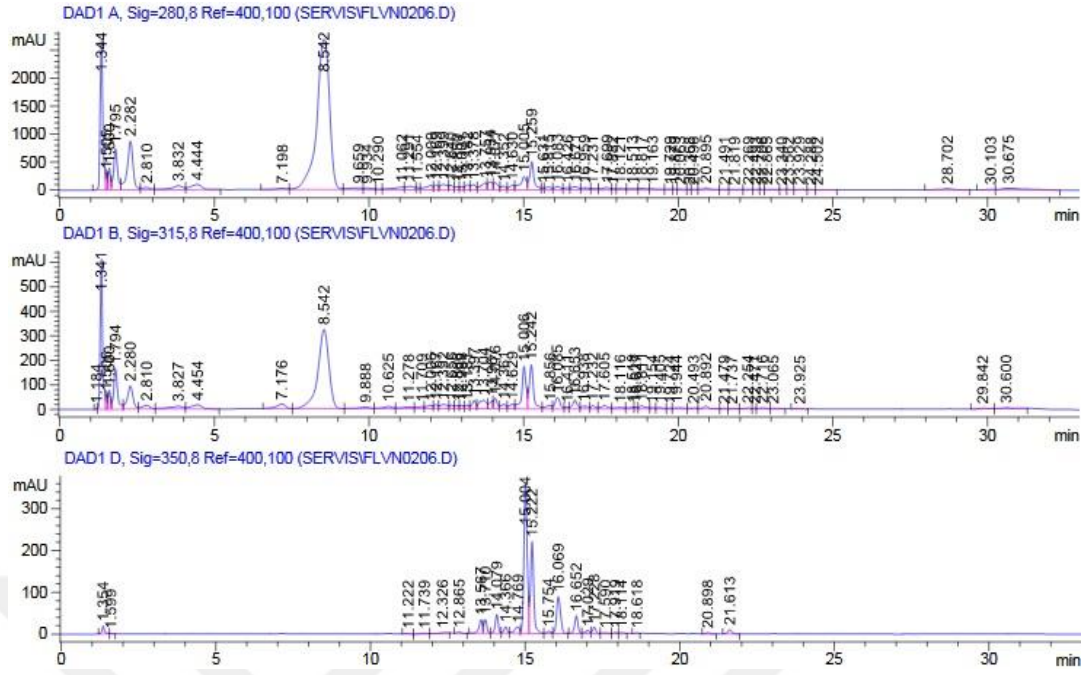


Şekil 3.27 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb₂ sonuçları

Tablo 3.27 Urfa *P. vera* ekstralarının HPLC’de belirlenen Kb₂ miktarları

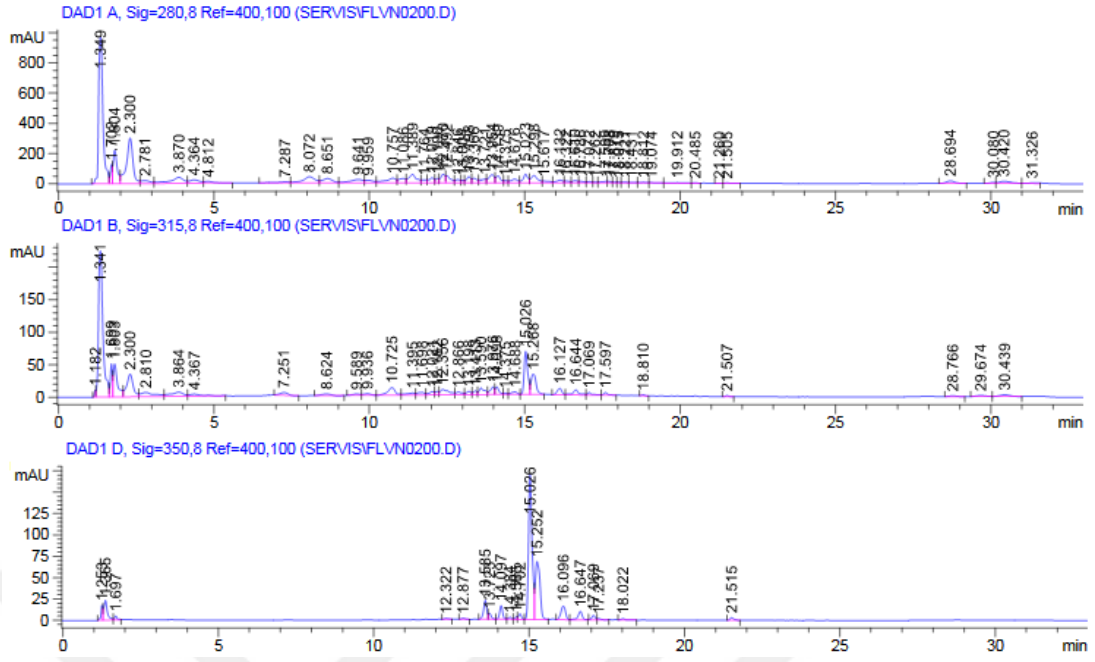
Fenolik Asit Bileşenleri	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	Fenolik Bileşen	Gelme Zamanı (R _t)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
		Urfa			Urfa
Gallik Asit	3,974	0,03143	Kafeik Asit	-	-
Benzoik Asit	-	-	o-Kumarik Asit	-	-
Vanilik Asit	16,648	0,01324	Sinapik Asit	30,238	0,01178
Şirincik Asit	19,686	0,00424	Ferulik Asit	28,716	0,00859
Klorojenik Asit	-	-	t-Sinamik Asit	41,247	0,00263
4-Hidroksi-Benzoik Asit	12,140	0,02663	p-Kumarik Asit	24,700	0,01511
Protokateşuik Asit	7,384	0,24022	Toplam		0,3539



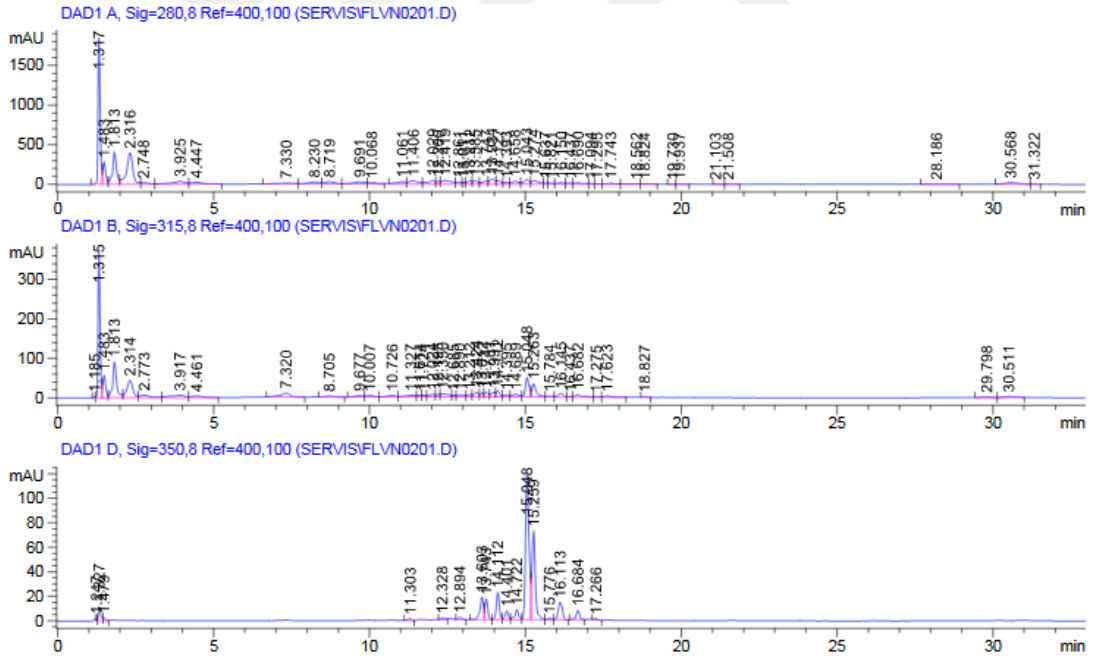


Tablo 3.28 *P. vera* 3/2 metanol/su ekstralarının HPLC’de belirlenen fenolik bileşenlerinin miktarları

Fenolik Bileşen	Ölçüm Yapılan nm	R _t (Antep)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Siirt)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Urfa)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
			Antep		Siirt		Urfa
Gallik Asit	280	2,277	0,140095	2,293	0,11498	2,282	0,175426
Protokateşuik Asit	280	4,262	0,020644	4,328	0,01956	-	-
4-Hidroksi– Benzoik Asit	280	-	-	7,229	0,00291	-	-
Epigallokateşin	280	-	-	-	-	-	-
Klorojenik Asit	315	-	-	-	-	-	-
Kateşin	280	-	-	-	-	-	-
Vanilik Asit	280	-	-	-	-	-	-
Kafeik Asit	315	9,835	0,000562	9,903	0,00291	9,888	0,00145
Şirincik Asit	280	-	-	-	-	10,290	0,002168
Epikateşin	280	-	-	11,074	0,01677	11,062	0,045399
p-Kumarik Asit	315	12,846	0,000868	12,857	0,45510	12,866	0,00069
Ferulik Asit	315	14,346	0,000828	14,384	0,00076	-	-
Rutin	350	14,335	0,015139	14,371	0,01041	14,352	0,023478
Sinapik Asit	315	14,346	0,00088	-	-	14,361	0,00163
o-Kumarik Asit	280	17,069	0,002795	17,053	0,00360	16,959	0,008141
Mirisetin	280	19,718	0,001591	19,707	0,00090	19,729	0,002403
Luteolin	315	20,481	0,000482	20,055	0,00043	20,063	0,000717
Kersetin	350	21,478	0,00094	21,479	0,00315	21,491	0,000909
Apigenin	315	-	-	-	-	21,819	0,000805
t-Sinamik Asit	280	22,319	0,000211	22,285	0,00008	22,269	0,000522
Naringenin	280	-	-	-	-	22,493	0,000561
İzoramnetin	315	22,860	0,000311	-	-	22,716	0,000781
Hesperetin	280	-	-	-	-	-	-
Kemferol	280	-	-	-	-	-	-
Eupatorin	350	-	-	-	-	-	-



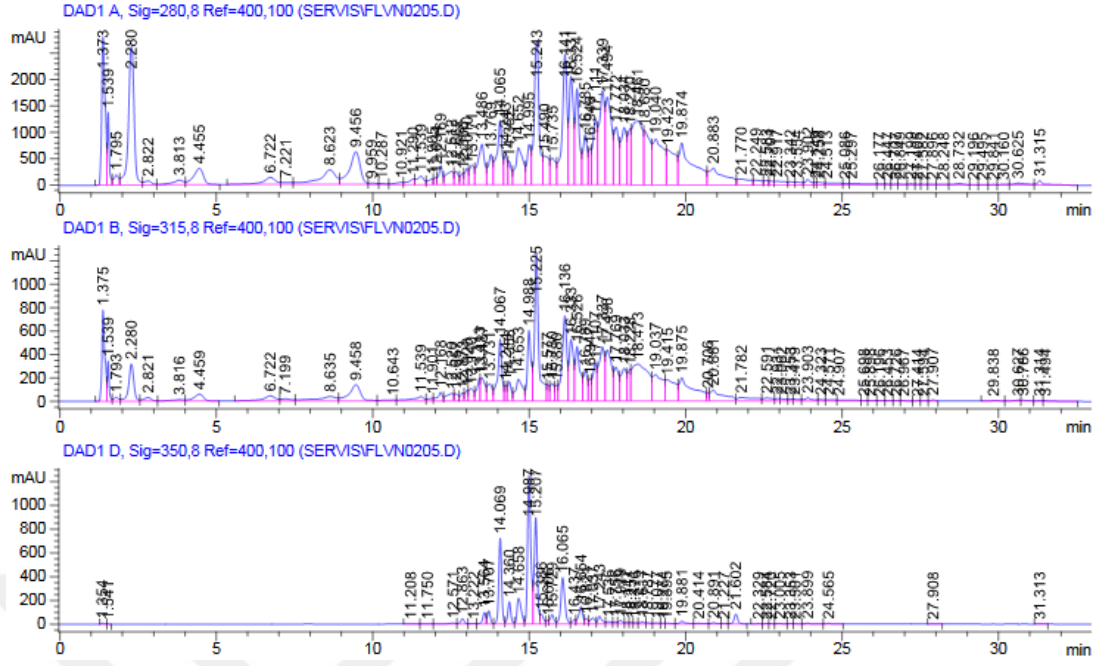
Şekil 3.32 Siirt *P. vera* 7/3 etil asetat/su ekstresi su fazının HPLC sonuçları



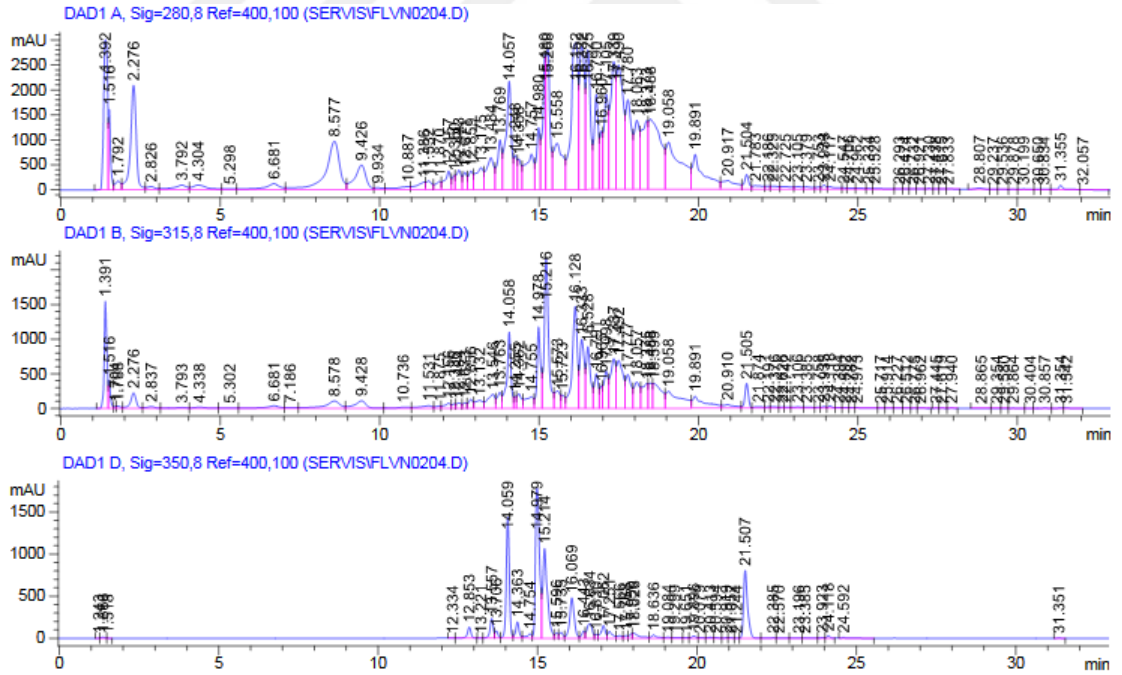
Şekil 3.33 Urfa *P. vera* 7/3 etil asetat/su ekstresi su fazının HPLC sonuçları

Tablo 3.29 *P. vera* 7/3 etil asetat/su ekstresi su fazındabelirlenen fenolik bileşiklerinin miktarları

Fenolik Bileşen	Ölçüm Yapılan nm	R _t (Antep)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Siirt)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Urfa)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
			Antep		Siirt		Urfa
Gallik Asit	280	2.300	0,100331	2.300	0,06686	2.316	0,085685
Protokateşuik Asit	280	-	-	-	-	-	-
4-Hidroksi– Benzoik Asit	280	7.338	0,009084	7.287	0,00338	7.330	0,00766
Epigallokateşin	280	-	-	-	-	-	-
Klorojenik Asit	315	-	-	-	-	-	-
Kateşin	280	-	-	-	-	-	-
Vanilik Asit	280	-	-	-	-	-	-
Kafeik Asit	315	9.952	0,000962	9.936	0,00028	-	-
Şirincik Asit	280	-	-	-	-	-	-
Epikateşin	280	-	-	-	-	-	-
p-Kumarik Asit	315	12.868	0,000706	12.866	0,00035	12.890	0,00051
Ferulik Asit	315	14.374	0,00037	-	-	-	-
Rutin	350	-	-	14.375	0,0041	14.393	0,007444
Sinapik Asit	315	-	-	-	-	14.395	0,000503
o-Kumarik Asit	280	17.100	0,00173	17072	0,00148	17,094	0,000938
Mirisetin	280	19.739	0,000478	-	-	19.730	0,000122
Luteolin	315	-	-	-	-	19.937	0,000099
Kersetin	350	21.830	0,000118	-	-	-	-
Apigenin	315	-	-	-	-	-	-
t-Sinamik Asit	280	-	-	-	-	-	-
Naringenin	280	-	-	-	-	-	-
İzoramnetin	315	-	-	-	-	-	-
Hesperetin	280	-	-	-	-	-	-
Kemferol	280	-	-	-	-	-	-
Eupatorin	350	29,495	-	-	-	-	-



Şekil 3.34 Antep *P. vera* 7/3 etil asetat/su ekstresi etil asetat fazının HPLC sonuçları



Şekil 3.35 Siirt *P. vera* 7/3 etil asetat/su ekstresi etil asetat fazının HPLC sonuçları

Tablo 3.30 *P. vera* 7/3 etil asetat/su ekstresi etil asetat fazında belirlenen fenolik bileşiklerinin miktarları

Fenolik Bileşen	Ölçüm Yapılan nm	R _t (Antep)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Siirt)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)	R _t (Urfa)	<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)
			Antep		Siirt		Urfa
Gallik Asit	280	2,280	0,504202	2,276	0,39969	2,279	0,489216
Protokateşuik Asit	280	-	-	-	-	4,154	0,04097
4-Hidroksi-Benzoik Asit	280	7,221	0,015954	-	-	-	-
Epigallokateşin	280	-	-	-	-	-	-
Klorojenik Asit	315	-	-	-	-	-	-
Kateşin	280	-	-	8,577	1,26942	8,410	0,808503
Vanilik Asit	280	-	-	9,426	0,18857	-	-
Kafeik Asit	315	-	-	-	-	-	-
Şirincik Asit	280	-	-	-	-	-	-
Epikateşin	280	11,290	0,057331	-	-	-	-
p-Kumarik Asit	315	12,873	0,003079	12,856	0,00734	12,839	0,005281
Ferulik Asit	315	14,358	0,009125	14,362	0,01408	14,339	0,010067
Rutin	350	14,352	0,097585	14,358	0,14626	-	-
Sinapik Asit	315	-	-	-	-	-	-
o-Kumarik Asit	280	17,111	0,169013	17,105	0,24533	17,104	0,223
Mirisetin	280	-	-	-	-	-	-
Luteolin	315	-	-	-	-	-	-
Kersetin	350	21,770	0,028444	21,783	0,01481	21,770	0,024493
Apigenin	315	-	-	-	-	-	-
t-Sinamik Asit	280	22,249	0,00807	22,325	0,00503	22,266	0,008782
Naringenin	280	22,583	0,005941	-	-	-	-
İzoramnetin	315	22,917	0,023318	-	-	22,904	0,005993
Hesperetin	280	-	-	24,962	0,00274	-	-
Kemferol	280	25,086	0,004641	-	-	25,109	0,005015
Eupatorin	350	29,495	0,001772	-	-	-	-

Yukarıdaki belirtilen Şekil ve Tablolarda *P. vera*'nın Antep, Siirt ve Urfa örnekleri için ayrı ayrı verilmiş olan flavan-3-ol, flavon, flavanon, flavonol ile fenolik asitlerden; serbest, bazik ve asidik fenolik asitler ile katı faza ait Kb₁, Ka₂, Ka₁ ve Kb₂ ekstrelerinden HPLC sonuçlarına göre belirlenen bileşenlerin tür ve miktarları Tablo 3.31 'de bir araya getirilerek özetlenmiştir.

