



