Tablo 3.31 *P. vera* ekstrelerinde belirlenmiş fenolik bileşikler ve miktarları

Fenolik Bileşen		<i>P.vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)		
		Antep	Siirt	Urfa
Flavonol	Rutin	-	0,56	0,45
	Mirisetin	0,55	0,94	0,79
	Kersetin	1,38	2,99	1,62
	Kemferol	0,40	0,65	0,59
	İzoramnnetin	-	0,06	0,07
Flavon	Apigenin	0,0298	0,0265	0,0210
	Luteolin	0,0705	0,0485	0,0530
	Eupatorin	0,0154	0,0152	0,0133
Flavan-3-ol Metanol	Epigallokateşin	-	-	-
	Kateşin	-	0,71	1,17
	Epikateşin	0,29	0,41	0,40
Flavan-3-ol Asit Hidrolize	Epigallokateşin	-	-	-
	Kateşin	0,62	2,07	0,59
	Epikateşin	0,03	0,07	0,04
Flavanon	Hesperidin	0,256	0,268	0,339
	Naringenin	0,145	0,165	0,168
	Hesperetin	0,199	0,251	0,223

Tablo 3.32 *P. vera* ekstrelerinde belirlenmiş hidroksibenzoik asit türevleri ve miktarları

Fenolik Bileşen	<i>P. Vera</i> Örneği Bölgesi	Gallik Asit	Benzoik Asit	Vanilik Asit	Şiringik Asit	Klorojenik Asit	4-Hidroksi benzoik Asit	Protokateşuik Asit
		<i>Pistacia vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)						
Serbest Fenolik Asitler	Antep	0,154	0,1561	-	0,0002	0,0017	-	0,0251
	Siirt	0,111	0,09	-	0,001	0,0039	-	0,01
	Urfa	0,326	0,3364	0,049	0,0062	-	-	0,2275
Baz Hidrolize Fenolik Asitler	Antep	0,02	0,019	0,018	0,0035	-	0,0128	0,0106
	Siirt	0,58	-	-	-	0,0029	-	-
	Urfa	0,015	0,0077	0,0179	0,005	-	0,0111	0,1338
Asit Hidrolize Fenolik Asitler	Antep	0,195	-	0,017	-	-	0,0101	0,1432
	Siirt	0,204	0,1244	0,0075	0,0158	-	0,068	0,22
	Urfa	0,156	0,0088	0,029	0,0141	-	0,048	0,539
Kb ₁	Antep	0,207	-	0,0005	0,0016	-	-	0,187
	Siirt	0,276	-	0,0041	0,001	0,0059	0,0654	0,147
	Urfa	0,514	-	0,0028	0,003	0,0038	0,0769	0,3943
Ka ₂	Antep	1,063	-	0,035	0,077	-	0,0257	0,038
	Siirt	0,551	-	0,027	0,0069	-	0,0289	0,2231
	Urfa	0,615	-	-	0,0025	-	0,0001	0,035
Ka ₁	Antep	6,06	0,284	0,076	0,066	0,0388	0,3338	0,238
	Siirt	6,726	-	0,0288	0,0369	-	0,1439	0,055
	Urfa	5,05	-	0,0297	-	-	0,1767	0,3132
Kb ₂	Antep	0,0034	-	0,0185	0,0045	-	0,039	0,0402
	Siirt	0,041	-	0,0133	0,0019	-	-	0,2576
	Urfa	0,031	-	0,0132	0,0042	-	0,0266	0,2402
Toplam	Antep	7,7117	0,4593	0,1665	0,0836	0,0404	0,4212	0,6833
	Siirt	8,4911	0,2165	0,1494	0,0636	0,0128	0,3072	0,7208
	Urfa	6,7185	0,3529	0,0976	0,0354	0,0038	0,3401	1,8836

Tablo 3.33 *P. vera* ekstrelerinde belirlenmiş hidroksisinnamik asit türevleri ve miktarları

Fenolik Bileşen	<i>Pistacia Vera</i> Örneği Bölgesi	Kafeik Asit	o-kumarik Asit	Sinapik Asit	Ferulik Asit	t-sinnamik Asit	p-kumarik Asit	Toplam Fenolik Miktarı
		<i>P. vera</i> Fenolik İçeriği (mg/g)						
Serbest Fenolik Asitler	Antep	0,0012	0,0317	0,0117	0,0043	0,0067	0,0008	0,393
	Siirt	-	0,0279	0,0083	0,0012	0,004	0,0003	0,2605
	Urfa	-	0,0285	-	-	0,0017	0,0011	0,9332
Baz Hidrolize Fenolik Asitler	Antep	0,0018	0,0034	0,0035	0,008	0,001	0,0033	0,106
	Siirt	-	0,0018	0,0055	-	0,0041	-	0,591
	Urfa	0,0014	0,0021	0,0034	0,0095	0,0012	0,0058	0,2145
Asit Hidrolize Fenolik Asitler	Antep	-	0,0034	-	-	0,0036	-	0,3724
	Siirt	0,0021	0,0073	-	-	0,0067	0,0062	0,7384
	Urfa	0,0034	-	0,0027	0,0033	0,0044	0,0089	0,819
Kb ₁	Antep	-	0,0115	-	0,0088	0,0013	0,0165	0,4395
	Siirt	0,0035	0,0063	0,0064	0,0087	0,0006	0,0224	0,5487
	Urfa	0,0045	-	0,010	0,015	0,0059	0,0219	1,054
Ka ₂	Antep	-	0,0034	-	0,004	0,0004	0,0027	1,1802
	Siirt	-	0,0042	0,0085	-	-	0,0036	0,6508
	Urfa	-	-	-	0,0027	0,0002	0,004	0,6597
Ka ₁	Antep	-	0,0105	0,019	0,0138	0,008	0,0068	7,163
	Siirt	-	0,013	0,0169	0,0091	0,0052	0,0063	7,041
	Urfa	-	0,067	0,0131	0,0097	0,0389	0,0045	5,711
Kb ₂	Antep	0,063	-	0,0103	-	0,0008	0,0148	0,1378
	Siirt	0,0062	-	0,0097	-	0,0018	0,0131	0,3458
	Urfa	-	-	0,0117	0,0085	0,0026	0,0151	0,3539
Toplam	Antep	0,0091	0,0639	0,0444	0,0388	0,0218	0,0448	9,799384
	Siirt	0,0119	0,0609	0,0555	0,0190	0,0193	0,0485	10,1769
	Urfa	0,0093	0,0977	0,0419	0,0494	0,0542	0,0615	9,76649

Materyal ve Metod Bölümünün 2.1. *Pistacia vera* Örneklerinin Hazırlanması başlığı altında detaylı açıklanmış yöntemlere dayalı hazırlanmış ekstrelerden flavan-3-ol metanol ekstreleri ve onların asit hidroliz örneklerinin belirlenen toplam flavan-3-ol miktarları ele alındığında, Siirt örnekleri 2,14 mg/g ile ön plana çıkarken Antep ve Urfa örnekleri benzer değerde olup 0,64 mg/g'dır. Epikateşin ağırlıklı olarak metanol örneklerinde 0,29-0,41 mg/g aralığında belirlenmiş olup, bu miktarlar asit hidroliz örneklerinde 0,03-0,07 mg/g aralığına kadar düşmüştür. Kateşin Antep metanol örnekleri haricinde Siirt ve Urfa metanol örneklerinde sırasıyla 0,71 ve 1,17 mg/g belirlenmiştir.

Flavan-3-oller ile yapılmış bir araştırmada, *P. vera* tohum ekstrelerinde epikateşine rastlanmazken, dış kabuk ekstrelerinde kateşin 50 kat daha fazla olarak sırasıyla; 0,542 mg/g ve 1,3904 mg/g bulunmuştur (Martorana ve diğer., 2013). Antep, Siirt ve Urfa örnekleri ile gerçekleştirilen araştırmamızda bulunan kateşin ve epikateşin miktarlarının tümü belirtilen çalışmadaki değerlerden daha yüksek olup bu değerler Urfa metanol örneklerinde kateşin için 5,8 kat, asit hidroliz örnekleri de dikkate alındığında toplamda 12,6 kat, epikateşin için ise sırasıyla 5,5 ve 7,1 kat daha fazladır. Toledo ve Yılmaz, (2004) üzüm çekirdekleriyle yaptıkları çalışmalarında *Vitis rotundifolia* örneklerindeki kateşin miktarını 0,12 mg/g ve epikateşin ise 0,96 mg/g olarak belirtirken *Vitis vinifera* Chardonnay ve Merlot örneklerinde sırasıyla 3,58; 1,27 mg/g ve 4,21; 1,15 mg/g olarak belirlenmiştir. Sunulan tezdeki bulgular *Vitis Rotundifolia*, *V. vinifera* Chardonnay ve *Vitis vinifera* Merlot ile kıyaslandığında Siirt asit hidroliz örneği için belirlenen kateşin miktarı sırasıyla, 79,0; 2,6 ve 7,5 kat ve ayrıca Urfa metanol örnekleri içinde belirlenen epikateşin değerleri yine sırasıyla 3,11; 2,6 ve 1,45 kat daha yüksektir.

Sunulan araştırma kapsamında, *P. vera* kabuk etanol ekstrelerindeki flavanonlardan hesperidin ve naringenin, Urfa örneğinde sırasıyla 0,339 ve 0,168 mg/g iken ise Siirt örneğinde hesperetin 0,251 mg/g ile en yüksek değerlere sahiptir. Tomaino ve diğer., (2010) araştırmalarında *P. vera* için belirlenen naringenin miktarı 0,01144 mg/g olup 14,7 kat daha düşüktür. Benvenuti ve diğer., (2004) *Citrus aurantium* L. var *amara* ile yaptıkları bir çalışmada meyvelerin yaş ve kuru örneklerindeki naringenin,

hesperidin ve hesperetin miktarları sırasıyla, 0,08; 0,84; 0,04 mg/g, ve 1,00; 7,68; 0,87 mg/g olarak belirlenmiş olup bu değerler Antep, Siirt ve Urfa *P. vera*'dan oldukça yüksektir. Özkan ve diğer. (2007) *Origanum sipyleum* L. çalışmalarındaki naringenin ve hesperidin miktarları sırasıyla 0,0495 mg/g ve 0,0671 mg/g olarak belirtilmiştir. Bu değerler, naringenin için *P. vera* Urfa örneğinden 3,4 kat, hesperidin içinse 5 kat daha düşüktür.

Antep, Siirt ve Urfa flavon ekstrelerinde belirlenen apigenin, luteolin ve eupatorinin en yüksek değerleri Antep örneğinde belirlenmiş olup bunlardan özellikle 0,0705 mg/g ile luteolin ön plana çıkmaktadır.

Martorana ve diğer. (2013)'lerinin Bronte *P. vera* çalışmalarında belirlenen Luteolin miktarı ise 0,08514 mg/g olup Antep örneğinden 1,2 kat daha yüksektir. Yine aynı çalışmada bir diğer flavon olan apigenin'e dış kabukta rastlanmazken, tohumda 0,00801 mg/g olarak belirlenmiştir. Bu değer, Antep-*P. vera*'dan 3,7 kat daha düşüktür. Valentao ve diğer. (1999)'nin luteolin ve eupatorin için belirledikleri en yüksek değerler, *Lippia citriodora*'nın Vila da Fera orijinli Eylül ayı örneklerinde sırasıyla 0,124-0,249 mg/g olarak bulunmuştur. Luteolin ve eupatorin'nin bu değerleri Antep-*P. vera* ile kıyaslandığında sırasıyla 1,75 ve 16,2 kat daha yüksektir.

Mocan ve diğer. (2015), *Veronica officinalis* L., *Veronica teucrium* L. ve *Veronica orchidea* 'nın toprak üstü kısımlarının asit hidrolize örneklerindeki luteolin ve apigenin değerleri sırasıyla; 0,089; 0,00606; 0,042 ve 0,0077; 0,0077; 0,00481 mg/g olup apigenin değerleri; Antep, Siirt ve Urfa *P. vera* örneklerinden en az 2,72 kat daha düşüktür. *V. officinalis* L. ise luteolin bakımından Antep *P. vera*'dan 1,3 kat daha fazla zengindir.

Antep, Siirt ve Urfa ekstrelerinde, flavonol bileşenlerinden izoramnetin, rutin, mirisetin, kersetin ve kemferol belirlenmiştir. Bunlardan izoramnetin hariç diğer bileşiklerin en yüksek değerleri Siirt örneğinde bulunmakta olup bunu Urfa ve Antep izlemektedir. Belirlenen flavonol bileşenleri arasında kersetin, baskın olmakla birlikte en fazla 2,99 mg/g ile Siirt örneğindedir.

Martorana ve diğer., (2013) İtalyan Bronte *P. vera* ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, tohum örnekleri için kersetin ve kemferol belirlenemezken dış kabukta sırasıyla 0,07115 ve 0,00604 mg/g olarak bulunmuştur. Gerçekleştirilen bu çalışmada Tablo3.31' den görüldüğü gibi Türkiye Siirt örneğinde sırasıyla 2,99 ve 0,65 mg/g olup 47,2 ve 107,6 kat daha yüksektir. Olszewska (2008) *Sorbus* genuslarıyla gerçekleştirdiği çalışmasında kersetin, kemferol ve izoramnetin miktarlarını sırasıyla *Sorbus aria* çiçeğinde; 2,916; 0,437 ve 0,0204 mg/g, meyvelerinde; 0,094; 0,024 ve 0,085 mg/g, *Sorbus intermedia* çiçeğinde; 10,534; 0,293 ve 3,148 mg/g, meyvelerinde; 0,325; 0,024 ve 0,095 mg/g olarak bulunurken *Sorbus aucuparia* örneklerinde izoramnetine rastlanmayıp kersetin ve kemferol miktarları sırasıyla çiçeğinde; 11,107 ve 0,752 mg/g meyvelerinde; 0,538 ve 0,064 mg/g olarak belirlemiştir. Gerçekleştirilen çalışmamızda kersetin miktarının en yüksek olduğu Siirt örneği (2,99 mg/g) tüm *Sorbus* meyve örneklerinden en az 5,6 kat yüksek iken çiçek örneklerinde yalnızca *Sorbus aria* ile benzer iken diğer genus çiçek örneklerinden düşüktür. Kemferol en fazla 0,65 mg/g ile Siirt örneğinde bulunurken, bu değer tüm *Sorbus* meyve örneklerinden en az 10 kat, *Sorbus aria* çiçek örneğinden 1,5 kat, *S. intermedia* çiçek örneğinden ise 2,2 kat yüksek olup *S. aucuparia* çiçek örneğinden ise 1,15 kat daha düşüktür. İzoramnetin ise en fazla Urfa örneğinde 0,07 mg/g olarak bulunmuş olup, bulunmadığı *S. aucuparia* hariç diğer tüm *Sorbus* çiçek örneklerinden en az 45 kat, meyve örneklerinden ise en az 1,2 kat daha düşüktür.

Araştırmamızda en yüksek kersetin miktarı Siirt örneğinde bulunmuş olup, Häkkinen ve diğer., (1999)'lerinin, *Vaccinium uliginosum*, *Vaccinium oxycoccos*, *Hippophae rhamnoides*, *Empetrum hermaphroditum*, *Empetrum nigrum*, *Ribes nigrum* Öjebyn, *Ribes nigrum* Vertti, *Vaccinium myrtillus*, *Ribes uva-crispa*, *Fragaria×ananassa* Senga Sengana ile yaptıkları çalışmalarıyla kıyaslandığında sırasıyla 19 ile 427 kat aralığında daha fazla bulunmuştur. *P. vera*'daki mirisetin miktarı en yüksek 0,94 mg/g olarak Siirt örneğinde bulunmuş olup bu değer, *R. nigrum* Öjebyn, *E. nigrum*, *V. uliginosum*'dan sırasıyla 13,2; 19; 36 kat daha fazladır.

P. vera'nın Antep, Siirt ve Urfa yörelerine ait belirlenen fenolik asit ekstratlarında Tablo 3.32 ve -33'de de görüldüğü gibi gallik asit ön plana çıkmaktadır. Belirlenen

toplam fenolik asit içeriğinin % 70'inden fazlasını gallik asit oluşturmaktadır. Miktar olarak ise başta Siirt yöresi örneği olmak üzere Ka₁ grubunun örneklerinde 5,05-6,72 mg/g aralığında belirlenmiştir. 6,06 mg/g gallik asit içeriğiyle Antep Ka₁ örnekleri, toplam fenolik asit bileşen miktarı bakımından tüm fenolik asit örnekleri arasında toplam 7,16 mg/g ile en yüksek değerdedir. Protokateşuik asit belirlenen toplam miktarlar açısından gallik asitten sonra gelmektedir. En yüksek Urfa AHPA örneklerinde 0,539 mg/g'dır. Tablo 3.32'den görüldüğü gibi fenolik asitlerden vanilik, şirincik, klorojenik, 4-hidroksi-benzoik ve sinapik asidin en yüksek değerleri sırasıyla Antep örneklerinin Ka₁ ekstrelerinde 0,076; 0,066; 0,0388; 0,0038 ve 0,019 mg/g olarak belirlenmiştir. Yine Urfa Ka₁ ekstresinde ise o-kumarik ve t-sinamik asidin en yüksek düzeyleri sırasıyla 0,067 ve 0,0389 mg/g olarak bulunmuştur. Ferulik ve p-kumarik asit ise Urfa ve Siirt Kb₁ ekstrelerinde sırasıyla 0,0224 ve 0,015 mg/g olarak ön plana çıkmaktadır. Kafeik asidin en yüksek değerleri *P.vera*'nın Antep ve Siirt Kb₂ örneklerinde benzer olup 0,063 mg/g'dır. Belirlenen fenolik asitlerden benzoik asit ise 0,3364 mg/g ile Urfa SFA ekstrelerinde en yüksek düzeyde belirlenmiştir. Tablo 3.32 ve -33 'de belirtilen fenolik asitler, toplam miktar olarak değerlendirildiğinde sırasıyla gallik asit, protokateşuik asit ve 4-hidroksi-benzoik asit $\approx$ benzoik asit ilk 3 sırayı oluşturmaktadır.

Martorana ve diğer. (2013) çalışmalarında *P. vera* tohum ve dış kabuk örneklerindeki gallik asit miktarı sırasıyla 0,113 ve 5,703 mg/g olarak belirtilmiştir. Kabuk için belirlenmiş değer Siirt için total gallik asit miktarlarına kıyasla 1,48 kat daha düşüktür. Dvorackova, Snoblova ve Hrdlicka, (2014) gerçekleştirdikleri çalışmalarında *Thymus vulgaris* L. (thyme), *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary), *Thymus serpyllum* L. (wild thyme), *Melissa officinalis* Linnaeu (lemon balm), *Salvia officinalis* L. (sage), *Lavandula angustifolia* Mill. (lavender), *Allium ursinum* L. 1753 (wild garlic), *Cinnamomum cassia* (cinnamon) türlerinde bazı fenolik asitlerin miktarlarını incelemişlerdir. Belirlenmiş en yüksek değerler *P. vera* örneklerimizdeki sonuçlar ile kıyaslandığında; *T. vulgaris* L.'de kafeik asit 10,78 kat, *L. angustifolia* Mill.'de p-kumarik, ferulik, sinapik ve sinamik asit düzeyleri sırasıyla 6,75; 10,96; 42,37 ve 2,27 kat daha yüksek iken *T. serpyllum* L.'de gallik asit, *C. cassia*'de protokateşuik asit, *L. angustifolia* Mill.'de vanilik asit ve *R. officinalis* L.'de 4-

hidroksi-benzoik ve şirincik asit düzeyleri sırasıyla 1698; 34,24; 50,45 ve 127,6; 1,25 kat daha düşük bulunmuştur. Tezde belirlenmiş Siirt Ka₁ gallik asit miktarı Toledo ve Yılmaz, (2004)'ın *V. Rotundifolia*, *V. vinifera* Chardonnay ve Merlot tohum örneklerindeki gallik asit miktarlarından sırasıyla 6,8; 44,8 ve 67,2 kat daha fazladır.

Mocan ve diğer. (2015) *Veronica officinalis* L. *Veronica teucrium* L. ve *Veronica orchidea* türlerinde yaptıkları çalışmalarında belirlenen yüksek sonuçlarla kıyaslandığında *P.vera* Siirt örneğinde sinapik asit Urfa örneğinde ise p-kumarik asit sırasıyla 1,68 ve 1,32 kat daha yüksek iken yine Urfa örneğinde ferulik asit düzeyi 8,7 kat düşük bulunmuştur.

3.2 *Pistacia vera* Ekstraktlarının Antioksidan Kapasiteleri

Bitkilerin gerek sağlık ve gerekse gıda sektöründe potansiyel kaynak niteliğini belirleme açısından antioksidan özellikleri büyük önem arz etmektedir. Hücrede radikal düzeyleri ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulduğu yani oksidatif stresin baskın olduğu koşullarda gıdalara antioksidan takviyesi hücre içi hasarı önlemede önemli rol oynar. Bu nedenle; Türkiye’de mevcut olan bitki türlerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve verilere bağlı olarak biyoekonomik açıdan değerlendirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Bu amaçla, tez kapsamında Antep, Siirt ve Urfa bölgelerinden temin edilen *P. vera* meyve kabuklarından “2.2 Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve HPLC Analizleri” kısmında belirtilen prosedürler izlenerek elde edilen katı kristaller ile hazırlanan çözeltilerinde -DPPH radikal sönümle aktivitesi, -Hidroksil radikal sönümleme kapasitesi, -Metal şelatlama kapasitesi ve -İndirgenme gücü aktivite testleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 DPPH Sönümleme Kapasitesi

2,2'-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ile radikal sönümleme aktivite tayini, işlem kolaylığı nedeniyle bitki veya gıda kaynaklarından elde edilen ekstraktların serbest radikal sönümleme aktivitelerinin değerlendirilmesinde araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (Lo Scalzo, 2008).

Yapısında azot radikalini bulunduran ve uzun ömürlü olan DPPH'nin stabil forma geçiş amacıyla bir hidrojen radikalini aldığı belirtilmektedir. Ancak Foti ve diğer. (2004) fenolik bileşenlerle gerçekleştirdikleri araştırma sonuçlarına göre tepkimenin; fenoksit anyonlarından DPPH'a hızlı bir elektron transferiyle gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir. Antioksidanlar tarafından gerçekleştirilen transfer reaksiyonu DPPH'nin 517 nm'deki absorbansında azalmalara neden olur. IC₅₀, DPPH radikalinin % 50 inhibisyonu için gerekli olan minimum ekstre miktarıdır.

P. vera kabuk ekstrelerinin DPPH sönümleme kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla değişen miktarlarda gerçekleştirilen seri ölçümler sonucunda belirlenen en iyi ilk üç IC₅₀ değerlerinin sıralaması Ka₁ ekstresi Siirt, Urfa ve Antep örnekleri için 2,08; 2,37 ve 2,82 ppm'dir (Tablo 3.36). Antep flavan-3-ol ekstrelerinin asit hidroliz örneğinin IC₅₀ değeri (2,86 ppm) Antep Ka₁ ekstresi değerine oldukça yakındır.

Atmani ve diğer. (2009) *P. lentiscus*, *Fraxinus rhyncophylla*'nın yaprak *Fraxinus angustifolia*'nın kabuk örneklerinin sulu ekstraktlarında DPPH, IC₅₀ değerleri sırasıyla 4,42; 75 ve 10 ppm olarak belirlenmiştir.

Antep, Siirt ve Urfa fenolik asitlerinin Ka₁ ekstrelerinin DPPH sönümleme kapasiteleri IC₅₀ değerinin 10,2 ppm olduğu Kirman bölgesi *P. vera* L. kabuklarının su-metanol ekstrelerine kıyasla daha yüksektir (Dahooee ve diğer., 2016).

Tablo 3.34 *Pistacia vera* fenoliklerinin antioksidan özellikleri

Fenolik Bileşen	<i>P. Vera</i> Örneği Bölgesi	DPPH Sönümleme Kapasitesi	HO ⁻ Sönümleme Kapasitesi	Metal Şelatlama Kapasitesi	İndirgeme Gücü
		IC ₅₀ Değerleri (ppm)			EqVitC.
Flavonol	Antep	33,93	32,83	453,64	18,72
	Siirt	21,02	12,24	-	23,67
	Urfa	17,04	15,27	-	31,14
Flavan-3-ol Metanol	Antep	21,94	13,30	16,338,00	15,85
	Siirt	24,95	6,11	1111,28	16,08
	Urfa	21,95	11,96	2021,20	23,44
Flavan-3-ol Asit Hidroliz	Antep	2,86	16,33	-	103,90
	Siirt	5,81	12,44	-	77,23
Flavanon Etanol	Antep	32,93	12,15	-	22,40
	Siirt	23,71	19,59	2085,21	21,94
	Urfa	14,27	7,83	38964	32,29
Fenolik Asitler	Siirt AHFA	14,04	7,43	-	54,59
	Antep Ka ₁	2,82	36,67	-	149,53
	Siirt Ka ₁	2,08	27,11	-	126,89
	Urfa Ka ₁	2,37	30,50	-	148,38
	Antep Kb1	12,27	6,59	-	55,05
	Urfa Kb1	8,96	8,10	-	69,53
3/2 Metanol	Antep	21,96	27,48	777,8	21,71
	Siirt	23,58	28,89	487,51	20,22
	Urfa	15,57	4,93	777,74	26,31
7/3 Etil Asetat/Su Su Fazı	Antep	49,88	16,66	522,27	22,52
	Urfa	47,99	9,96	1232,38	9,41
7/3 Etil Asetat/Su E.A. Fazı	Antep	5,41	7,69	-	93,90
	Siirt	15,07	17,53	-	75,74

Başka bir araştırmada metanol ile ekstrakte edilen *Myrtus communis*, *P. lentiscus*, *Globularia alypum*, *Eryngium maritimum*, *Marrubium vulgare* yaprak örnekleri için sırasıyla IC₅₀ değerleri 3; 8; 31; 43 ve 83 ppm, *Eryngium maritimum* kök örnekleri için 87 ppm, *Globularia alypum* çiçek örnekleri için 4 ppm olarak bulunmuştur (Amessis-Ouchemoukh ve diğer., 2014). Bu değerlerde Antep, Siirt ve Urfa örnekleriyle kıyaslandığında DPPH sönmleme etkililiği daha düşüktür. Türkiye kaynaklı diğer bir çalışmada da *Teucrium sandrasicum* yaprak ve çiçek örneklerinin etil asetat, su ve metanol-su ekstrelerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 8,93; 35,12 ve 5,85 ppm ve 62; 9,01 ve 160,2 ppm olarak belirlenmiştir (Tarhan ve diğer., 2015).

Veriler değerlendirildiğinde Antep, Siirt ve Urfa bölgelerine ait *P. vera* fenolik asit Ka₁ ve flavan-3-ol asit hidrolize örneklerinin DPPH sönmleme kapasiteleri dikkat çekici özelliktedir.

3.2.2 OH[•] Radikal Sönmleme Kapasitesi

Biyolojik olarak aşırı reaktif bir oksijen türü olan hidroksil radikali, gerek gıdaların depolanma sürecinde gerekse hücre içinde doymamış yağ asitleri, proteinler, karbohidratlar ve DNA gibi biyolojik substratlarla 1 ns'den kısa sürede hızla reaksiyona girip yapısal bozunmalara neden olur (Halliwell, Gutteridge ve Cross, 1992).

Biyolojik bir kaynaktaki OH[•] radikal sönmlemesi; demir-EDTA kompleksinin, askorbik asit varlığında H₂O₂ ile reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikallerinin, sıcak ortam ve düşük pH'ta tiyobarbitürik asit varlığında deoksiriboza hücumuyla pembe kromojen ürünler oluşturur. Reaksiyon ortamına ilave edilen biyolojik ekstrelerdeki bazı bileşenlerin oluşan hidroksil radikallerini sönmlemesi sonucu, deoksiriboz ile gerçekleşen reaksiyonun hızı dolayısıyla kromojen oluşumunun azalmasıyla biyolojik ekstrenin hidroksil radikali sönmleme kapasitesi belirlenebilir (Halliwell, Gutteridge ve Aruomo, 1987).

P. vera kabuk ekstrakterinin OH⁻ sönümleme kapasitelerinin en yüksek olduğu üç örnek Urfa metanol-su, Siirt flavan-3-ol-metanol ve Antep Kb₁ olup IC₅₀ değeri sırasıyla 4,93; 6,11 ve 6,59 ppm olarak belirlenmiştir (Tablo 3.34).

Ayar-Kayali ve diğer. (2009) *Sideritis leptoclada*, ve *Mentha x dumetorum* ile hidroksil radikal sönümleme kapasitesi belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmalarında IC₅₀ değerlerini sırasıyla 2,2 ve 21 ppm olarak belirlemişlerdir. Bu değerlere göre Urfa metanol-su ekstraktının aktivitesi *S. leptoclada*'dan 2,25 kat düşük iken, *Mentha x dumetorum*'dan 4,25 kat daha yüksektir. *P. Lentiscus* ile yapılan başka bir çalışmada etil asetat, metanol-su, kloroform ve sulu ekstraktı IC₅₀ değerleri sırasıyla 160, 310, 520 ve 340 ppm olarak belirtilmiştir (Saliha ve diğer., 2013). Başka bir çalışmada ise *S. sipylea* ve *Origanum sipyleum* için sırasıyla metanol ve aseton ekstereleri IC₅₀ değerleri 1,1 ve 3,6 ppm olarak bulunmuştur (Nakiboglu ve diğer., 2007).

3.2.3 Metal Şelatlama Kapasitesi

Metal şelatlama kapasitesi, demirle ilişkili komplikasyonları azaltan ve böylece yaşam kalitesini ve genel sağ kalımı artıran önemli bir antioksidan parametredir. Demir, bakır, kadmiyum, civa, nikel, kurşun ve arsenik gibi metaller, reaktif radikaller üretme özellikleri nedeniyle insan ve hayvanlarda nörotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisite ile sonuçlanan enzim deaktivasyonlarına, DNA ve hücre membran hasarlarına neden olurlar. Bu reaktif metallerle üretilen radikaller; oksijen, karbon, sülfür ve azot radikallerinin geniş bir sprektrumunun yanı sıra amino asitler, peptidler ve proteinlerle de toksik metal şelatlarını da oluştururlar (Flora, Metha ve Mittal, 2008). Tüm bu özellikler nedeniyle tüketilen bitkisel ekstrakterin metal şelatlama kapasiteleri önemlidir.

P. vera kabuk ekstrakterinin metal şelatlama kapasiteleri değerlendirildiğinde flavan-3-ol asit hidrolize ve fenolik asit örnekleri için anlamlı değerlere ulaşılmazken en iyi değer Antep flavan-3-ol, Siirt-metanol/su ve Antep-Su olup IC₅₀ değeri sırasıyla 0,453; 0,487 ve 0,522 mg/ml olarak belirlenmiştir (Tablo 3.34).

Dahooee ve diğeri., (2016) *P. vera L.*'nin su-metanol örnekleriyle yaptıkları çalışmada *Pistachio* kabuk ve tane örnekleri için IC₅₀ değerlerini sırasıyla 0,46 ve 0,87 mg/mL olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada, metanol ile ekstrakte edilen *Myrtus communis*, *Eryngium maritimum*, *Marrubium vulgare* yaprak ve *Eryngium maritimum* kök örnekleri için sırasıyla IC₅₀ değeri 1,24; 1,17; 1,41 ve 0,43 mg/mL olarak belirtilmiştir (Amessis-Ouchemoukh ve diğeri., 2014).

3.2.4 İndirgeme Gücü

İndirgeme özelliği, indirgeyici maddelerin mevcudiyeti ile ilişkilidir. İndirgeyici maddelerin antioksidan etkisi, bir hidrojen atomunun transferi ile serbest radikal zincirinin kırılmasına dayanır. İndirgeyiciler ayrıca peroksitin belirli öncülleri ile reaksiyona girerek peroksit oluşumunu önlerler (Loganayaki, Siddhuraju ve Manian, 2013). Lipid peroksidasyon sürecinde oluşan oksitlenmiş ara ürünlerine karşı bir bileşiğin indirgeme gücü, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli göstergesidir.

P. vera kabuk ekstraktlarında indirgeme gücü potansiyeli, 5-100 ppm aralığında çizilen vitamin C kalibrasyon eğrisi değerlerinden yararlanılarak belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre en iyi sonuçlar birbirine yakın olmakla birlikte fenolik asit Antep, Siirt ve Urfa'nın asit hidrolize örneklerinde sırasıyla 149,53; 126,89 ve 148,38 ppm-Vit-C_{Eq} olarak belirlenmiştir (Tablo 3.34). Bu örneklerin indirgeme gücü Vitamin C'den % 26-50 aralığında daha yüksektir.

3.3 *Pistacia vera* Ekstrelerinin HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 Kanser Hücre Hatlarına Antiproliferatif Etkileri

Yapılan bu çalışmada Antep, Siirt ve Urfa bölgelerinden temin edilen *P. vera* örneklerinden; flavonol, flavanon, flavan-3-ol, flavonon, flavon, fenolik asit ekstraktlarının 1x10⁴ başlangıç hücre sayılı HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 kanser hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri MTT (Metiltiazol difenil tetrazolyum) yöntemiyle belirlenmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, flavonoidlerin diyet alımının meme, kolon, akciğer, prostat ve pankreas tümörlerinin riskini azaltabileceğini

düşündürmektedir. Bitkilerin fenolik içeriklerinin antikanserojen etkileri; alt gruplarına ve bu gruplardaki bileşenlerin dağılımına ve hatta bitki kaynağının popülasyonuna bağımlı olarak değişebilmektedir. Antikanser etkilerinin genellenebilirliği, belirli flavonoid alt sınıflara ve popülasyon alt gruplarına özgü olması nedeniyle ekstrelerde bulunan fenolik bileşenlerin 2'li, 3'lü ve hatta çoklu oranlarına dayalı olarakta arttığı (Allred ve diğer., 2004; Rossi ve diğer.,2010) ve bazen de etkinin (Boehm ve diğer., 2009) azaldığı ve hatta ortadan kalktığı görülebilmektedir.

Antep, Siirt ve Urfa bölgelerinden sağlanmış *P. vera* dış kabuk örneklerinden elde edilen Şekil 3.1a ve 3.1b ile Tablo 3.31; .32 ve. 33'de tanımlanmış olan ekstreler, HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 hücre hatlarının bulunduğu kuyucuklara 25; 50 ve 75 ppm olarak basılmıştır. Mikroplate okuyucusundan elde edilen sonuçların kontrolleriyle kıyaslanmasıyla Tablo 3.35 ve 3.36'da görülen IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Tabloda 200 ppm ve üzeri olan değerler dikkate alınmamış ve (-) ile sembolize edilmiştir.

Tablo 3.35 Flavonoid alt grup ekstralarının IC₅₀ değeri

Fenolik Bileşen	<i>P. Vera</i> Örneği Bölgesi	HeLa		MCF-7		OE-33		ACC-201	
		IC ₅₀ (ppm)	Saat	IC ₅₀ (ppm)	Saat	IC ₅₀ (ppm)	Saat	IC ₅₀ (ppm)	Saat
Flavon	Antep	75	48	75	48	125	24	-	-
	Siirt	-	-	-	-	-	-	-	-
	Urfa	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavan-3-ol Metanol Örnekleri	Antep	-	-	85	24	-	-	-	-
	Siirt	-	-	93	24	-	-	-	-
	Urfa	-	-	60	24	-	-	-	-
Flavan-3-ol Asit Hidroliz Örnekleri	Antep	-	-	100	24	100	24	-	-
	Siirt	-	-	40	24	75	48	-	-
	Urfa	-	-	82	24	120	24	-	-
Flavanon	Antep	25	24	75	24	-	-	-	-
	Siirt	80	24	75	24	-	-	-	-
	Urfa	115	24	130	24	-	-	-	-
Flavonol	Antep	-	-	-	-	-	-	170	24
	Siirt	-	-	90	24	-	-	35	48
	Urfa	-	-	75	24	105	24	-	-
Flavonol Nötr	Antep	-	-	50	24	-	-	-	-
	Siirt	180	48	35	24	115	48	-	-
	Urfa	-	-	80	24	-	-	-	-
Flavan-3-ol Nötr	Antep	90	24	30	24	105	24	-	-
	Siirt	-	-	50	24	130	24	-	-
	Urfa	-	-	-	-	-	-	-	-
3/2 Metanol/Su	Antep	165	48	90	24	145	-	-	-
	Siirt	180	48	170	24	-	-	35	48
	Urfa	180	48	90	24	-	-	-	-
7/3 Etil Asetat/Su E.A. fazı	Antep	110	48	105	24	120	48	-	-
	Siirt	90	48	120	24	85	48	-	-
	Urfa	185	48	160	48	90	24	-	-
7/3 Etil Asetat/Su Su fazı	Antep	-	-	-	-	-	-	-	-
	Siirt	-	-	-	-	-	-	-	-
	Urfa	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 3.36 Fenolik asit ekstralarının IC₅₀ değerleri

Fenolik Bileşen	<i>P. Vera</i> Örneği Bölgesi	HeLa		MCF-7		OE-33		ACC-201	
		IC ₅₀ (ppm)	Saat	IC ₅₀ (ppm)	Saat	IC ₅₀ (ppm)	Saat	IC ₅₀ (ppm)	Saat
Serbest Fenolik Asitler	Antep	40	24	-	-	-	-	-	-
	Siirt	75	48	-	-	-	-	-	-
	Urfa	28	24	-	-	84	48	-	-
Baz Hidrolize Fenolik Asitler	Antep	-	-	60	48	-	-	70	24
	Siirt	180	48	90	48	150	24	-	-
	Urfa	150	48	80	48	120	48	-	-
Asit Hidrolize Fenolik Asitler	Antep	100	48	75	24	140	48	-	-
	Siirt	-	-	-	-	90	24	-	-
	Urfa	-	-	-	-	100	48	-	-
Kb ₁	Antep	160	24	75	24	-	-	-	-
	Siirt	30	24	-	-	-	-	-	-
	Urfa	26	24	-	-	58	48	-	-
Ka ₂	Antep	-	-	70	24	65	48	-	-
	Siirt	160	24	-	-	-	-	-	-
	Urfa	120	24	25	24	80	48	-	-
Ka ₁	Antep	-	-	-	-	45	24	30	24
	Siirt	-	-	-	-	40	24	28	24
	Urfa	-	-	75	24	45	24	80	24
Kb ₂	Antep	175	24	50	24	100	24	-	-
	Siirt	-	-	75	24	-	-	-	-
	Urfa	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 3.35 ve 3.36’de belirtilen fenolik bileşenlerin HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 hücre hatlarında belirlenen IC₅₀ değerleri görülmektedir. Sonuçların değerlendirilmesinde 75 ppm ve altındaki değerler etkililik sıralamasına göre ele alınmıştır. Tablolardaki verilerden görüldüğü gibi incelenen tüm hücre hatlarında fenolik asitlerin ekstreleri daha yaygın bir etkililiğe sahiptir.

HeLa hücre hattında; ön plana çıkan 7 ekstrenin 5’i fenolik asitlere aittir. Tablo 3.36’da görüldüğü gibi bu hücre hattı uygulamasında belirlenen IC₅₀ değerleri inkübasyonun 24. saati için; Urfa-Kb₁; Urfa-SFA; Siirt-Kb₁; Antep-SFA ve 48. saati için de Siirt-SFA olacak şekilde sırasıyla; 26; 28; 30; 40 ve 75 ppm olarak belirlenmiştir. Serbest fenolik asit ekstrelerinde ön plana çıkan; gallik, benzoik, prokateşuik asitlerin dışında belirlenen toplam fenolik asit miktarlarının IC₅₀ değerleri de Urfa-Antep-Siirt sıralamasıyla uyumludur. Benzer durum Kb₁ ekstresinde; gallik, prokateşuik ve p-kumarik asit dışında yine Urfa-Siirt-Antep sıralamasını yansıtmaktadır.

Flavonoid alt gruplarının yer aldığı Tablo 3.35’de görüldüğü gibi HeLa hücre hattında ön plana çıkan Antep-flavanon ekstresinin IC₅₀ değeri 24. saatte 25 ppm iken Antep-flavon ekstresi için 48. saatte 75 ppm’dir. Flavanon ekstresinde ön plana çıkan bileşenler ise hesperedin, hesperetin ve naringenin’dir.

HeLa hücre hattında 24. saat için en iyi IC₅₀ değerleri; flavonoid alt grubunda Antep-flavanon ekstresi, fenolik asit alt grubunda ise Urfa-SFA ve -Kb₁ ekstrelerinde sırasıyla 25; 28 ve 26 ppm’dir.

Utami ve diğer. (2013); başlangıç hücre sayısının 5×10^3 olduğu HeLa hücre hatlarında, 72 saat süresince *Elaeocarpus floribundus* yaprak ile kök kabuğu örneklerinin etil asetat ve metanol ekstreleriyle yapmış oldukları sitotoksosite çalışmalarında IC₅₀ değerlerini sırasıyla 60,4 ve 50,5 ppm ile 60,4 ve 48,9 ppm olarak belirlemiştir.

Diğer bir çalışmada *Psidium guajava* L. yaprakları sulu ekstraktlarının 72 saat süresince 3×10^4 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hatlarına uygulanması sonucunda IC_{50} değeri 51 ppm olarak tespit edilmiştir (Fathilah ve diğer., 2010).

Berrington ve Lall, 2012; *Lavandula spica*, *Origanum vulgare*, *Laurus nobilis*, *Foeniculum vulgare* ve *Rosmarinus officinalis* (Tuscan Blue) bitkilerinin aseton ekstraktlarının 1×10^5 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hatlarında 72 saat inkübasyon ile IC_{50} değerlerini 129,7 ve 23,31 ppm olarak belirlemişlerdir.

Rocha-Guzmán ve diğer. (2009); Taze ve olgun *Quercus resinosa* yapraklarının 5×10^3 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hattında 48 saat inkübasyonu sonrası IC_{50} değeri sırasıyla 67,65 ve 78,9 ppm olarak belirtilmektedir.

Ormenis eriolepis Coss. dış kısımları ile *Inula viscosa* (L.) Ait. ve *Retama monosperma* (L.) Bois. yaprakları metanol ekstraktlarının 1×10^5 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hattında 48 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değeri sırasıyla 60; 112; 90 ppm'dir (Merghoub ve diğer., 2009).

Ulva fasciata etanol, metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının 2×10^4 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hattında 48 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değeri sırasıyla 34,9; 32,2; 95,1 ve 25,6 ppm'dir (Marraskuranto ve diğer., 2008).

Theobroma cacao yaprak, anız, cherelle ve kabuk örnekleri metanol ekstraktlarının 1×10^5 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hattı için 72 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değerleri sırası ile 430,7; 372,7; 67,8; 688,7 ppm'dir (Baharum ve diğer., 2014).

Melastoma malabathricu yaprakları kloroform ve metanol ekstraktlarının HeLa hücre hattındaki IC_{50} değerleri sırası ile 96 ve 88 ppm olarak belirlenmiştir (Zakaria ve diğer., 2011).

Alhagi maurorum otları % 70 metanol ekstraktlarının 5×10^4 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hatındaki 72 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değeri 16,8 ppm'dir (Rashed ve Barreto, 2017).

Arcangelisia flava yaprak 1×10^6 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hatlarında sırasıyla 48 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değerleri 467 ppm'dir (Puspitasari ve diğer., 2015).

Teucrium sandrasicum yaprak ve çiçek kısımlarının etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının 1×10^4 başlangıç hücre sayılı HeLa hücre hattında 48 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değerleri yaprak için değer belirlenemeyen su ekstraktları hariç sırasıyla 35 ve 50 iken çiçek için 50; 20; 50 ppm'dir (Tarhan ve diğer., 2016).

MCF-7 hücre hattında ise 24. saatteki IC_{50} değerleri; Urfa-Ka₂, Antep-Kb₂, Antep-Ka₂, için sırasıyla 25; 50; 70 ppm iken; Antep-AHFA, Antep-Kb₁, Urfa- Ka₁ ve Siirt-Kb₂ için 75 ppm'dir. Antep-BHFA ekstresi için 60 ppm olan IC_{50} değeri ise inkübasyonun 48. saatinde belirlenmiştir. IC_{50} değerlerinin belirlendiği ekstre örnekleri için belirlenen fenolik asit bileşen profiline dayalı bir ilişkilendirme yapılamamakta olup daha fazla veriye ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Diğer flavonoid alt gruplarının yer aldığı Tablo 3.35'de görüldüğü gibi MCF-7 hücre hattı için uygulanan Urfa-flavan-3-ol ekstresi için IC_{50} değeri 60 ppm iken Antep ve Siirt örneklerine ait nötralize flavan-3-ol asit hidroliz ekstraktlarında da bu değerler inkübasyonun 24. saatinde sırasıyla 30 ve 50 ppm'dir. Bir diğer flavonoid alt grubu olarak: Antep-flavanon, Siirt-flavanon, Urfa-flavonol ekstraktlarının tümünün 24. saat IC_{50} değerleri 75 ppm iken Antep-flavon ekstresi uygulandığında 48. saat için 60 ppm bulunmuştur. Bu değerler, Siirt ve Antep nötralize flavonol ekstraktları için sırasıyla 35 ve 50 ppm olarak bulunmuştur. MCF-7 hücre hattında etkililik dağılımı ağırlıklı olarak flavonoid alt grup ekstraktlarında olup IC_{50} değerleri 75 ppm civarında bulunmuştur. Flavonoid alt gruplarından flavan-3-ol asit hidroliz örneği ile flavonol nötralize örneklerindeki IC_{50} değerleri her iki grupta belirlenmiş bileşenlerin en yüksek olduğu Siirt bölgesi için sırasıyla 40 ve 35 ppm'dir. Etkiliği belirlenen

bileşiklerin tümü için miktar sıralamasına göre; kersetin, kateşin, mirisetin, kemferol, rutin ve epikateşin ön plana çıkmaktadır (Tablo 3.31).

Elde edilen bulgulara göre; OE-33 hücre hattı için efektif olan ekstrelerde fenolik bileşenlerden özellikle gallik, 4-hidroksi-benzoik, prokateşuik ve benzoik asitler, ACC-201 hücre hattı için ise OE-33 için belirtilen bileşenlerin dışında; kateşin, kersetin, mirisetin, kemferol, rutin bileşenleri ön plana çıkanlar olarak tanımlanabilir.

Literatür araştırmasına göre Tarhan ve diğerleri (2016), tarafından *Teucrium sandasicum* yaprak ve çiçek kısımlarının etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının 1×10^4 başlangıç hücre sayılı MCF-7 hücre hattında 48 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değerleri yaprak için etkinin gözlenmediği su ekstraktları hariç sırasıyla 20; 35 ppm iken çiçekde 50; 20; 20 ppm'dir.

Alhagi maurorum bitkisinin % 70 metanol ekstraktlarının 5×10^4 başlangıç hücre sayılı MCF-7 hücre hattında 72 saat inkübasyonu sonrasında 50 ppm ile IC_{50} değerine ulaşılmıştır (Rashed ve Barreto, 2017).

Arcangelisia flava yaprak 1×10^6 başlangıç hücre sayılı MCF-7 hücre hattındaki 24 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değeri 136 ppm'dir (Puspitasari ve diğer., 2015).

Theobroma cacao yaprak, anız, cherelle ve kabuk örnekleri metanol ekstraktlarının 1×10^5 başlangıç hücre sayılı MCF-7 hücre hattındaki 72 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değerleri sırasıyla 41,4; 62,2; 68,9; 72 ppm'dir (Baharum ve diğer., 2014).

Zakaria ve diğer. (2011) *Melastoma malabathricu* yaprakları metanol ekstraktlarının MCF-7 hücre hattındaki IC_{50} değerini 87 ppm olarak belirlemiştir.

P. vera kabuklarının hekzan ve etil asetat ekstreleri 5×10^4 başlangıç hücre sayılı MCF-7 hücre hattının belirlenen IC_{50} değeri 72 saat inkübasyonu sonrası sırasıyla 44,88 ve 21,20 ppm'dir (Seifaddinipour ve diğer., 2018).

P. vera kabuk ve tohum örneklerinin 1×10^4 başlangıç hücre sayılı MCF-7 hücre hattında 24 saat inkübasyonu sonrası belirlenen IC_{50} değerini de sırasıyla 31,2 ve 43,4 ppm'dir (Dahooee ve diğer., 2016).

Tablo 3.36'da görüldüğü gibi OE-33 ve ACC-201 hücre hatları için Siirt ve Antep örneklerinin Ka_1 ekstrelerinin inkübasyonun 24. saatinde belirlenen IC_{50} değerleri sırasıyla: 40; 45 ve 28; 30 ppm olarak bulunmuştur. Bunun dışında OE-33 hücre hattının IC_{50} değerleri 24. saat Urfa- Ka_1 ve 48. saat Urfa- Kb_1 ile Antep- Ka_2 için sırasıyla 45 ve 58 ile 65 ppm dir. Ayrıca Antep-BHFA ekstresi ACC-201 hücre hattında inkübasyonun 24. saatinde 70 ppm ile etkililik göstermiştir. OE-33 hücre hattında yukarıda belirtilen tüm ekstrelerde bulunmakla birlikte gallik asit in Ka_1 ekstrelerinin ön plana çıktığı görülmektedir. ACC-201 hücre hattı için en iyi sonuçları yine Ka_1 ekstrelerinde gözlemlenmiştir.

Flavonid alt grupları için OE-33 hücre hattında genel olarak belirlenen IC_{50} değeri 100 ppm civarında olup, en iyi sonuç Siirt-flavon-3-ol asit hidroliz ekstresinin 48. saat uygulamasında 75 ppm olarak bulunmuştur. ACC-201 hücre hattında ise genel olarak etki 200 ppm civarında olup en iyi sonuçlar inkübasyonun 48. saatinde kersetin, mirisetin, kemferol ve rutin değerlerinin en yüksek olduğu Siirt örneğinin flavonol ekstresi ile metanol/su (3/2) ekstrelerinin her ikisinde 35 ppm olarak belirlenmiştir.

Fenolik asit bileşenleri yaygın olarak HeLa, OE-33 ve ACC-201 hücre hatlarında etkin iken diğer flavanoid alt grupları özellikle MCF-7 hücre hattında yaygın etki göstermiştir.

Son yıllarda fenolik bileşenlerin anti kanserojen özelliklerine yönelik yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Sakaguchi ve diğer., 1998; Reddivari ve diğer., 2010). *P. vera*'nın fenolik asit ekstrelerinin HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 kanser hücre

hatlarında yaygın gözlenen antikanserojen etkileri, ilgili ekstrelerde ön plana çıkmış fenolik bileşenler açısından da değerlendirilmiştir. Ancak bu bileşenlerin tekli bazen de çoklu sinerjetik etkilerinin hücre ölüm mekanizmasının yönlendirilmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Yukarıda her bir hücre hattı için efektif ekstrelerde ön plana çıkmış olan bileşenler belirtilmiştir. Bu bileşiklerin anti-kanserojen etkilerine yönelik yapılmış literatür taramaları aşağıda ele alınmıştır.

P.vera'nın fenolik asit ekstrelerinde 6,73-5,06 mg/g arasında seyreden gallik asit dikkati çekmektedir. Literatür verilerine göre kanser hücrelerinde gallik asit kaynaklı apoptosizde: kaspaz bağımlı ve bağımsız yollarla (Sakaguchi ve diğer., 1998; Raina ve diğer., 2008; Ji ve diğer., 2009; Reddivari ve diğer., 2010), antiapoptozisle ilişkili proteinlerin ve Akt/mTOR yolunun down regülasyonu (Faried ve diğer., 2007); ribonükleotid redüktazın (RR) inhibe edilmesi (Madlener ve diğer., 2007); p53 ve Fas/FasL'nin uyarılması (Hsu ve diğer., 2007; Chuang ve diğer., 2010) gibi çeşitli mekanizmalar ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.

Normal hücelere sitotoksik etki göstermeyen gallik asit (3,4,5-triphydroxylbenzoic acid), akciğer kanseri (You ve diğer., 2011; You ve Park, 2010), lösemi (Inoue ve diğer., 2000), prostat kanseri (Agarwal, Tyagi ve Agarwal, 2006), mide, kolon, meme, servikal ve özofagus (Faried ve diğer., 2007; You ve diğer., 2010) gibi çeşitli kanser hücrelerinin büyümesini inhibe etmektedir. Gallik asit, hücrede oksidatif stres ve/veya hücre içi Ca^{2+} seviyelerini artırarak apoptozisi tetikleyebilir (You ve diğer., 2011; You ve Park, 2010; Inoue ve diğer., 2000; Serrano ve diğer., 1998).

Chen ve diğerleri, (2009) gallik asitin prostat kanser hücrelerinde mitokondriyal hasar yoluyla apoptozisi indüklediğini bildirmiştir. Gallik asit, HeLa hücrelerinin büyümesini de önemli ölçüde inhibe etmektedir. Gallik asit kaynaklı HeLa hücre ölümü, GSH tükenmesi ile koreledir. HeLa hücrelerinin ölümünde, ROS özellikle de $O_2^{\cdot -}$ seviyesinde gallik asit kaynaklı artışlar etkindir.

İnsan prostat kanser hücrelerinde gallik asidin PARP, kaspaz-9 ve ardından kaspaz-3'ü aktive etmesiyle apoptozisin tetiklendiği bildirilmiştir (Chen ve

diğer.,2009). Bu durum proapoptotik Bax ekspresyonunda artışa ve anti-apoptotik Bcl-xL ekspresyonunda ise azalmayla desteklenmektedir. Ayrıca, gallik asit G2/M fazındaki hücreleri durdurarak, G2/M geçişi için gerekli olan siklin B1, Cdc2 ve Cdc25C'nin ekspresyonu ile kanser hücresinin proliferasyonunu bloke ettiği gözlemlenmiştir (Motwani ve diğer., 2003; Caldon ve diğer., 2006).

Gallik asit, serbest radikal sönmleme özelliğiyle lösemi ve akciğer kanser hücrelerinin farklılaşmasıyla apoptozis indüklenmesi ve dolayısıyla tümör anjiyogeniz ve metastaz gelişiminin baskılanması gerçekleşir (You ve Park, 2010; You ve diğer., 2011). Gallik asit bu özelliğiyle serviks kanser hücrelerinin migrasyon ve invazyonunu kısıtlamaktadır. Bu durum, hücre proliferasyonunda ve invazyonunda kilit rol oynayan PI3K/AKT ve MAPK/ERK sinyal yollarında fosforilasyonun azalmasıyla, serviks kanseri hücrelerinde etkin ADAM17 ve EGFR baskılanması ve dolayısıyla EGFR/PI3K/AKT ve EGFR/MAPK/ERK yollarının inhibisyonu sonucu hücre invazyonunun baskılanması gerçekleşmiş olur (Zhao ve Hu, 2013).

Gallik asitce zengin olan *Phyllanthus emblica* ekstreleri, A549 (akciğer), HepG2 (karaciğer), HeLa (servikal), MDA-MB-231 (meme), SK-OV3 (hücre) ve SW620 (kolorektal) kanser hücre hatlarında hücre proliferasyonunu önemli ölçüde baskılamıştır. HeLa hücrelerinde apoptoz, *Phyllanthus emblica* ekstraktının DNA fragmentasyonuna ve kaspaz-3/7 ve kaspaz-8'in aktivitesini arttırdığı, ancak kaspaz-9'un artmadığı ve ölüm reseptörünün aracılık ettiği bir apoptozis mekanizmasını belirten Fas up regülasyonunun arttığı gözlemlendi (Ngamkitidechakul ve diğer., 2010). HeLa hücrelerinde, *Phyllanthus emblica* ekstraktı hücrede kaspaz-9'un dışında DNA fragmentasyonunun, kaspaz-3/7 ve kaspaz-8'in ve ayrıca Fas proteininin aktivasyonu ile apoptozis tetiklenir.

Bir başka araştırmaya göre gallik asit doza bağımlı olarak HPVep hücrelerinin proliferasyonu, apoptozis yönünde gerçekleşen artışla azalmıştır. Benzer sonuçlar HeLa hücrelerinde de gözlemlenmiştir (Shi ve diğer., 2016).

P. vera ekstrelerinin HeLa, MCF-7, OE-33 ve ACC-201 hücre hatlarında proliferasyonu azaltma özelliğinde genel olarak ön plana çıkmış bileşenlerden biri olan galik asitten kaynaklanabilir. Literatüre göre yukarıda da belirtildiği gibi galik asit kökenli bir apoptozisin oluşumunda, kaspaz bağımlı ve bağımsız yollarla, antiapoptozisle ilişkili proteinlerin ve Akt/mTOR yolunun down regülasyonu, ribonükleotid redüktazın inhibe edilmesi veya p53 ve Fas/FasL'nin uyarılmasında yalnızca galik asidin veya paralelinde mevcut farklı birkaç bileşenin de sinerjetik etkisinin rol oynayabileceği belirtilebilir (Sakaguchi ve diğer., 1998; Raina ve diğer., 2008; Ji ve diğer., 2009; Reddivari ve diğer., 2010; Faried ve diğer., 2007; Madlener ve diğer., 2007; Hsu ve diğer., 2007; Chuang ve diğer., 2010).

Meyve ve sebzelerde bulunan kersetinin (3,3',4',5,7-pentahidroksflavon), hücre çoğalması ve apoptozis ile bağlantılı sinyal iletim yollarını modüle ettiği bildirilmiştir (Murakami ve diğer., 2008).

Çeşitli kanser hücre hatlarında kersetin kaynaklı G1/S veya G2/M fazındaki hücre döngüsü durması belirlenmiştir (Ranelletti ve diğer., 1992; Yoshida ve diğer., 1992; Avila ve diğer., 1994; Yang ve diğer., 2006).

Araştırmalar kersetinin, p53-p21'e bağlı mekanizmayla mitokondriyal apoptozisi ve hücre döngüsünün G2/M fazında tutulmasının doza bağlı artışıyla HeLa hücrelerinin canlılığının baskılandığını göstermektedir. Ayrıca HeLa hücrelerinin yanı sıra, glioma, karaciğer, akciğer, prostat ve kolon kanseri hücre hatlarında apoptotik süreç, Bcl-2 ve/veya kaspaz mekanizmalarına bağımlı olarak gerçekleşmektedir. (Kim ve diğer., 2008; Tanigawa ve diğer., 2008; Lee ve diğer., 2008; Kim ve diğer., 2005).

Vidya ve diğer., (2010) araştırmalarına göre kersetin HeLa hücrelerinde anti kanser etki için iki karşıt sinyal ağını (p53 ve NF-κB) hedef aldığını belirlerken Dey ve diğer., (2008) aynı anda bu sinyal ağlarını hedef alan ajanların, kanser terapötikleri olarak etkili olduğunu göstermiştir. Bu özelliğinden dolayı kersetin antikanser ilaç tasarımı için klasik bir adaydır.

Rodgers ve Grant, (1998) MCF-7 hücre hattıyla yaptıkları araştırmada kersetinin hücre proteinini azaltırken, protein, DNA ve RNA sentezini büyük ölçüde inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

Mirisetin'in memeli DNA polimeraz, topoizomerez ve insan kanser hücresi proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkisi bulunmaktadır (Shiomi ve diğer., 2013). Mirisetin ayrıca, apoptozisin indüklenmesi ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) sinyal yolunun inhibisyonu yoluyla pankreas kanseri hücre ölümüne neden olur (Phillips ve diğer., 2011).

Kim ve diğer., (2014) araştırmalarında insan kolon kanseri hücrelerinde DNA yoğunlaşmasına ve sitotoksitenin doza bağımlı olarak arttığını bulmuşlardır. Ek olarak, mirisetin apoptoz-indükleyici faktörün mitokondriden salınımını uyardı. Bu sonuçlar, mirisetin'in HCT-15 insan kolon kanseri hücrelerinin apoptozisini indüklediğini ve insan kolon kanseri için terapötik ajanların geliştirilmesinde faydalı olabileceğini göstermektedir.

Mirisetin ayrıca, HCT-15 insan kolon kanseri hücrelerinde BAK ekspresyonu ve BAX/BCL2 oranını arttırır. Bu oranın artmasıyla kaspaz kaskadı aktivasyonu apoptozis prosesinin indüklenmesinde önemli rol oynar.

Kemferol, PI3K/AKT ve hTERT yollarıyla hücresel apoptozis ve yaşlanmayı indükler. Bazı epidemiyolojik çalışmalar, kemferolün kolon, pankreas, yumurtalık, HeLa, böbrek, akciğer, prostat ve özofagus kanser hücre hatları üzerindeki potansiyel antikanser etkilerini belirlerken ,yeni yapılan çalışmalarla çeşitli insan hücre hatlarında hücre döngüsünün durmasına neden olduğu bildirilmiştir (Chen ve Chen, 2013; Kim ve Choi, 2001; Choi ve Ahn, 200; Nguyen ve diğer., 2003).

Yapılan son araştırmalarda kemferolün, kolon kanser hücrelerinin TRAIL indüklü apoptozise duyarlılık kazandırdığı (Yoshida ve diğer., 2008), böbrek hücre karsinomasının ise EGFR/p38 sinyal yoluyla hücre döngüsünde durma ve apoptozisin indüklendiği (Song ve diğer., 2014) belirtilmiştir.

Kashafi ve diğer., (2017) yaptıkları araştırmada HeLa serviks hücre hattında kemferol tarafından apoptozisin p53, p21, kaspaz 3, kaspaz 9, Bax ve PTEN gibi pro-apoptotik genlerin artan regülasyonu ve PI3K, AKT ve Bcl-2 gibi anti-apoptotik genlerin azalan regülasyonu ile etkin şekilde indüklendiğini belirtmişlerdir. Bu veriler kemferolle tedavi edilen hücrelerde Bax/Bcl-2 oranının önemli ölçüde arttığının bunun da kemferolün hücre ölümüne aracılık etmek için mitokondriyal fonksiyonu modüle ettiğini göstermektedir. Ayrıca telomeraz geninin ekspresyonunu da azaltarak hücre yaşlanmayı indüklemektedir.

Sınırlı araştırmaların bulunduğu kersetin için HeLa hücrelerinde p53-p21'e bağlı mekanizmalarla mitokondriyal apoptozis ve hücre döngüsünün G2/M fazında tutulmasıyla, karaciğer ve akciğer hücrelerinde Bcl-2 ve kaspaz mekanizmalarıyla apoptozisin tetiklenmesi ön plana çıkmaktadır. Mirisetin içinse memeli DNA polimeraz, topoizomeraz inhibitör etkisinin yanı sıra kolon kanserlerinde artan BAK ekspresyonunun artışı apoptozisin tetiklenme yolları olarak belirtilmiştir. Bir diğer flavanol bileşeni olan kemferol ise yaygın olarak PI3K/AKT ve hTERT yollarıyla ve ayrıca TRAIL indüksiyonun yanı sıra EGFR/p38 sinyal yollarıyla da apoptozisin aktive edildiği belirlenmiştir. Bulgular *Pistacia vera* flavanol grubu ekstresinin etkili olduğu hücre hatları MCF-7 ve ACC-201'de kersetin, mirisetin ve kemferolün apoptotik etkide rol oynayabileceğini göstermektedir.

Hesperidin, HeLa hücrelerinin çoğalmasını konsantrasyona ve zamana bağlı bir şekilde inhibe etmektedir. HeLa hücrelerinde hesperidin kaynaklı apoptoz, artmış nükleer yoğunlaşma ve DNA fragmentasyonu ile karakterize edilmiştir (Wang ve diğer., 2015). Ayrıca, artan GADD153/CHOP ve GRP78 seviyeleri, HeLa hücrelerinde hesperidin ile indüklenen apoptozis olduğunu, muhtemelen endoplazmik retikulum stres yoluyla yönünde kaspaz bağımlı bir yolu içerdiğini göstermiştir.

Diyetsel hesperidin, sıçan modellerinde idrar kesesi, kolon, akciğer ve memede karsinogenezi inhibe eder (Yang ve diğer., 1997; Selvaraj, Jayabal ve Namasivayam, 2009; Sattu ve diğer., 2009; Sattu ve diğer., 2010; Ye ve diğer., 2012). Ek olarak, in vitro ve in vivo çalışmalar, hesperidin kolon (Zheng ve diğer., 2002; Park ve diğer.,

2008), pankreas (Patil ve diğer., 2009), hepatoselüler (Lee ve diğer., 2010), meme (Choong ve diğer., 2010), prostat (Choong ve diğer., 2010) ve lösemi (Ghorbani ve diğer., 2012) gibi çeşitli malign insan kanserlerine karşı sitotoksik bir madde olarak potansiyelini göstermiştir. Hesperidinin artan çekirdek kondenzasyonu ve DNA fragmentasyonunu içeren bir dizi mekanizma yoluyla apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Zheng ve diğer., 2002).

Wang ve diğer. (2012) araştırmalarında, hesperidinin HeLa ve HT-29 hücreleri hücre hatlarındaki uygulamalarında, hücre proliferasyonunun konsantrasyona ve zamana bağlı bir inhibisyonunu bildirmişlerdir. Bu inhibisyonun, hesperidinin mitokondri aracılı endoplazmik retikulum stres yolu ve hücre döngüsü durması aracılığıyla olduğunu gözlemlemişlerdir.

Yang ve diğer. (2012) araştırmalarında; hesperetin'in ligand-reseptör etkileşimlerini engellediğini, dönüştürücü büyüme faktörü-b (TGF-b) sinyal yolunun yanı sıra, TGF-b yolunun bir hedefi olan Smad3'ün fosforilasyonunu da inhibe ettiğini belirlemiştir. Ek olarak hesperetin'in, TGF-b1'in reseptör T β R1'sine bağlanma olasılığını azalttığını, bunun sonucunda reseptör dimerizasyonunu ve aktivasyonunu azalttığını ve TGF-b1'in neden olduğu kanser hücresi migrasyon ve invazyonunun da engellendiği bildirilmiştir.

Totta ve diğer. (2004) araştırmalarında; yalnızca ERa veya ERb varlığında anti-proliferatif etki gösteren naringenin'nin stimülasyonunun, düşünülen tüm kanser hücre hatlarında pro-apoptotik kaspaz-3 aktivasyonuna ve poli (ADP-riboz) polimeraz bölünmesine yol açan p38/MAPK aktivasyonunu indüklediğini bildirmişlerdir. Özellikle, naringenin yalnızca ERa içeren hücrelerde anti-östrojenik etki gösterirken, ERb içeren hücrelerde, Nar 17b-estradiol etkilerini taklit etmektedir.

Yapısında luteolin, protokateşik ve klorojenik asit içeren *Lonicera japonica* sulu ekstraktında, HepG2 hücrelerinin ölümünün JNK'ya bağımlı gerçekleştiği, ancak protokateşik asit miktarının sitotoksik etkiye katkıda bulunmak için tek başına yetersiz olduğunu, etkinin kooperatif bir etki olduğunu gösterdi. Sonuçlar protokateşik asitin

JNK'ya bağlı hepatoselüler karsinom hücre ölümünü indükleyebilen doğal bir bileşik olduğunu göstermektedir. Protokateşik asit ayrıca, kısmen sindirim organlarında kanserojenlerin indüklediği hücre çoğalmasının inhibe edilmesi yoluyla, antitümör özelliklerine sahip etkili bir kemopreventif ajan olarak kabul edilmiştir (Tanaka ve diğer., 1995).

P. vera dış kabuk flavanon ekstresi fenolik bileşiklerinden hesperidinin mitokondri ve endoplazmik retikulum aracılı oksidatif stres yoluyla hücre döngüsünü durdurması apoptozise neden olmaktadır. Hesperetin'de ise apoptozis yollarında ligand/reseptör etkileşiminin ön plana çıktığı, büyüme faktörü-b sinyal yolunun bloke edildiği, naringenin ise kaspaz aktivasyonu ve p38/MAPK aktivasyonu ile hücre ölümünü tetiklediği görölmektedir. Yapısında luteolin, protokateşik ve klorojenik asitler için sitotoksik etkilerinin sinerjik etkileşime dayandığı yapılan son araştırmalarda ortaya konmaktadır.

Tez kapsamında *P. vera* dış kabuk ekstraktlarının yapısında belirlenmiş olan fenolik bileşenlerle HeLa, MCF-7, OE-33 ve MCF-7 kanser hücre hatlarında anti-apoptotik etkileri arasında literatüre dayalı bir ilişkilendirme hedeflenmiştir. Burada özellikle gallik asit, kersetin, kateşin ve mirisetin etkililik olarak öne çıkmaktadır. Sonuçlar yeni araştırmalara zemin hazırlayıcı nitelikte olup ve fenolik bileşenlerin tekli-çoklu apoptotik etkilerinin değerlendirilmesi apoptotik yolda etkin bazı parametrelerin ele alınması gerekmektedir. Elde edilen sonuçlar *P. vera* dış kabuklarının bazı fenolik bileşenler aēından dikkat çekici özellik taşıdığı, antioksidan kapasitesinin olumlu düzeyde bulunan bitkiler grubuna girdiği, dolayısıyla gıda ve yem sanayinde kullanılabilirliğinin incelenmesi için daha ileri araştırmalara gerek olduğu belirtilebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Agarwal, C., Tyagi, A., ve Agarwal, R. (2006). Gallic acid causes inactivating phosphorylation of cdc25A/cdc25C-cdc2 via ATM-Chk2 activation, leading to cell cycle arrest, and induces apoptosis in human prostate carcinoma DU145 cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5 (12), 3294-3302.
- Ahmad, N., Gupta, S., ve Mukhtar, H. (2000). Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates nuclear factor κ B in cancer cells versus normal cells. *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, 376 (2), 338-346.
- Akiyama, T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S. I., Itoh, N., ve Fukami, Y. (1987). Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *Journal Of Biological Chemistry*, 262 (12), 5592-5595.
- Alderton, W. K., Cooper, C. E., ve Knowles, R. G. (2001). Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical Journal*, 357 (3), 593-615.
- Alma, M. H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F. T., ve Yilmaz, N. (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 52 (12), 3911-3914.
- Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L., Serralheiro, M. L., ve Araújo, M. E. M. (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops And Products*, 53, 6-15.
- Androutsopoulos, V., Arroo, R. R., Hall, J. F., Surichan, S., ve Potter, G. A. (2008). Antiproliferative and cytostatic effects of the natural product eupatorin on MDA-MB-468 human breast cancer cells due to CYP1-mediated metabolism. *Breast Cancer Research*, 10 (3), R39.

- Angst, E., Park, J. L., Moro, A., Lu, Q. Y., Lu, X., Eibl, G., ve diğer. (2013). The flavonoid quercetin inhibits pancreatic cancer growth in vitro and in vivo. *Pancreas*, 42 (2), 223.
- Aranganathan, S., Selvam, J. P., ve Nalini, N. (2009). Hesperetin exerts dose dependent chemopreventive effect against 1, 2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, 27 (3), 203-213.
- Archer, S. (1993). Measurement of nitric oxide in biological models. *The FASEB Journal*, 7 (2), 349-360.
- Ashkenazi, A., ve Dixit, V. M. (1998). Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 281 (5381), 1305-1308.
- Atmani, D., Chafer, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., ve Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112 (2), 303-309.
- Auger, C., Al-Awwadi, N., Bornet, A., Rouanet, J. M., Gasc, F., Teissedre, P. L., ve diğer. (2004). Catechins and procyanidins in Mediterranean diets. *Food Research International*, 37 (3), 233-245.
- Avila, M. A., Velasco, J. A., Cansado, J., ve Notario, V. (1994). Quercetin mediates the down-regulation of mutant p53 in the human breast cancer cell line MDA-MB468. *Cancer Research*, 54 (9), 2424-2428.
- Aviles, A., Arevila, N., Diaz Maqueo J. C., Gomez, T., Garcia, R. ve Nambo, M. J. (1993). Late Cardiac Toxicity of Doxorubicin, Epirubicin, and Mitoxantrone Therapy for Hodgkin's Disease in Adults. *Leuk Lymphoma*, 11 (3-4), 275-279.
- Ayar-Kayali, H., Urek, R. O., Nakiboglu, M., ve Tarhan, L. (2009). Antioxidant activities of endemic sideritis leptoclada and mentha dumetorum aqueous extracts

- used in turkey folk medicine. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 33 (3), 285-295.
- Babu, T. D., Kuttan, G., ve Padikkala, J. (1995). Cytotoxic and anti-tumour properties of certain taxa of Umbelliferae with special reference to *Centella asiatica* (L.) Urban. *Journal Of Ethnopharmacology*, 48 (1), 53-57.
- Bagchi, D., Sen, C. K., Ray, S. D., Das, D. K., Bagchi, M., Preuss, H. G., ve Vinson, J. A. (2003). Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, 523, 87-97.
- Baharum, Z., Akim, A., Taufiq-Yap, Y., Hamid, R., ve Kasran, R. (2014). In vitro antioxidant and antiproliferative activities of methanolic plant part extracts of *Theobroma cacao*. *Molecules*, 19 (11), 18317-18331.
- Bais, H. P., Vepachedu, R., Gilroy, S., Callaway, R. M., ve Vivanco, J. M. (2003). Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science*, 301 (5638), 1377-1380.
- Balandrin, M. J. ve Klocke, J. A. (1988). Medicinal, aromatic and industrial materials from plants. In Y.P.J. Bajaj, (Ed.). *Biotechnology In Agriculture And Forestry Medicinal And Aromatic Plant*, 4. Berlin: Springer-Verlag.
- Ballistreri, G., Arena, E., ve Fallico, B. (2009). Influence of Ripeness and Drying Process on the Polyphenols and Tocopherols of *Pistacia vera* L. *Molecules*, 14 (11), 4358-4369.
- Balunas, J. M. ve Kinghorn, D. A. (2005) Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78, 431-441.

- Barondeau, D. P., Kassmann, C. J., Bruns, C. K., Tainer, J. A., ve Getzoff, E. D. (2004). Nickel superoxide dismutase structure and mechanism. *Biochemistry*, 43 (25), 8038-8047.
- Bashir, K., Nagasaka, S., Itai, R. N., Kobayashi, T., Takahashi, M., Nakanishi, H., ve Nishizawa, N. K. (2007). Expression and enzyme activity of glutathione reductase is upregulated by Fe-deficiency in graminaceous plants. *Plant Molecular Biology*, 65 (3), 277-284.
- Bauer, M. K., Vogt, M., Los, M., Siegel, J., Wesselborg, S., ve Schulze-Osthoff, K. (1998). Role of reactive oxygen intermediates in activation-induced CD95 (APO-1/Fas) ligand expression. *Journal Of Biological Chemistry*, 273 (14), 8048-8055.
- Beecher, G. R. (2004). Proanthocyanidins: biological activities associated with human health. *Pharmaceutical Biology*, 42, 2-20.
- Behrend, L., Henderson, G., ve Zwacka, R. M. (2003). Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans*, 31 (6), 1441-1444.
- Bentley, R. (2010). *Medicinal plants*. London: Domville-Fife Press
- Berg J. M., Tymoczko J. L., Stryer L. (2002). *Biochemistry*, 5th ed.. New York: Freeman WH and Co.
- Bergendi, L., Beneš, L., Ďuračková, Z., ve Ferenčík, M. (1999). Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sciences*, 65 (18-19), 1865-1874.
- Berrington, D., ve Lall, N. (2012). Anticancer activity of certain herbs and spices on the cervical epithelial carcinoma (HeLa) cell line. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2012, 11.

- Blouin, E., Halbwachs-Mecarelli, L., ve Rieu, P. (1999). Redox regulation of β 2-integrin CD11b/CD18 activation. *European Journal Of Immunology*, 29 (11), 3419-3431.
- Bors, W., Michel, C., ve Stettmaier, K. (2000). Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 374 (2), 347-355.
- Bors, W.; Michel, C. 2002. Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols. *Annals of the New York Academy Of Sciences*, 957, 57–69.
- Borska, S., Chmielewska, M., Wysocka, T., Drag-Zalesinska, M., Zabel, M., ve Dziegiel, P. (2012). In vitro effect of quercetin on human gastric carcinoma: targeting cancer cells death and MDR. *Food And Chemical Toxicology*, 50 (9), 3375-3383.
- Brevoort, P. (1998). The blooming U.S. botanical market: a new overview. *Herbalgram*, 44, 33–46.
- Burcham, P. C. (1998). Genotoxic lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis*, 13 (3), 287-305
- Burdon, R. H., Gill, V., ve Alliangana, D. (1996). Hydrogen peroxide in relation to proliferation and apoptosis in BHK-21 hamster fibroblasts. *Free Radical Research*, 24 (2), 81-93.
- Burton, G. W., ve Ingold, K. U. (1989). Vitamin E as an in Vitro and in Vivo Antioxidanta. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 570 (1), 7-22.
- Cadenas, E., ve Sies, H. (1998). The lag phase. *Free Radical Research*, 28 (6), 601-609.

- Cai, Y., Mei, S., Jie, X., Luo, Q., Corke, H. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Science*, 78, 2872–2888.
- Caldon, C. E., Daly, R. J., Sutherland, R. L., ve Musgrove, E. A. (2006). Cell cycle control in breast cancer cells. *Journal Of Cellular Biochemistry*, 97 (2), 261-274.
- Cameron, E., ve Pauling, L. (1976). Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 73(10), 3685-3689.
- Cao, G., Sofic, E., ve Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22 (5), 749-760.
- Cardone, M. H., Roy, N., Stennicke, H. R., Salvesen, G. S., Franke, T. F., Stanbridge, E., ve Reed, J. C. (1998). Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation. *Science*, 282 (5392), 1318-1321.
- Carr, A. C., McCall, M. R., ve Frei, B. (2000). Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology*, 20 (7), 1716-1723.
- Carr, A., ve Frei, B. (1999). Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions?. *The FASEB Journal*, 13 (9), 1007-1024.
- Carter, P. (1971). Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Analytical Biochemistry*, 40 (2), 450-458.

- Ceneviva, G. D., Tzeng, E., Hoyt, D. G., Yee, E., Gallagher, A., Engelhardt, J. F., ve Pitt, B. R. (1998). Nitric oxide inhibits lipopolysaccharide-induced apoptosis in pulmonary artery endothelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 275 (4), L717-L728.
- Chan, S. T., Yang, N. C., Huang, C. S., Liao, J. W., ve Yeh, S. L. (2013). Quercetin enhances the antitumor activity of trichostatin A through upregulation of p53 protein expression in vitro and in vivo. *PLoS One*, 8 (1), e54255.
- Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J., ve Yong, J. (1990). Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 9 (1), 19-21.
- Chen Z.P., Schell J.B., Ho C.T., Chen K.Y., Green tea epigallocatechin gallate shows a pronounced growth inhibitory effect on cancerous cells but not on their normal counterparts. *Cancer Letters*, 129 (1998) 173–179.
- Chen, A. Y., ve Chen, Y. C. (2013). A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food chemistry*, 138 (4), 2099-2107.
- Chen, C., Yu, R., Owuor, E. D., ve Kong, A. N. T. (2000). Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death. *Archives Of Pharmacal Research*, 23 (6), 605.
- Chen, H. M., Wu, Y. C., Chia, Y. C., Chang, F. R., Hsu, H. K., Hsieh, Y. C., ve Yuan, S. S. (2009). Gallic acid, a major component of *Toona sinensis* leaf extracts, contains a ROS-mediated anti-cancer activity in human prostate cancer cells. *Cancer Letters*, 286 (2), 161-171.
- Chen, L., Yang, X., Jiao, H., ve Zhao, B. (2002). Tea catechins protect against lead-induced cytotoxicity, lipid peroxidation, and membrane fluidity in HepG2 cells. *Toxicological sciences*, 69 (1), 149-156.

- Chiba, T., Takahashi, S., Sato, N., Ishii, S., ve Kikuchi, K. (1996). Fas-mediated apoptosis is modulated by intracellular glutathione in human T cells. *European Journal Of Immunology*, 26 (5), 1164-1169.
- Chirumbolo, S., Marzotto, M., Conforti, A., Vella, A., Ortolani, R., Bellavite, P., et al. (2010). Bimodal action of the flavonoid quercetin on basophil function: an investigation of the putative biochemical targets. *Clinical and Molecular Allergy*, 8 (1), 13.
- Chiueh, C. C. (1999). Neuroprotective properties of nitric oxide. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 890 (1), 301-311.
- Choi, E. J., ve Ahn, W. S. (2008). Kaempferol induced the apoptosis via cell cycle arrest in human breast cancer MDA-MB-453 cells. *Nutrition Research And Practice*, 2 (4), 322-325.
- Chuang, C. Y., Liu, H. C., Wu, L. C., Chen, C. Y., Chang, J. T., ve Hsu, S. L. (2010). Gallic acid induces apoptosis of lung fibroblasts via a reactive oxygen species-dependent ataxia telangiectasia mutated-p53 activation pathway. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 58 (5), 2943-2951.
- Chung, J. Y., Huang, C., Meng, X., Dong, Z., ve Yang, C. S. (1999). Inhibition of activator protein 1 activity and cell growth by purified green tea and black tea polyphenols in H-ras-transformed cells: structure-activity relationship and mechanisms involved. *Cancer Research*, 59 (18), 4610-4617.
- Chung, J. Y., Park, J. O., Phyu, H., Dong, Z., ve Yang, C. S. (2001). Mechanisms of inhibition of the Ras-MAP kinase signaling pathway in 30.7 b Ras 12 cells by tea polyphenols (–)-epigallocatechin-3-gallate and theaflavin-3,3'-digallate. *The FASEB Journal*, 15 (11), 2022-2024.

- Clifford, M. N. (1986). Phenol–protein interactions and their possible significance for astringency. In G.G. Birch ve M.G. Lindley (Eds), *Interaction of Food Components* (143–164). London: Elsevier Applied Science.
- Clifford, M. N., ve Scalbert, A. (2000). Ellagitannins-occurrence in food, bioavailability and cancer prevention. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1118–1125.
- Cole, I. B., Saxena, P. K. ve Murch, S. J. (2007). Medicinal biotechnology in the genus *scutellaria*. *In Vitro Cell Dev Plant*, 43, 27-318.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., ve Berghe, D. V. (1998). Structure–activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal Of Natural Products*, 61 (1), 71-76.
- Cos, P., Bruyne, T. D., Hermans, N., Apers, S., Berghe, D. V., ve Vlietinck, A. J. (2004). Proanthocyanidins in health care: current and new trends. *Current Medicinal Chemistry*, 11 (10), 1345-1359.
- Cossarizza, A., Franceschi, C., Monti, D., Salvioli, S., Bellesia, E., Rivabene, R., ve Malorni, W. (1995). Protective effect of N-acetylcysteine in tumor necrosis factor- α -induced apoptosis in U937 cells: the role of mitochondria. *Experimental Cell Research*, 220 (1), 232-240..
- Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1 (6), 569-590.
- Cragg, G. M., Newmann, D. J., ve Snader, K. M. (1997). Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*, 60, 52–60.

- Creissen, G. P., Broadbent, P., Kular, B., Reynolds, H., Wellburn, A. R., ve Mullineaux, P. M. (1994). Manipulation of glutathione reductase in transgenic plants: implications for plants' responses to environmental stress. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences*, 102, 167-175.
- Crozier, A., Clifford, M. N., ve Ashihara, H. (2006). *Plant secondary metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Oxford: Blackwell-Publishers
- Crozier, A., Lean, M. E., McDonald, M. S., ve Black, C. (1997). Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (3), 590-595.
- Cui, S., Reichner, J. S., Mateo, R. B., ve Albina, J. E. (1994). Activated murine macrophages induce apoptosis in tumor cells through nitric oxide-dependent or-independent mechanisms. *Cancer Research*, 54 (9), 2462-2467.
- Cuzzocrea, S., Thiernemann, C., ve Salvemini, D. (2004). Potential therapeutic effect of antioxidant therapy in shock and inflammation. *Current Medicinal Chemistry*, 11 (9), 1147-1162.
- Dahooee, F., Fatemi, S. J., Mandegary, A., ve Sharififar, F. (2016). Iron Chelating and Antioxidant Activities and Cytotoxicity Effect of the Pistachio (*Pistachio vera* L.) hull and kernel Extracts in the A549, HT29 and MCF-7 Cancerous Cell lines. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 5 (1), 195-201.
- Dalton, T. P., Shertzer, H. G., ve Puga, A. (1999). Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annual Review Of Pharmacology And Toxicology*, 39 (1), 67-101.
- de Haan, J. B., Bladier, C., Griffiths, P., Kelner, M., O'Shea, R. D., Cheung, N. S., ve Beart, P. M. (1998). Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-

- inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *Journal of Biological Chemistry*, 273 (35), 22528-22536.
- De Leo, M., Braca, A., Sanogo, R., Cardile, V., DeTommasi, N., ve Russo, A. (2006). Antiproliferative activity of *Pteleopsis suberosa* leaf extract and its flavonoid components in human prostate carcinoma cells. *Planta Medica*, 72 (07), 604-610
- De Villiers, A., Lynen, F., Crouch, A., ve Sandra, P. (2004). Development of a solid-phase extraction procedure for the simultaneous determination of polyphenols, organic acids and sugars in wine. *Chromatographia*, 59 (7-8), 403-409.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M. E., Brighenti, F., ve Crozier, A. (2004). HPLC-MSⁿ analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (10), 2807-2815.
- Delneste, Y., Jeannin, P., Seville, E., Aubry, J. P., ve Bonnefoy, J. Y. (1996). Thiols prevent Fas (CD95)-mediated T cell apoptosis by down-regulating membrane Fas expression. *European Journal of Immunology*, 26 (12), 2981-2988.
- derMarderosian A. ve Beutler J. A. (2010). *The Review of Natural Products* (6th ed.). Missouri: Wolters Kluwer Health
- Desai, A. G., Qazi, G. N., Ganju, R. K., El-Tamer, M., Singh, J., Saxena, A. K., ve Bhat, H. K. (2008). Medicinal plants and cancer chemoprevention. *Current Drug Metabolism*, 9 (7), 581-591.
- Desideri, A., ve Falconi, M. (2003). Prokaryotic Cu, Zn superoxide dismutases. *Biochem Soc Trans*, 31 (6), 1322-1325.

- Dey, A., Tergaonkar, V., ve Lane, D. P. (2008). Double-edged swords as cancer therapeutics: simultaneously targeting p53 and NF- κ B pathways. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7 (12), 1031
- Di Majo, D., Giammanco, M., La Guardia, M., Tripoli, E., Giammanco, S., ve Finotti, E. (2005). Flavanones in Citrus fruit: Structure–antioxidant activity relationships. *Food Research International*, 38 (10), 1161-1166.
- Ding, S., Lu, Q., Zhang, Y., Yang, Z., Wen, X., Zhang, L., ve Lu, C. (2009). Enhanced sensitivity to oxidative stress in transgenic tobacco plants with decreased glutathione reductase activity leads to a decrease in ascorbate pool and ascorbate redox state. *Plant Molecular Biology*, 69 (5), 577.
- Dolečková, I., Rárová, L., Grúz, J., Vondrusová, M., Strnad, M., ve Kryštof, V. (2012). Antiproliferative and antiangiogenic effects of flavone eupatorin, an active constituent of chloroform extract of *Orthosiphon stamineus* leaves. *Fitoterapia*, 83 (6), 1000-1007.
- Dreher, D., ve Junod, A. F. (1996). Role of oxygen free radicals in cancer development. *European Journal of Cancer*, 32 (1), 30-38.
- Durmaz, G., ve Gökmen, V. (2011). Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of *Pistacia terebinthus* oil with roasting. *Food Chemistry*, 128 (2), 410-414.
- Duthie, S. J., Collins, A. R., Duthie, G. G., ve Dobson, V. L. (1997). Quercetin and myricetin protect against hydrogen peroxide-induced DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 393 (3), 223-231.
- Dvorackova, E., Snoblova, M., ve Hrdlicka, P. (2014). Content of phenolic compounds in herbs used in the Czech Republic. *International Food Research Journal*, 21 (4).

- Dziedzic, S. Z., ve Hudson, B. J. (1983). Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*, 12 (3), 205-212.
- Edwards, E. A., Rawsthorne, S., ve Mullineaux, P. M. (1990). Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Planta*, 180 (2), 278-284.
- El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., ve Young, A. J. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 430 (1), 37-48.
- Elattar, T. M., ve Virji, A. S. (2000). Effect of tea polyphenols on growth of oral squamous carcinoma cells in vitro. *Anticancer Research*, 20 (5B), 3459-3465.
- Elattar, T. M., ve Virji, A. S. (2000). The inhibitory effect of curcumin, genistein, quercetin and cisplatin on the growth of oral cancer cells in vitro. *Anticancer Research*, 20 (3A), 1733-1738.
- Emim, J. A. D. S., Oliveira, A. B., ve Lapa, A. J. (1994). Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and coumestrol, in rats and mice. *Journal of pharmacy and Pharmacology*, 46 (2), 118-122.
- Erik, S., ve Tarıkahya, B. (2004). Türkiye florası üzerine. *Kebikeç*, 17 (1), 139-163.
- Erşan, S., Güçlü Üstündağ, O., Carle, R., ve Schweiggert, R. M. (2016). Identification of phenolic compounds in red and green pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls (exo-and mesocarp) by HPLC-DAD-ESI-(HR)-MS n. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (26), 5334-5344.

- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., ve Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13 (4), 341-390.
- Estévez, S., Marrero, M. T., Quintana, J., ve Estévez, F. (2014). Eupatorin-induced cell death in human leukemia cells is dependent on caspases and activates the mitogen-activated protein kinase pathway. *Plos One*, 9 (11), e112536.
- Evans, B. A. J., Griffiths, K., ve Morton, M. S. (1995). Inhibition of 5 α -reductase in genital skin fibroblasts and prostate tissue by dietary lignans and isoflavonoids. *Journal of Endocrinology*, 147 (2), 295-302.
- Eyidogan, F., ve Öz, M. T. (2007). Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29 (5), 485.
- Faried, A., Kurnia, D., Faried, L. S., Usman, N., Miyazaki, T., Kato, H., ve Kuwano, H. (2007). Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, on human cancer cell lines. *International Journal Of Oncology*, 30 (3), 605-613.
- Fathilah, A. R., Sujata, R., Norhanom, A. W., ve Adenan, M. I. (2010). Antiproliferative activity of aqueous extract of *Piper betle* L. and *Psidium guajava* L. on KB and HeLa cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (11), 987-990.
- Filep, J. G., Baron, C., Lachance, S., Perreault, C., ve Chan, J. S. (1996). Involvement of nitric oxide in target-cell lysis and DNA fragmentation induced by murine natural killer cells. *Blood*, 87 (12), 5136-5143.
- Finotti, E., ve Di Majo, D. (2003). Influence of solvents on the antioxidant property of flavonoids. *Food/Nahrung*, 47 (3), 186-187.

- Flora, S. J. S., Mittal, M., ve Mehta, A. (2008). Heavy metal induced oxidative stress ve its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*, 128 (4), 501.
- Forstermann, U., Boissel, J. P., ve Kleinert, H. (1998). Expressional control of the ‘constitutive’ isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III). *The FASEB Journal*, 12 (10), 773-790.
- Foti, M. C., Daquino, C., Mackie, I. D., DiLabio, G. A., ve Ingold, K. U. (2008). Reaction of phenols with the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Kinetics and DFT calculations applied to determine ArO-H bond dissociation enthalpies and reaction mechanism. *The Journal of Organic Chemistry*, 73 (23), 9270-9282.
- Fowler, M. W. ve Scragg, A. H. (1988). Natural products from higher plants and plant cell culture. In M. S. S. Pais, F. Mavituna, J. M. Novais, (Ed.). *Plant Cell Biotechnology*. (NATO ASI Series, 18) (77-165). Berlin: Springer-Verlag.
- Fraiser, L. H., Kanekal, S. ve Kehrer, J. P. (1991). Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem. *Drugs*, 42 (5), 781–795.
- Franzen, C. A., Amargo, E., Todorović, V., Desai, B. V., Huda, S., Pelling, J. C., ve diğeri. (2009). The chemopreventive bioflavonoid apigenin inhibits prostate cancer cell motility through the focal adhesion kinase/Src signaling mechanism. *Cancer Prevention Research*, 1940-6207.
- Fridovich, I. (1986). Biological effects of the superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 247 (1), 1-11.
- G. Agullo, L. Gamet-Payraastre, S. Manenti, C. Viala, C. Remesy, H. Chap, B. Payraastre, Relationship between flavonoid structure and inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase: a comparison with tyrosine kinase and protein kinase C inhibition, *Biochemical Pharmacology*, 53 (1997) 1649–1657.

- Gaitan, E., Lindsay, R. H., Reichert, R. D., Ingbar, S. H., Cooksey, R. C., Kubota, K., ve diğ. (1989). Antithyroid And Goitrogenic Effects Of Millet: Role Of C-Glycosylflavones. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 68 (4), 707-714.
- Galati G., Moridani M.Y., Chan T., O'Brien P.J., Peroxidative metabolism of apigenin and naringenin versus luteolin and quercetin: glutathione oxidation and conjugation, *Free Radical Biology and Medicine*, 30 (2001) 370–382.
- Gao, K., Henning, S. M., Niu, Y., Youssefian, A. A., Seeram, N. P., Xu, A., ve Heber, D. (2006). The citrus flavonoid naringenin stimulates DNA repair in prostate cancer cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17 (2), 89-95.
- Gentile, C., Tesoriere, L., Butera, D., Fazzari, M., Monastero, M., Allegra, M., ve Livrea, M. A. (2007). Antioxidant activity of Sicilian pistachio (*Pistacia vera* L. var. Bronte) nut extract and its bioactive components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (3), 643-648.
- Ghafourifar, P., ve Cadenas, E. (2005). Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends In Pharmacological Sciences*, 26 (4), 190-195.
- Ghalem, B. R., ve Mohamed, B. (2009). Antimicrobial activity evaluation of the oleoresin oil of *Pistacia vera* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3 (3), 092-096.
- Ghorbani, A., Nazari, M., Jeddi-Tehrani, M., ve Zand, H. (2012). The citrus flavonoid hesperidin induces p53 and inhibits NF-κB activation in order to trigger apoptosis in NALM-6 cells: involvement of PPARγ-dependent mechanism. *European Journal of Nutrition*, 51 (1), 39-46.

- Gibaud, S., Andreux, J. P., Weingarten, C., Renard, M. ve Couvreur, P. (1994). Increased bone marrow toxicity of doxorubicin bound to nanoparticles. *European Journal of Cancer*, 30A (6), 6-820.
- Goli, A. H., Barzegar, M., ve Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92 (3), 521-525.
- Grazioli, V., Schiavo, R., Casari, E., Marzatico, F., Rodriguez y Baena, R., ve Gaetani, P. (1998). Antioxidant enzymatic activities and lipid peroxidation in cultured human chondrocytes from vertebral plate cartilage. *FEBS Letters*, 431 (2), 149-153.
- Green, D. R., ve Reed, J. C. (1998). Mitochondria and apoptosis. *Science*, 281 (5381), 1309-1312..
- Greenberg, E. R., Baron, J. A., Tosteson, T. D., Freeman Jr, D. H., Beck, G. J., Bond, J. H., ve Mandel, J. S. (1994). A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *New England Journal of Medicine*, 331 (3), 141-147.
- Gross, G. G. (1985). *Biosynthesis and metabolism of phenolic acids and monolignols*. Academic Press: Orlando, FL.
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., ve diğeri. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of Nutrition*, 134 (3), 613-617.
- Guo, Q., Zhao, B., Shen, S., Hou, J., Hu, J., ve Xin, W. (1999). ESR study on the structure-antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1427 (1), 13-23.
- Gutteridge, J. M. (1986). Iron promoters of the Fenton reaction and lipid peroxidation can be released from haemoglobin by peroxides. *FEBS Letters*, 201 (2), 291-295.

- Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41 (12), 1819-1828.
- Haenen, G. R., ve Bast, A. (1999). Nitric oxide radical scavenging of flavonoids. *In Methods in Enzymology* 301, 490-503
- Hajri, A., Metzger, E., Vallat, F., Coffy, S., Flatter, E., Evrard, S., ve Aprahamian, M. (1998). Role of nitric oxide in pancreatic tumour growth: in vivo and in vitro studies. *British Journal of Cancer*, 78 (7), 841.
- Häkkinen, S., Heinonen, M., Kärenlampi, S., Mykkänen, H., Ruuskanen, J., ve Törrönen, R. (1999). Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International*, 32(5), 345-353.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 16 (1), 33-50.
- Halliwell, B., ve Gutteridge, J. M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *In Methods in Enzymology* 186, 1-85
- Halliwell, B., ve Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- Halliwell, B., ve Gutteridge, J. M.C. (1999). *Free radicals in biology and medicine* 3rd ed. New York: Oxford University Press.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M., ve Aruoma, O. I. (1987). The deoxyribose method: a simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*, 165 (1), 215-219.
- Hamilton, A. C. (2004). Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodivers Conservation*, 13, 517-1477.

- Hampton, M. B., ve Orrenius, S. (1997). Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: implications for apoptosis. *FEBS Letters*, 414 (3), 552-556.
- Han, J. Y., Ahn, S. Y., Kim, C. S., Yoo, S. K., Kim, S. K., Oh, K. W., (2012). Protection of apigenin against kainate-induced excitotoxicity by anti-oxidative effects. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 35 (9), 1440-1446.
- Han, Q., Yang, R., Li, J., Liang, W., Zhang, Y., Wang, C., ve diğer. (2012). Enhancement of biological activities of nanostructured hydrophobic drug species. *Nanoscale*, 4 (6), 2078-2082.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., ve Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 16 (6), 845-850.
- Harborne J. B. ve Baxter H. (1999). *The Handbook of Natural Flavonoids*. Chichester: John Wiley ve Sons
- Harmon, M. (1956). Parathyroid adenoma in a child: report of a case presenting as central nervous system disease and complicated by magnesium deficiency. *AMA Journal of Diseases of Children*, 91 (4), 313-325.
- Harris, C. M., ve Stone, W. L. (1988). The effects of in vitro lipid peroxidation on the activity of rat liver microsomal glutathione S-transferase from rats supplemented or deficient in antioxidants. *Life Sciences*, 42 (4), 415-420.
- Haslam, E. (1993). *Shikimic acid: metabolism and metabolites*. New York: John Wiley ve Sons Inc.
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, 96 (2-3), 67-202.

- Hebestreit, H., Dibbert, B., Balatti, I., Braun, D., Schapowal, A., Blaser, K., ve Simon, H. U. (1998). Disruption of fas receptor signaling by nitric oxide in eosinophils. *Journal of Experimental Medicine*, 187 (3), 415-425.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., ve Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (10), 572-584.
- Herrmann, K. M. (1995). The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *The Plant Cell*, 7 (7), 907.
- Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H. ve Katan, M. B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2379–2383.
- Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H. ve van de Putte, B. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1242–1246.
- Hirsch, T., Marchetti, P., Susin, S. A., Dallaporta, B., Zamzami, N., Marzo, I., Geuskens, M., and Kroemer, G. (1997). The apoptosis-necrosis paradox. Apoptogenic proteases activated after mitochondrial permeability transition determine the mode of cell death. *Oncogene*, 15, 1573–81.
- Ho, C. W., Lin, R. D., Lee, T. H., Lin, C. H., Wen, C. L., Lee, M. H., et al. (2013). Chemical and pharmacological investigation of micropropagated *Hygrophila pogonocalyx* produced from leaf explants. *Botanical Studies*, 54 (1), 51.
- Ho, Y. S., Xiong, Y., Ma, W., Spector, A., ve Ho, D. S. (2004). Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. *Journal of Biological Chemistry*, 279 (31), 32804-32812.

- Hortelano, S., Dallaporta, B., Zamzami, N., Hirsch, T., Susin, S. A., Marzo, I., ve Kroemer, G. (1997). Nitric oxide induces apoptosis via triggering mitochondrial permeability transition. *FEBS Letters*, 410 (2-3), 373-377.
- Hosseinzadeh, H., Tabassi, S. A. S., Moghadam, N. M., Rashedinia, M., ve Mehri, S. (2012). Antioxidant activity of Pistacia vera fruits, leaves and gum extracts. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11 (3), 879.
- Hostanska, K., Daum, G., ve Saller, R. (2002). Cytostatic and apoptosis-inducing activity of boswellic acids toward malignant cell lines in vitro. *Anticancer Research*, 22 (5), 2853-2862.
- Hsu, C. L., Lo, W. H., ve Yen, G. C. (2007). Gallic acid induces apoptosis in 3T3-L1 pre-adipocytes via a Fas-and mitochondrial-mediated pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7359-7365.
- Huang, J., Nasr, M., Kim, Y., ve Matthews, H. R. (1992). Genistein inhibits protein histidine kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 267 (22), 15511-15515.
- Huang, S. T., Yang, R. C., Lee, P. N., Yang, S. H., Liao, S. K., Chen, T. Y., ve Pang, J. H. S. (2006). Anti-tumor and anti-angiogenic effects of Phyllanthus urinaria in mice bearing Lewis lung carcinoma. *International Immunopharmacology*, 6 (6), 870-879.
- Hug, H., Strand, S., Grambihler, A., Galle, J., Hack, V., Stremmel, W., ve Galle, P. R. (1997). Reactive oxygen intermediates are involved in the induction of CD95 ligand mRNA expression by cytostatic drugs in hepatoma cells. *Journal of Biological Chemistry*, 272 (45), 28191-28193.
- Hunter, T. (1987). A thousand and one protein kinases. *Cell*, 50 (6), 823-829.

- Hwang, C. J. S. A., Sinskey, A. J., ve Lodish, H. F. (1992). Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science*, 257 (5076), 1496-1502.
- Imai, H., Narashima, K., Arai, M., Sakamoto, H., Chiba, N., ve Nakagawa, Y. (1998). Suppression of leukotriene formation in RBL-2H3 cells that overexpressed phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 273 (4), 1990-1997.
- Inoue, M., Sakaguchi, N., Isuzugawa, K., Tani, H., ve Ogihara, Y. (2000). Role of reactive oxygen species in gallic acid-induced apoptosis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23 (10), 1153-1157.
- Jagetia, G. C., ve Rao, S. K. (2006). Evaluation of the antineoplastic activity of guduchi (*Tinospora cordifolia*) in Ehrlich ascites carcinoma bearing mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29 (3), 460-466.
- Jagetia, G. C., Nayak, V., ve Vidyasagar, M. S. (1998). Evaluation of the antineoplastic activity of guduchi (*Tinospora cordifolia*) in cultured HeLa cells. *Cancer Letters*, 127 (1-2), 71-82.
- Janisch, K. M., Ölschläger, C., Treutter, D., ve Elstner, E. F. (2006). Simulated digestion of *Vitis vinifera* seed powder: Polyphenolic content and antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (13), 4839-4848.
- Ji, B. C., Hsu, W. H., Yang, J. S., Hsia, T. C., Lu, C. C., Chiang, J. H., ve Gibson Wood, W. (2009). Gallic acid induces apoptosis via caspase-3 and mitochondrion-dependent pathways in vitro and suppresses lung xenograft tumor growth in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (16), 7596-7604.
- Ji, Y., Akerboom, T. P., Sies, H., ve Thomas, J. A. (1999). S-nitrosylation and S-glutathiolation of protein sulfhydryls by S-nitroso glutathione. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 362 (1), 67-78.

- Jones, D. P., Carlson, J. L., Mody Jr, V. C., Cai, J., Lynn, M. J., ve Sternberg Jr, P. (2000). Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radical Biology and Medicine*, 28 (4), 625-635.
- Jørgensen, L. V., Cornett, C., Justesen, U., Skibsted, L. H., ve Dragsted, L. O. (1998). Two-electron electrochemical oxidation of quercetin and kaempferol changes only the flavonoid C-ring. *Free Radical Research*, 29 (4), 339-350.
- Joy, K. L., ve Kuttan, R. (1998). Inhibition by *Phyllanthus amarus* of hepatocarcinogenesis induced by N-nitrosodiethylamine. *Journal Of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 24 (3), 133-139.
- Kabel, A. M., Abdel-Rahman, M. N., El-Sisi, A. E. D. E., Haleem, M. S., Ezzat, N. M., ve El Rashidy, M. A. (2013). Effect of atorvastatin and methotrexate on solid Ehrlich tumor. *European Journal of Pharmacology*, 713 (1-3), 47-53.
- Kakhlon, O., ve Cabantchik, Z. I. (2002). The labile iron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes. *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (8), 1037-1046.
- Kamachi, H., Komori, I., Tamura, H., Sawa, Y., Karahara, I., Honma, Y., ve Noguchi, M. (2005). Lead tolerance and accumulation in the gametophytes of the fern *Athyrium yokoscense*. *Journal of Plant Research*, 118 (2), 137-145.
- Kamaraj, S., Anandakumar, P., Jagan, S., Ramakrishnan, G., ve Devaki, T. (2011). Hesperidin attenuates mitochondrial dysfunction during benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 25 (1), 91-98.
- Kamaraj, S., Ramakrishnan, G., Anandakumar, P., Jagan, S., ve Devaki, T. (2009). Antioxidant and anticancer efficacy of hesperidin in benzo (a) pyrene induced lung carcinogenesis in mice. *Investigational New Drugs*, 27 (3), 214-222.

- Kanno, S. I., Shouji, A., Asou, K., ve Ishikawa, M. (2003). Effects of naringin on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and apoptosis in P388 cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 92 (2), 166-170.
- Karas, M., Amir, H., Fishman, D., Danilenko, M., Segal, S., Nahum, A., ve Sharoni, Y. (2000). Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signaling in mammary cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 36 (1), 101-111.
- Karoui, H., Hogg, N., Fréjaville, C., Tordo, P., ve Kalyanaraman, B. (1996). Characterization of sulfur-centered radical intermediates formed during the oxidation of thiols and sulfite by peroxynitrite ESR-spin trapping and oxygen uptake studies. *Journal of Biological Chemistry*, 271 (11), 6000-6009.
- Kasahara, Y., Iwai, K., Yachie, A., Ohta, K., Konno, A., Seki, H., ve Taniguchi, N. (1997). Involvement of reactive oxygen intermediates in spontaneous and CD95 (Fas/APO-1)–mediated apoptosis of neutrophils. *Blood*, 89 (5), 1748-1753.
- Kashafi, E., Moradzadeh, M., Mohamadkhani, A., ve Erfanian, S. (2017). Kaempferol increases apoptosis in human cervical cancer HeLa cells via PI3K/AKT and telomerase pathways. *Biomedicine And Pharmacotherapy*, 89, 573-577.
- Kašparová, S., Brezová, V., Valko, M., Horecký, J., Mlynárik, V., Liptaj, T., ve Dobrota, D. (2005). Study of the oxidative stress in a rat model of chronic brain hypoperfusion. *Neurochemistry International*, 46 (8), 601-611.
- Kaur, M., Velmurugan, B., Rajamanickam, S., Agarwal, R., ve Agarwal, C. (2009). Gallic acid, an active constituent of grape seed extracts, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and antitumorigenic effects against prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. *Pharmaceutical Research*, 26, 2133–2140.

- Kennedy, T. A., ve Liebler, D. C. (1992). Peroxyl radical scavenging by beta-carotene in lipid bilayers. Effect of oxygen partial pressure. *Journal of Biological Chemistry*, 267 (7), 4658-4663.
- Ketley, J. N., Habig, W. H., ve Jakoby, W. B. (1975). Binding of nonsubstrate ligands to the glutathione S-transferases. *Journal of Biological Chemistry*, 250 (22), 8670-8673.
- Khan, N. A., Samiullah, Singh, S., ve Nazar, R. (2007). Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193 (6), 435-444.
- Khonkarn, R., Mankhetkorn, S., Hennink, W. E., ve Okonogi, S. (2011). PEG-OCL micelles for quercetin solubilization and inhibition of cancer cell growth. *European Journal of pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79 (2), 268-275.
- Kijima, I., Phung, S., Hur, G., Kwok, S. L., ve Chen, S. (2006). Grape seed extract is an aromatase inhibitor and a suppressor of aromatase expression. *Cancer Research*, 66 (11), 5960-5967.
- Kilickap, S., Akgül, E., Aksoy, S., Aytemir, K. ve Barista, I. (2005). Doxorubicin-induced second degree and complete atrioventricular block. *Europace*, 7 (3), 30-227.
- Kim, E. J., Choi, C. H., Park, J. Y., Kang, S. K., ve Kim, Y. K. (2008). Underlying mechanism of quercetin-induced cell death in human glioma cells. *Neurochemical Research*, 33 (6), 971-979.
- Kim, K. H., Tsao, R., Yang, R., ve Cui, S. W. (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95 (3), 466-473.

- Kim, M. E., Ha, T. K., Yoon, J. H., ve Lee, J. S. (2014). Myricetin induces cell death of human colon cancer cells via BAX/BCL2-dependent pathway. *Anticancer Research*, 34 (2), 701-706.
- Kim, S. H., ve Choi, K. C. (2013). Anti-cancer effect and underlying mechanism(s) of kaempferol, a phytoestrogen, on the regulation of apoptosis in diverse cancer cell models. *Toxicological Research*, 29 (4), 229.
- Kim, W. K., Bang, M. H., Kim, E. S., Kang, N. E., Jung, K. C., Cho, H. J., ve Park, J. H. (2005). Quercetin decreases the expression of ErbB2 and ErbB3 proteins in HT-29 human colon cancer cells. *The Journal of Butritional Biochemistry*, 16 (3), 155-162.
- Kinjo, J., Nagao, T., Tanaka, T., Nonaka, G. I., Okawa, M., Nohara, T., ve Okabe, H. (2002). Activity-guided fractionation of green tea extract with antiproliferative activity against human stomach cancer cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25 (9), 1238-1240.
- Kitao, S., Teramoto, M., Yamaguchi, T., Takamura, H., ve Matoba, T. (2006). Stabilizing effect of grape seed extract on ascorbic acid. *Food Science and Technology Tesearch*, 12 (1), 15-21.
- Klatt, P., ve Lamas, S. (2000). Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *European Journal of Biochemistry*, 267 (16), 4928-4944.
- Klotz, L. O. (2002). Oxidant-induced signaling: effects of peroxynitrite and singlet oxygen. *Biological Chemistry*, 383 (3-4), 443-456.
- Ko, C. H., Shen, S. C., Lee, T. J., ve Chen, Y. C. (2005). Myricetin inhibits matrix metalloproteinase 2 protein expression and enzyme activity in colorectal carcinoma cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 4 (2), 281-290.

- Koes, R. E., Quattrocchio, F. ve Mol, J. N. M. (1994). The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *Bio Essays*, 16, 123–132.
- Kojo, S. (2004). Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 11 (8), 1041-1064.
- Kole C. (2011). *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Heidelberg: Springer
- Kootstra, A. (1994). Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids. *Plant Molecular Biology*, 26 (2), 771-774.
- Krammer, P. H. (1998). CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis: live and let die. *In Advances in Immunology*, 71, 163-210
- Kroon, P. A., Faulds, C. B., Ryden, P., Robertson, J. A., ve Williamson, G. (1997). Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 661–667.
- Kukreja, S., Nandwal, A. S., Kumar, N., Sharma, S. K., Unvi, V., ve Sharma, P. K. (2005). Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biologia Plantarum*, 49 (2), 305-308.
- Küçüköner, E., ve Yurt, B. (2003). Some chemical characteristics of *Pistacia vera* varieties produced in Turkey. *European Food Research and Technology*, 217 (4), 308-310.
- Küçüköner, E., ve Yurt, B. (2003). Some chemical characteristics of *Pistacia vera* varieties produced in Turkey. *European Food Research and Technology*, 217 (4), 308-310.

- Lake, D. E., ve Hudis, C. (2002). Aromatase inhibitors in breast cancer: an update. *Cancer Control*, 9 (6), 490-498.
- Landis, G. N., ve Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of Ageing and Development*, 126 (3), 365-379.
- Lee, C. D., Ott, M., Thyagarajan, S. P., Shafritz, D. A., Burk, R. D., ve Gupta, S. (1996). *Phyllanthus amarus* down-regulates hepatitis B virus mRNA transcription and replication. *European Journal of Clinical Investigation*, 26 (12), 1069-1076.
- Lee, C. J., Wilson, L., Jordan, M. A., Nguyen, V., Tang, J., ve Smiyun, G. (2010). Hesperidin suppressed proliferations of both Human breast cancer and androgen-dependent prostate cancer cells. *Phytotherapy Research*, 24 (S1), S15-S19.
- Lee, K. H., Yeh, M. H., Kao, S. T., Hung, C. M., Liu, C. J., Huang, Y. Y., ve Yeh, C. C. (2010). The inhibitory effect of hesperidin on tumor cell invasiveness occurs via suppression of activator protein 1 and nuclear factor-kappaB in human hepatocellular carcinoma cells. *Toxicology Letters*, 194 (1-2), 42-49.
- Lee, K. M., Kang, N. J., Han, J. H., Lee, K. W., ve Lee, H. J. (2007). Myricetin down-regulates phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression in mouse epidermal cells by blocking activation of nuclear factor kappa B. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (23), 9678-9684.
- Lee, S. H., Oe, T., ve Blair, I. A. (2001). Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins. *Science*, 292 (5524), 2083-2086.
- Lee, W. J., Chen, W. K., Wang, C. J., Lin, W. L., ve Tseng, T. H. (2008). Apigenin inhibits HGF-promoted invasive growth and metastasis involving blocking PI3K/Akt pathway and β 4 integrin function in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 226 (2), 178-191.

- León, A. M., Palma, J. M., Corpas, F. J., Gómez, M., Romero-Puertas, M. C., Chatterjee, D., ve Sandalio, L. M. (2002). Antioxidative enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40 (10), 813-820.
- Leonard, S. S., Harris, G. K., ve Shi, X. (2004). Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(12), 1921-1942.
- Leopoldini, M., Pitarch, I. P., Russo, N., ve Toscano, M. (2004). Structure, conformation, and electronic properties of apigenin, luteolin, and taxifolin antioxidants. A first principle theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108 (1), 92-96.
- Lepley, D. M., Li, B., Birt, D. F., ve Pelling, J. C. (1996). The chemopreventive flavonoid apigenin induces G2/M arrest in keratinocytes. *Carcinogenesis*, 17 (11), 2367-2375.
- Levine, R. L., Berlett, B. S., Moskowitz, J., Mosoni, L., ve Stadtman, E. R. (1999). Methionine residues may protect proteins from critical oxidative damage. *Mechanisms of Ageing and Development*, 107 (3), 323-332.
- Li, Z. D., Hu, X. W., Wang, Y. T., ve Fang, J. (2009). Apigenin inhibits proliferation of ovarian cancer A2780 cells through Id1. *FEBS Letters*, 583 (12), 1999-2003.
- Liang, Y. C., Lin-Shiau, S. Y., Chen, C. F., ve Lin, J. K. (1999). Inhibition of cyclin-dependent kinases 2 and 4 activities as well as induction of cdk inhibitors p21 and p27 during growth arrest of human breast carcinoma cells by (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Journal of Cellular Biochemistry*, 75 (1), 1-12.
- Liao, S., Umekita, Y., Guo, J., Kokontis, J. M., ve Hiipakka, R. A. (1995). Growth inhibition and regression of human prostate and breast tumors in athymic mice by tea epigallocatechin gallate. *Cancer Letters*, 96 (2), 239-243.

- Lin, Y. P., Chen, T. Y., Tseng, H. W., Lee, M. H., ve Chen, S. T. (2012). Chemical and biological evaluation of nephrocizin in protecting nerve growth factor-differentiated PC12 cells by 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. *Phytochemistry*, 84, 102-115.
- Linsalata, M., Orlando, A., Messa, C., Refolo, M. G., ve Russo, F. (2010). Quercetin inhibits human DLD-1 colon cancer cell growth and polyamine biosynthesis. *Anticancer Research*, 30 (9), 3501-3507.
- Liochev, S. I., ve Fridovich, I. (1994). The role of O_2^- in the production of $HO\cdot$: in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 16 (1), 29-33.
- Liochev, S. I., ve Fridovich, I. (2002). The Haber-Weiss cycle—70 years later: an alternative view. *Redox Report*, 7 (1), 55-57.
- Litwack, G., Ketterer, B., ve Arias, I. M. (1971). Ligandin: a hepatic protein which binds steroids, bilirubin, carcinogens and a number of exogenous organic anions. *Nature*, 234 (5330), 466.
- Liu, J. J., Nilsson, A., Oredsson, S., Badmaev, V., ve Duan, R. D. (2002). Keto-and acetyl-keto-boswellic acids inhibit proliferation and induce apoptosis in Hep G2 cells via a caspase-8 dependent pathway. *International Journal of Molecular Medicine*, 10 (4), 501-505.
- Loganayaki, N., Siddhuraju, P., ve Manian, S. (2013). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L. *Journal of Food Science and Technology*, 50 (4), 687-695.
- Longo, L., Scardino, A., ve Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Rmerging Technologies*, 8 (3), 360-364.

- Lou, Z., Wang, H., Rao, S., Sun, J., Ma, C., ve Li, J. (2012). P-coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control*, 25, 550–554.
- Lu, J., Papp, L. V., Fang, J., Rodriguez-Nieto, S., Zhivotovsky, B., ve Holmgren, A. (2006). Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by some flavonoids: implications for myricetin and quercetin anticancer activity. *Cancer Research*, 66 (8), 4410-4418.
- Lu, Y. H., Su, M. Y., Huang, H. Y., ve Yuan, C. G. (2010). Protective effects of the citrus flavanones to PC12 cells against cytotoxicity induced by hydrogen peroxide. *Neuroscience Letters*, 484 (1), 6-11.
- Lu, Y., Jiang, F., Jiang, H., Wu, K., Zheng, X., Cai, Y., et al. (2010). Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells. *European Journal of Pharmacology*, 641, 102–107.
- Lyn-Cook, B. D., Rogers, T., Yan, Y., Blann, E. B., Kadlubar, F. F., ve Hammons, G. J. (1999). Chemopreventive effects of tea extracts and various components on human pancreatic and prostate tumor cells in vitro. *Nutrition and Cancer*, 35 (1), 80-86.
- Madlener, S., Illmer, C., Horvath, Z., Saiko, P., Losert, A., Herbacek, I., ve Fritzer-Szekeres, M. (2007). Gallic acid inhibits ribonucleotide reductase and cyclooxygenases in human HL-60 promyelocytic leukemia cells. *Cancer Letters*, 245 (1-2), 156-162.
- Maeda-Yamamoto, M., Kawahara, H., Tahara, N., Tsuji, K., Hara, Y., ve Isemura, M. (1999). Effects of tea polyphenols on the invasion and matrix metalloproteinases activities of human fibrosarcoma HT1080 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (6), 2350-2354.

- Manach, C., ve Donovan, J. L. (2004). Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free Radical Research*, 38 (8), 771-786.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., ve Jimenez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727–747.
- Manil, L., Couvreur, P. ve Mahieu, P.(1995). Acute renal toxicity of doxorubicin (adriamycin)-loaded cyanoacrylate nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 12 (1), 85–87.
- Mannervik, B. (1985). The isoenzymes of glutathione transferase. *Advances In Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 57, 357-417.
- Manthey, J. A., Guthrie, N., ve Grohmann, K. (2001). Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Current Medicinal Chemistry*, 8 (2), 135-153.
- Marcus, C. J., Habig, W. H., ve Jakoby, W. B. (1978). Glutathione transferase from human erythrocytes: Nonidentity with the enzymes from liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 188 (2), 287-293.
- Markovits, J., Linassier, C., Fossé, P., Couprie, J., Pierre, J., Jacquemin-Sablon, A., ve Larsen, A. K. (1989). Inhibitory effects of the tyrosine kinase inhibitor genistein on mammalian DNA topoisomerase II. *Cancer research*, 49 (18), 5111-5117.
- Marmet, C., Actis-Goretta, L., Renouf, M., ve Giuffrida, F. (2014). Quantification of phenolic acids and their methylates, glucuronides, sulfates and lactones metabolites in human plasma by LC–MS/MS after oral ingestion of soluble coffee. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 88, 617–625.

- Marraskuranto, E., Fajarningsih, N. D., Januar, H. I., ve Wikanta, T. (2008). Aktivitas antitumor (HeLa dan T47D) dan antioksidan ekstrak makroalga hijau *Ulva fasciata*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 3 (2), 107-112.
- Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F. P., Saija, A. ve Tomaino, A. (2013). In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seed and skin extracts. *Fitoterapia*, 85, 41-48.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., ve Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16 (10), 577-586.
- Masumoto, H., Kissner, R., Koppenol, W. H., ve Sies, H. (1996). Kinetic study of the reaction of ebselen with peroxynitrite. *FEBS Letters*, 398 (2-3), 179-182.
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., ve De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32 (8), 595-603.
- McCall, M. R., ve Frei, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (7-8), 1034-1053.
- McCord, J. M., ve Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244 (22), 6049-6055.
- Merghoub, N., Benbacer, L., Amzazi, S., Morjani, H., ve El-Mzibri, M. (2009). Cytotoxic effect of some Moroccan medicinal plant extracts on human cervical cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3 (12), 1045-1050.

- Messina, M. J. (1999). Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70 (3), 439-450.
- Metodiewa, D., Jaiswal, A. K., Cenas, N., Dickançaité, E., ve Segura-Aguilar, J. (1999). Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (1-2), 107-116.
- Miller, E. R., Pastor-Barriuso, R., Dalal, D., Riemersma, R. A., Appel, L. J., ve Guallar, E. (2005). Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Annals of Internal Medicine*, 142 (1), 37-46.
- Mobin, M., ve Khan, N. A. (2007). Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164 (5), 601-610.
- Mocan, A., Vodnar, D., Vlase, L., Crişan, O., Gheldiu, A. M., ve Crişan, G. (2015). Phytochemical characterization of *Veronica officinalis* L., *V. teucrium* L. and *V. orchidea* Crantz from Romania and their antioxidant and antimicrobial properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (9), 21109-21127.
- Mokhtarpour, A., Naserian, A. A., Valizadeh, R., Mesgaran, M. D., ve Pourmollae, F. (2014). Extraction of phenolic compounds and tannins from pistachio by-products. *Annual Research ve Review in Biology*, 1330-1338.
- Mortensen, A., Skibsted, L. H., ve Truscott, T. G. (2001). The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385 (1), 13-19.

- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65 (1-2), 55-63.
- Motwani, M., Rizzo, C., Sirotnak, F., She, Y., ve Schwartz, G. K. (2003). Flavopiridol Enhances the Effect of Docetaxel in Vitro and in Vivo in Human Gastric Cancer Cells1. *Molecular cancer therapeutics*, 2 (6), 549-555.
- Mozaffarian, V. (2005). *Trees and shrubs of Iran*. Tehran: Farhang Moaser
- Murakami, A., Ashida, H., ve Terao, J. (2008). Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer Letters*, 269 (2), 315-325.
- Naasani, I., Seimiya, H., ve Tsuruo, T. (1998). Telomerase inhibition, telomere shortening, and senescence of cancer cells by tea catechins. *Biochemical and Biophysical Tesearch Communications*, 249 (2), 391-396.
- Nadova, S., Miadokova, E., ve Cipak, L. (2007). Flavonoids potentiate the efficacy of cytarabine through modulation of drug-induced apoptosis. *Neoplasma*, 54 (3), 202.
- Nagao, T., Abe, F., Kinjo, J., ve Okabe, H. (2002). Antiproliferative Constituents in Plants 10. Flavones from the Leaves of *Lantana montevidensis* B RIQ. and Consideration of Structure–Activity Relationship. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25 (7), 875-879.
- Nakagawa, T., ve Yokozawa, T. (2002). Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. *Food and Chemical Toxicology*, 40 (12), 1745-1750.
- Nakajima, A., Aoyama, Y., Nguyen, T. T. L., Shin, E. J., Kim, H. C., Ohizumi, Y., et al. (2013). Nobiletin, a citrus flavonoid, ameliorates cognitive impairment, oxidative burden, and hyperphosphorylation of tau in senescence-accelerated mouse. *Behavioural Brain Research*, 250, 351-360.

- Nakiboglu, M., Urek, R. O., Kayali, H. A., ve Tarhan, L. (2007). Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey. *Food Chemistry*, 104 (2), 630-635.
- Nalawade, S. M., Sagare, A. P., Lee, C. Y., Kao, C. L., Tsay H. S. (2003). Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. *Botanical Bulletin- Academia Sinica Taipei*, 44, 79–98.
- Nardini, M., Cirillo, E., Natella, F., ve Scaccini, C. (2002). Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5735–5741.
- Nardini, M., Forte, M., Vrhovsek, U., Mattivi, F., Viola, R., ve Scaccini, C. (2009). White wine phenolics are absorbed and extensively metabolized in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2711–2718.
- Naseem, K.M. and Bruckdorfer, K.R. (1995) *Biochemical Journal*, 310, 149-153.
- Ngamkitidechakul, C., Jaijoy, K., Hansakul, P., Soonthornchareonnon, N., ve Sireeratawong, S. (2010). Antitumour effects of *Phyllanthus emblica* L.: induction of cancer cell apoptosis and inhibition of in vivo tumour promotion and in vitro invasion of human cancer cells. *Phytotherapy Research*, 24 (9), 1405-1413.
- Nguyen, T. T. T., Tran, E., Ong, C. K., Lee, S. K., Do, P. T., Huynh, T. T., ve Huynh, H. (2003). Kaempferol-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells is mediated by activation of MEK-MAPK. *Journal of Cellular Physiology*, 197 (1), 110-121.
- Norbury, C. J., and Hickson, I. D. (2001). Cellular responses to DNA damage. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41, 367–401.

- Oberley, L. W., ve Oberley, T. D. (1988). Role of antioxidant enzymes in cell immortalization and transformation. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 84 (2), 147-153.
- Okabe, S., Suganuma, M., Hayashi, M., Sueoka, E., Komori, A., ve Fujiki, H. (1997). Mechanisms of growth inhibition of human lung cancer cell line, PC-9, by tea polyphenols. *Japanese Journal of Cancer Research*, 88 (7), 639-643.
- Okura, A., Arakawa, H., Oka, H., Yoshinari, T., ve Monden, Y. (1988). Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12] Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 157 (1), 183-189.
- Oleinick, N. L., Morris, R. L., ve Belichenko, I. (2002). The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how. *Photochemical ve Photobiological Sciences*, 1 (1), 1-21.
- Olszewska, M. (2008). Separation of quercetin, sexangularetin, kaempferol and isorhamnetin for simultaneous HPLC determination of flavonoid aglycones in inflorescences, leaves and fruits of three Sorbus species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48 (3), 629-635.
- Ottaviani, J. I., Actis-Goretta, L., Villordo, J. J., ve Fraga, C. G. (2006). Procyanidin structure defines the extent and specificity of angiotensin I converting enzyme inhibition. *Biochimie*, 88 (3-4), 359-365.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44 (6), 307-315.
- Ozkan, G., Sagdic, O., Ekici, L., Ozturk, I., ve Ozcan, M. M. (2007). Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract, and its antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Lipids*, 14 (2), 157-169.

- Özçelik, B., Aslan, M., Orhan, I., ve Karaoglu, T. (2005). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiological Research*, 160 (2), 159-164.
- Özhatay, N., Byfield, A., ve Atay, S. (2008). *Türkiye'nin 122 önemli bitki alanı*. İstanbul: WWF Türkiye (Doğal Hayatı Koruma Vakfı).
- Park, H. J., Kim, M. J., Ha, E., ve Chung, J. H. (2008). Apoptotic effect of hesperidin through caspase3 activation in human colon cancer cells, SNU-C4. *Phytomedicine*, 15 (1-2), 147-151.
- Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E., ve Brenowitz, M. (2000). A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *Journal of Molecular Biology*, 304 (1), 55-68.
- Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., ve Piemonte, F. (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta*, 333 (1), 19-39.
- Patil, J. R., Chidambara Murthy, K. N., Jayaprakasha, G. K., Chetti, M. B., ve Patil, B. S. (2009). Bioactive compounds from Mexican lime (*Citrus aurantifolia*) juice induce apoptosis in human pancreatic cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (22), 10933-10942.
- Pekarkova, I., Parara, S., Holecek, V., Stopka, P., Trefil, L., Racek, J., ve Rokyta, R. (2001). Does exogenous melatonin influence the free radicals metabolism and pain sensation in rat. *Physiological Research*, 50 (6), 595-602.
- Pellati, F., Benvenuti, S., ve Melegari, M. (2004). High-performance liquid chromatography methods for the analysis of adrenergic amines and flavanones in *Citrus aurantium* L. var. *amara*. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 15 (4), 220-225.

- Phillipson, J. D. (1990). Plants as source of valuable products. In B. V. Charlwood ve M. J. C. Rhodes, (Ed.). *Secondary Products From Plant Tissue Culture*. Oxford: Clarendon Press.
- Pierpoint, W.S. (2000). Why do plants make medicines. *Biochemist*, 22, 37–40.
- Pláteník, J., Stopka, P., Vejražka, M., ve Štípek, S. (2001). Quinolinic acid—iron (II) complexes: slow autoxidation, but enhanced hydroxyl radical production in the fenton reaction. *Free Radical Research*, 34 (5), 445-459.
- Plaumann, B., Fritsche, M., Rimpler, H., Brandner, G., ve Hess, R. D. (1996). Flavonoids activate wild-type p53. *Oncogene*, 13 (8), 1605-1614.
- Plumb, G. W., Garcia Conesa, M. T., Kroon, P. A., Rhodes, M., Ridley, S., ve Williamson, G. (1999). Metabolism of chlorogenic acid by human plasma, liver, intestine and gut microflora. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 390–392.
- Poli, G., ve Parola, M. (1997). Oxidative damage and fibrogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 22 (1-2), 287-305.
- Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F., ve Chiarpotto, E. (2004). Oxidative stress and cell signalling. *Current Medicinal Chemistry*, 11 (9), 1163-1182.
- Porter, N. A., Caldwell, S. E., ve Mills, K. A. (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30 (4), 277-290.
- Potmesil, M. (1994). Camptothecins: from bench research to hospital wards. *Cancer Research*, 54 (6), 1431-1439.

- Prasad, K. (1997). Hydroxyl radical-scavenging property of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flax-seed. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 168 (1-2), 117-123.
- Priyadarsini, R. V., Murugan, R. S., Maitreyi, S., Ramalingam, K., Karunakaran, D., ve Nagini, S. (2010). The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF- κ B inhibition. *European Journal of Pharmacology*, 649 (1-3), 84-91.
- Pryor, W. A. (2000). Vitamin E and heart disease:: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biology and Medicine*, 28 (1), 141-164.
- Puppo, A., ve Halliwell, B. (1988). Formation of hydroxyl radicals in biological systems. Does myoglobin stimulate hydroxyl radical formation from hydrogen peroxide?. *Free radical Tesearch Communications*, 4 (6), 415-422.
- Puspitasari, E., Pangaribowo, D. A., Isparnaning, I. Y., ve Utami, Y. (2015, June). Ethanolic extract of *Arcangelisia flava* leaves is cytotoxic and selective against breast and colon cancer cell lines. In *Proceeding of The 1 st University of Muhammadiyah Purwokerto-Pharmacy International Conference*, 82-86.
- Raina, K., Rajamanickam, S., Deep, G., Singh, M., Agarwal, R., ve Agarwal, C. (2008). Chemopreventive effects of oral gallic acid feeding on tumor growth and progression in TRAMP mice. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7 (5), 1258-1267.
- Rajeshkumar, N. V., ve Kuttan, R. (2000). *Phyllanthus amarus* extract administration increases the life span of rats with hepatocellular carcinoma. *Journal of Ethnopharmacology*, 73 (1-2), 215-219.

- Rajeshkumar, N. V., Joy, K. L., Kuttan, G., Ramsewak, R. S., Nair, M. G., ve Kuttan, R. (2002). Antitumour and anticarcinogenic activity of *Phyllanthus amarus* extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 81 (1), 17-22.
- Ranelletti, F. O., Ricci, R., Larocca, L. M., Maggiano, N., Capelli, A., Scambia, G., ve Piantelli, M. (1992). Growth-inhibitory effect of quercetin and presence of type-II estrogen-binding sites in human colon-cancer cell lines and primary colorectal tumors. *International Journal of Cancer*, 50 (3), 486-492.
- Rao, A. C., ve Reddy, A. R. (2008). Glutathione reductase: a putative redox regulatory system in plant cells. In *Sulfur assimilation and abiotic stress in plants* (111-147). Berlin: Springer.
- Rashed, K., ve Barreto, M. C. (2017). Biological Activities of Plants used in Egyptian Ethnopharmacology. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7 (05), 046-050.
- Reddivari, L., Vanamala, J., Safe, S. H., ve Miller Jr, J. C. (2010). The bioactive compounds α -chaconine and gallic acid in potato extracts decrease survival and induce apoptosis in LNCaP and PC3 prostate cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 62 (5), 601-610.
- Reddy, A. R., ve Raghavendra, A. S. (2006). Photooxidative stress. In *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants* (157-186). Dordrecht: Springer.
- Retsky, K. L., Chen, K., Zeind, J., ve Frei, B. (1999). Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (1-2), 90-98.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., ve Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20 (7), 933-956.

- Rice-Evans, C. A., Sampson, J., Bramley, P. M., ve Holloway, D. E. (1997). Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo?. *Free Radical Research*, 26 (4), 381-398.
- Rikans, L. E., ve Hornbrook, K. R. (1997). Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1362 (2-3), 116-127.
- Robak, J., ve Gryglewski, R. J. (1988). Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology*, 37 (5), 837-841.
- Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., Garcia-Gasca, T., ve Lujan-García, B. A. (2009). Antioxidant activity and genotoxic effect on HeLa cells of phenolic compounds from infusions of *Quercus resinosa* leaves. *Food Chemistry*, 115 (4), 1320-1325.
- Rodgers, E. H., ve Grant, M. H. (1998). The effect of the flavonoids, quercetin, myricetin and epicatechin on the growth and enzyme activities of MCF7 human breast cancer cells. *Chemico-biological Interactions*, 116 (3), 213-228.
- Roebuck, K. A. (1999). Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF-kappaB. *International Journal of Molecular Medicine*, 4 (3), 223-253.
- Romero-Puertas, M. C., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Leterrier, M., Rodríguez-Serrano, M., Del Río, L. A., ve Palma, J. M. (2006). Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New Phytologist*, 170 (1), 43-52.
- Ruiz-Larrea, M. B., Mohan, A. R., Paganga, G., Miller, N. J., Bolwell, G. P., ve Rice-Evans, C. A. (1997). Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radical Research*, 26 (1), 63-70.

- Sachinidis, A., Seul, C., Seewald, S., Ahn, H. Y., Ko, Y., ve Vetter, H. (2000). Green tea compounds inhibit tyrosine phosphorylation of PDGF β -receptor and transformation of A172 human glioblastoma. *FEBS Letters*, 471 (1), 51-55.
- Sadeghipour, M., Terreux, R., ve Phipps, J. (2005). Flavonoids and tyrosine nitration: structure–activity relationship correlation with enthalpy of formation. *Toxicology in Vitro*, 19 (2), 155-165.
- Saitta, M., Giuffrida, D., La Torre, G. L., Potortì, A. G., ve Dugo, G. (2009). Characterisation of alkylphenols in pistachio (*Pistacia vera* L.) kernels. *Food Chemistry*, 117 (3), 451-455.
- Sakaguchi, N., Inoue, M., ve Ogihara, Y. (1998). Reactive oxygen species and intracellular Ca^{2+} , common signals for apoptosis induced by gallic acid. *Biochemical Pharmacology*, 55 (12), 1973-1981.
- Sakata, K., Hirose, Y., Qiao, Z., Tanaka, T., ve Mori, H. (2003). Inhibition of inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthase by flavonoid hesperidin in mouse macrophage cell line. *Cancer Letters*, 199 (2), 139-145.
- Saliha, D., Seddik, K., Djamila, A., Abdrrahmane, B., Lekhmici, A., ve Nouredine, C. (2013). Antioxidant proprieties of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Pharmacognosy Communications*, 3 (2), 28.
- Saragusti, A. C., Ortega, M. G., Cabrera, J. L., Estrin, D. A., Marti, M. A., Chiabrando, G. A., et al. (2010). Inhibitory effect of quercetin on matrix metalloproteinase 9 activity Molecular mechanism and structure–activity relationship of the flavonoid–enzyme interaction. *European Journal of Pharmacology*, 644 (1-3), 138-145.
- Scalbert, A., ve Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130, 2073S–2085S.

- Scalzo, R. L. (2008). Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid. *Food Chemistry*, 107 (1), 40-43.
- Schinella, G. R., Giner, R. M., Recio, M. D. C., De Buschiazzo, P. M., Ríos, J. L., ve MÁñez, S. (1998). Anti-inflammatory effects of South American *Tanacetum vulgare*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50 (9), 1069-1074.
- Schreck, R., Rieber, P., ve Baeuerle, P. A. (1991). Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *The EMBO journal*, 10 (8), 2247-2258.
- Sehitoglu, M. H., Han, H., Kalin, P., Gülçin, İ., Ozkan, A., ve Aboul-Enein, H. Y. (2015). Pistachio (*Pistacia vera* L.) Gum: A potent inhibitor of reactive oxygen species. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30 (2), 264-269.
- Seifaddinipour, M., Farghadani, R., Namvar, F., Mohamad, J., ve Abdul Kadir, H. (2018). Cytotoxic effects and anti-angiogenesis potential of pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls against MCF-7 human breast cancer cells. *Molecules*, 23 (1), 110.
- Sen, C. K., ve Packer, L. (1996). Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *The FASEB Journal*, 10 (7), 709-720.
- Serrano, A., Palacios, C., Roy, G., Cespón, C., Villar, M. L., Nocito, M., ve González-Porqué, P. (1998). Derivatives of gallic acid induce apoptosis in tumoral cell lines and inhibit lymphocyte proliferation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 350 (1), 49-54.
- Shahidi F., Wanasundara U. ve Amarowicz R. (1995). Isolation and partial characterization of oilseed phenolics and evaluation of their antioxidant activity. In G. Charalambous (Ed.). *Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence* (99-1087). London: Elsevier Science.

- Shahraki, J., Zareh, M., Kamalinejad, M., ve Pourahmad, J. (2014). Cytoprotective effects of hydrophilic and lipophilic extracts of *Pistacia vera* against oxidative versus carbonyl stress in rat hepatocytes. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (4), 1263.
- Shami, P. J., Sauls, D. L., ve Weinberg, J. B. (1998). Schedule and concentration-dependent induction of apoptosis in leukemia cells by nitric oxide. *Leukemia*, 12 (9), 1461.
- Shao, Y., Ho, C. T., Chin, C. K., Badmaev, V., Ma, W., ve Huang, M. T. (1998). Inhibitory activity of boswellic acids from *Boswellia serrata* against human leukemia HL-60 cells in culture. *Planta Medica*, 64 (04), 328-331.
- Shen, Y. H., Wang, X. L., ve Wilcken, D. E. (1998). Nitric oxide induces and inhibits apoptosis through different pathways. *FEBS Letters*, 433 (1-2), 125-131.
- Shi, L., Lei, Y., Srivastava, R., Qin, W., ve Chen, J. J. (2016). Gallic acid induces apoptosis in human cervical epithelial cells containing human papillomavirus type 16 episomes. *Journal of Medical Virology*, 88 (1), 127-134.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., ve Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 (6), 945-948.
- Shiomi, K., Kuriyama, I., Yoshida, H., ve Mizushima, Y. (2013). Inhibitory effects of myricetin on mammalian DNA polymerase, topoisomerase and human cancer cell proliferation. *Food Chemistry*, 139 (1-4), 910-918.
- Sigalov, A. B., ve Stern, L. J. (1998). Enzymatic repair of oxidative damage to human apolipoprotein A-I. *FEBS Letters*, 433(3), 196-200.

- Singh, M., Kaur, M., ve Silakari, O. (2014). Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, 206-239.
- Singh, S., Khan, N. A., Nazar, R., ve Anjum, N. A. (2008). Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress. *American Journal of Plant Physiology*, 3, 25-32.
- Skaper, S. D., Fabris, M., Ferrari, V., Dalle Carbonare, M., ve Leon, A. (1997). Quercetin protects cutaneous tissue-associated cell types including sensory neurons from oxidative stress induced by glutathione depletion: cooperative effects of ascorbic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 22 (4), 669-678.
- Skórzyńska-Polit, E., Dra, M., ve Krupa, Z. (2003). The activity of the antioxidative system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana*. *Biologia Plantarum*, 47 (1), 71-78.
- Slichenmyer, W. J., Rowinsky, E. K., Donehower, R. C., ve Kaufmann, S. H. (1993). The current status of camptothecin analogues as antitumor agents. *Journal of the National Cancer Institute*, 85 (4), 271-291.
- Wu, M., Lee, H., Bellas, R. E., Schauer, S. L., Arsura, M., Katz, D., ve Sonenshein, G. E. (1996). Inhibition of NF-kappaB/Rel induces apoptosis of murine B cells. *The EMBO Journal*, 15 (17), 4682-4690.
- Song, W., Dang, Q., Xu, D., Chen, Y., Zhu, G., Wu, K., ve Li, L. (2014). Kaempferol induces cell cycle arrest and apoptosis in renal cell carcinoma through EGFR/p38 signaling. *Oncology Reports*, 31 (3), 1350-1356.
- Spagnuolo, C., Russo, M., Bilotto, S., Tedesco, I., Laratta, B., ve Russo, G. L. (2012). Dietary polyphenols in cancer prevention: the example of the flavonoid quercetin in leukemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1259 (1), 95-103.

- Spencer, J. P., Jenner, A., Aruoma, O. I., Cross, C. E., Wu, R., ve Halliwell, B. (1996). Oxidative DNA damage in human respiratory tract epithelial cells. Time course in relation to DNA strand breakage. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 224 (1), 17-22.
- Srivastava, A. K., Bhargava, P., ve Rai, L. C. (2005). Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in the antioxidative defence systems of *Anabaena doliolum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21 (6-7), 1291-1298.
- Steinberg, F. M., Holt, R. R., Schmitz, H. H., ve Keen, C. L. (2002). Cocoa procyanidin chain length does not determine ability to protect LDL from oxidation when monomer units are controlled. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (11), 645-652.
- Stohs, S. J., ve Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 18 (2), 321-336.
- Strack, D. ve Wray, V. (1992). Anthocyanins. In J. B. Harborne (Ed.). *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986* (1–22). London: Chapman ve Hall.
- Streffer, J. R., Bitzer, M., Schabet, M., Dichgans, J., ve Weller, M. (2001). Response of radiochemotherapy-associated cerebral edema to a phytotherapeutic agent, H15. *Neurology*, 56 (9), 1219-1221.
- Sugisawa, A., Kimura, M., Fenech, M., ve Umegaki, K. (2004). Anti-genotoxic effects of tea catechins against reactive oxygen species in human lymphoblastoid cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 559 (1), 97-103.
- Suh, D. K., Lee, E. J., Kim, H. C., ve Kim, J. H. (2010). Induction of G 1/S phase arrest and apoptosis by quercetin in human osteosarcoma cells. *Archives of PharmacalR*, 33 (5), 781-785.

- Suh, J., Zhu, B. Z., ve Frei, B. (2003). Ascorbate does not act as a pro-oxidant towards lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(10), 1306-1314.
- Sun, Z. J., Chen, G., Hu, X., Zhang, W., Liu, Y., Zhao, Y. F., et al. (2010). Activation of PI3K/Akt/IKK- α /NF- κ B signaling pathway is required for the apoptosis-evasion in human salivary adenoid cystic carcinoma: its inhibition by quercetin. *Apoptosis*, 15 (7), 850-863.
- Syrovets, T., Gschwend, J. E., Büchele, B., Laumonnier, Y., Zugmaier, W., Genze, F., ve Simmet, T. (2005). Inhibition of I κ B kinase activity by acetyl-boswellic acids promotes apoptosis in androgen-independent PC-3 prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 280 (7), 6170-6180.
- Talley, A. K., Dewhurst, S., Perry, S. W., Dollard, S. C., Gummuluru, S., Fine, S. M., ve Gelbard, H. A. (1995). Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in human neuronal cells: protection by the antioxidant N-acetylcysteine and the genes bcl-2 and crmA. *Molecular and cellular biology*, 15 (5), 2359-2366.
- Tan, K. H., Meyer, D. J., Gillies, N., ve Ketterer, B. (1988). Detoxification of DNA hydroperoxide by glutathione transferases and the purification and characterization of glutathione transferases of the rat liver nucleus. *Biochemical Journal*, 254 (3), 841-845.
- Tan, W. F., Lin, L. P., Li, M. H., Zhang, Y. X., Tong, Y. G., Xiao, D., ve diğer. (2003). Quercetin, a dietary-derived flavonoid, possesses antiangiogenic potential. *European Journal of Pharmacology*, 459 (2-3), 255-262.
- Tan, X., Hu, D., Li, S., Han, Y., Zhang, Y., ve Zhou, D. (2000). Differences of four catechins in cell cycle arrest and induction of apoptosis in LoVo cells. *Cancer Letters*, 158 (1), 1-6.

- Tanaka, T., Kojima, T., Kawamori, T., ve Mori, H. (1995). Chemoprevention of digestive organs carcinogenesis by natural product protocatechuic acid. *Cancer*, 75 (S6), 1433-1439.
- Tanigawa, S., Fujii, M., ve Hou, D. X. (2008). Stabilization of p53 is involved in quercetin-induced cell cycle arrest and apoptosis in HepG2 cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 0802050765-0802050765.
- Tappel, A. L. (1978). Glutathione peroxidase and hydroperoxides. In *Methods in Enzymology*, 52, 506-513.
- Tarhan, L., Nakipoğlu, M., Kavakcıoğlu, B., Tongul, B., ve Nalbantsoy, A. (2016). The induction of growth inhibition and apoptosis in HeLa and MCF-7 cells by *Teucrium sandrasicum*, having effective antioxidant properties. *Applied biochemistry and Biotechnology*, 178 (5), 1028-1041.
- Tezuka, Y., Stampoulis, P., Banskota, A. H., Awale, S., Tran, K., Kadota, S., et al. (2000). Constituents of the Vietnamese medicinal plant *Orthosiphon stamineus*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48 (11), 1711-1719.
- Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C., ve Saija, A. (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92 (9), 1115-1122.
- Totta, P., Acconcia, F., Leone, S., Cardillo, I., ve Marino, M. (2004). Mechanisms of Naringenin-induced Apoptotic Cascade in Cancer Cells: Involvement of Estrogen Receptor α and β Signalling. *IUBMB Life*, 56 (8), 491-499.
- Tournaire, C., Croux, S., Maurette, M. T., Beck, I., Hocquaux, M., Braun, A. M., ve Oliveros, E. (1993). Antioxidant activity of flavonoids: efficiency of singlet oxygen ($^1\Delta_g$) quenching. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 19 (3), 205-215.

- Tsokou, A., Georgopoulou, K., Melliou, E., Magiatis, P., ve Tsitsa, E. (2007). Composition and enantiomeric analysis of the essential oil of the fruits and the leaves of *Pistacia vera* from Greece. *Molecules*, 12 (6), 1233-1239.
- Ueda, J. I., Saito, N., Shimazu, Y., ve Ozawa, T. (1996). A comparison of scavenging abilities of antioxidants against hydroxyl radicals. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 333 (2), 377-384.
- Ueno, I., Kohno, M., Haraikawa, K., ve Hirono, I., (1984). Interaction between quercetin and superoxide radicals. Reduction of the quercetin mutagenicity. *Journal of Pharmacobio-dynamics*, 7 (11), 798-803.
- Ullrich, A., ve Schlessinger, J. (1990). Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell*, 61 (2), 203-212.
- Ulusu, N. N., ve Tandoğan, B. (2007). Purification and kinetic properties of glutathione reductase from bovine liver. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 303 (1-2), 45-51.
- Um, H. D., Orenstein, J. M., ve Wahl, S. M. (1996). Fas mediates apoptosis in human monocytes by a reactive oxygen intermediate dependent pathway. *The Journal of Immunology*, 156 (9), 3469-3477.
- Umar Lule, S., ve Xia, W. (2005). Food phenolics, pros and cons: a review. *Food Reviews International*, 21 (4), 367-388.
- Unno, T., Sugimoto, A., ve Kakuda, T. (2000). Scavenging effect of tea catechins and their epimers on superoxide anion radicals generated by a hypoxanthine and xanthine oxidase system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (5), 601-606.

US Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2002) USDA-Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Foods. Nutrient Data Laboratory Web Site (<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isoflav.html>).

Utami, R., Khalid, N., Sukari, M. A., Rahmani, M., ve Abdul, A. B. (2013). Phenolic contents, antioxidant and cytotoxic activities of *Elaeocarpus floribundus* Blume. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26 (2), 245-250.

Valcic, S., Timmermann, B. N., Alberts, D. S., Wächter, G. A., Krutzsch, M., Wymer, J., ve Guillén, J. M. (1996). Inhibitory effect of six green tea catechins and caffeine on the growth of four selected human tumor cell lines. *Anti-cancer Drugs*, 7 (4), 461-468.

Valentão, P., Andrade, P. B., Areias, F., Ferreres, F., ve Seabra, R. M. (1999). Analysis of vervain flavonoids by HPLC/diode array detector method. Its application to quality control. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (11), 4579-4582.

Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., ve Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12 (10), 1161-1208.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., ve Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266 (1-2), 37-56.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39 (1), 44-84.

Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., ve Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160 (1), 1-40.

- Vanacker, S. A., Tromp, M. N., Haenen, G. R., Vandervijgh, W. J. F., ve Bast, A. (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 214 (3), 755-759.
- van Acker, S. A., de Groot, M. J., van den Berg, D. J., Tromp, M. N., Donné-Op den Kelder, G., et al. (1996). A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoids. *Chemical Research in Toxicology*, 9 (8), 1305-1312.
- Van, D. A., Martin, S. J., Kafri, T., Green, D. R., ve Verma, I. M. (1996). Suppression of TNF-alpha-induced apoptosis by NF-kappaB. *Science (New York, NY)*, 274 (5288), 787-789.
- van der Woude, H., Boersma, M. G., Vervoort, J., ve Rietjens, I. M. (2004). Identification of 14 quercetin phase II mono-and mixed conjugates and their formation by rat and human phase II in vitro model systems. *Chemical Research in Toxicology*, 17 (11), 1520-1530.
- Vasanthi, H. R., Mukherjee, S., ve Das, D. K. (2009). Potential health benefits of broccoli-a chemico-biological overview. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 9 (6), 749-759.
- Veeriah, S., Hofmann, T., Glei, M., Dietrich, H., Will, F., Pool-Zobel, B. L., et al. (2007). Apple polyphenols and products formed in the gut differently inhibit survival of human cell lines derived from colon adenoma (LT97) and carcinoma (HT29). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (8), 2892-2900.
- Vepa, S., Scribner, W. M., Parinandi, N. L., English, D., Garcia, J. G., ve Natarajan, V. (1999). Hydrogen peroxide stimulates tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase in vascular endothelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 277 (1), L150-L158.

- Wall, M. E., ve Wani, M. C. (1977). Antineoplastic agents from plants. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 17 (1), 117-132.
- Wall, M. E., ve Wani, M. C. (1996). Discovery to clinic. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 803 (1), 1-12.
- Wallach, D., Varfolomeev, E. E., Malinin, N. L., Goltsev, Y. V., Kovalenko, A. V., ve Boldin, M. P. (1999). Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. *Annual Review of Immunology*, 17 (1), 331-367.
- Walle, T. (2007). Methylation of dietary flavones greatly improves their hepatic metabolic stability and intestinal absorption. *Molecular Pharmaceutics*, 4 (6), 826-832.
- Wang, X., Martindale, J.L., Liu, Y. and Holbrook, N.J (1998). The cellular response to oxidative stress: influences of mitogen-activated protein kinase signalling pathways on cell survival. *Biochemical Journal*, 333 (2), 291-300.
- Wang, Y., Yu, H., Zhang, J., Gao, J., Ge, X., ve Lou, G. (2015). Hesperidin inhibits HeLa cell proliferation through apoptosis mediated by endoplasmic reticulum stress pathways and cell cycle arrest. *BMC Cancer*, 15 (1), 682.
- Watson, R. W. G., Rotstein, O. D., Jimenez, M., Parodo, J., ve Marshall, J. C. (1997). Augmented intracellular glutathione inhibits Fas-triggered apoptosis of activated human neutrophils. *Blood*, 89 (11), 4175-4181.
- Wedi, B., Straede, J., Wieland, B., ve Kapp, A. (1999). Eosinophil apoptosis is mediated by stimulators of cellular oxidative metabolisms and inhibited by antioxidants: involvement of a thiol-sensitive redox regulation in eosinophil cell death. *Blood*, 94 (7), 2365-2373.

- Wen, X., ve Walle, T. (2006). Methylated flavonoids have greatly improved intestinal absorption and metabolic stability. *Drug Metabolism and Disposition*, 34, 1786-1792.
- White, E., Shannon, J. S., ve Patterson, R. E. (1997). Relationship between vitamin and calcium supplement use and colon cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 6 (10), 769-774.
- Wiswedel, I., Hirsch, D., Kropf, S., Gruening, M., Pfister, E., Schewe, T., ve Sies, H. (2004). Flavanol-rich cocoa drink lowers plasma F2-isoprostane concentrations in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 37 (3), 411-421.
- Wong, G. H. W., ve Goeddel, D. V. (1988). Induction of manganous superoxide dismutase by tumor necrosis factor: possible protective mechanism. *Science*, 242 (4880), 941-944.
- Wu, B., Zhang, Q., Shen, W., ve Zhu, J. (2008). Anti-proliferative and chemosensitizing effects of luteolin on human gastric cancer AGS cell line. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 313 (1-2), 125-132.
- Wu, M., Lee, H., Bellas, R. E., Schauer, S. L., Arsura, M., Katz, D., ve Sonenshein, G. E. (1996). Inhibition of NF-kappaB/Rel induces apoptosis of murine B cells. *The EMBO Journal*, 15 (17), 4682-4690.
- Yang, C. S., Maliakal, P., ve Meng, X. (2002). Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 42 (1), 25-54.
- Yang, G. Y., Liao, J., Kim, K., Yurkow, E. J., ve Yang, C. S. (1998). Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols. *Carcinogenesis*, 19 (4), 611-616.

- Yang, H., Shi, M., VanRemmen, H., Chen, X., Vijg, J., Richardson, A., ve Guo, Z. (2003). Reduction of pressor response to vasoconstrictor agents by overexpression of catalase in mice. *American Journal of Hypertension*, 16(1), 1-5.
- Yang, M., Tanaka, T., Hirose, Y., Deguchi, T., Mori, H., ve Kawada, Y. (1997). Chemopreventive effects of diosmin and hesperidin on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced urinary-bladder carcinogenesis in male ICR mice. *International Journal of Cancer*, 73 (5), 719-724.
- Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B., ve Wang, J. (2008). Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30 (4), 433-440.
- Yang, Y., Wolfram, J., Shen, H., Fang, X., ve Ferrari, M. (2012). Hesperetin: an inhibitor of the transforming growth factor- β (TGF- β) signaling pathway. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 58, 390-395.
- Ye, H., Xu, H., Yu, C., Dai, Y., Liu, G., Xu, W., ve Yuan, S. (2009). Hydroxylation of naringin by *Trichoderma harzianum* to dramatically improve its antioxidative activity. *Enzyme and Microbial Technology*, 45 (4), 282-287.
- Ye, L., Chan, F. L., Chen, S., ve Leung, L. K. (2012). The citrus flavonone hesperetin inhibits growth of aromatase-expressing MCF-7 tumor in ovariectomized athymic mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23 (10), 1230-1237.
- Yilmaz, Y., ve Toledo, R. T. (2004). Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2), 255-260.
- Yoneda, S., ve Nakatsubo, F. (1998). Effects of the hydroxylation patterns and degrees of polymerization of condensed tannins on their metal-chelating capacity. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 18 (2), 193-205.

- Yoshida, M., Yamamoto, M., ve Nikaido, T. (1992). Quercetin arrests human leukemic T-cells in late G1 phase of the cell cycle. *Cancer Research*, 52 (23), 6676-6681.
- Yoshida, T., Konishi, M., Horinaka, M., Yasuda, T., Goda, A. E., Taniguchi, H., ve Sakai, T. (2008). Kaempferol sensitizes colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 375 (1), 129-133.
- You, B. R., ve Park, W. H. (2010). Gallic acid-induced lung cancer cell death is related to glutathione depletion as well as reactive oxygen species increase. *Toxicology in Vitro*, 24 (5), 1356-1362.
- You, B. R., Kim, S. Z., Kim, S. H., ve Park, W. H. (2011). Gallic acid-induced lung cancer cell death is accompanied by ROS increase and glutathione depletion. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 357 (1-2), 295-303.
- You, B. R., Moon, H. J., Han, Y. H., ve Park, W. H. (2010). Gallic acid inhibits the growth of HeLa cervical cancer cells via apoptosis and/or necrosis. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (5), 1334-1340.
- You, W. C., Zhang, L., Gail, M. H., Chang, Y. S., Liu, W. D., Ma, J. L., ve Blaser, M. J. (2000). Gastric dysplasia and gastric cancer: Helicobacter pylori, serum vitamin C, and other risk factors. *Journal of the National Cancer Institute*, 92 (19), 1607-1612.
- Yousefi, S., Green, D. R., Blaser, K., ve Simon, H. U. (1994). Protein-tyrosine phosphorylation regulates apoptosis in human eosinophils and neutrophils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91 (23), 10868-10872.
- Zakaria, Z. A., Rofiee, M. S., Mohamed, A. M., Teh, L. K., ve Salleh, M. Z. (2011). In vitro antiproliferative and antioxidant activities and total phenolic contents of the

- extracts of *Melastoma malabathricum* leaves. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 4 (4), 248-256.
- Zandi, K., Teoh, B. T., Sam, S. S., Wong, P. F., Mustafa, M. R., ve AbuBakar, S. (2011). Antiviral activity of four types of bioflavonoid against dengue virus type-2. *Virology journal*, 8 (1), 560.
- Zeiss, C. J. (2003). The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Veterinary Pathology*, 40 (5), 481-495.
- Zhang, H., Zhang, M., Yu, L., Zhao, Y., He, N., ve Yang, X. (2012). Antitumor activities of quercetin and quercetin-5', 8-disulfonate in human colon and breast cancer cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (5), 1589-1599.
- Zhang, Q., Zhao, X. H., ve Wang, Z. J. (2008). Flavones and flavonols exert cytotoxic effects on a human oesophageal adenocarcinoma cell line (OE33) by causing G2/M arrest and inducing apoptosis. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (6), 2042-2053.
- Zhao, B., ve Hu, M. (2013). Gallic acid reduces cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human cervical cancer cells. *Oncology Letters*, 6 (6), 1749-1755.
- Zheng, Q., Hirose, Y., Yoshimi, N., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., ve Mori, H. (2002). Further investigation of the modifying effect of various chemopreventive agents on apoptosis and cell proliferation in human colon cancer cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 128 (10), 539-546.
- Zheng, S. Y., Li, Y., Jiang, D., Zhao, J., ve Ge, J. F. (2012). Anticancer effect and apoptosis induction by quercetin in the human lung cancer cell line A-549. *Molecular Medicine Reports*, 5 (3), 822-826.

Zhou, Y., ve Lee, A. S. (1998). Mechanism for the suppression of the mammalian stress response by genistein, an anticancer phytoestrogen from soy. *Journal of the National Cancer Institute*, 90 (5), 381-388.

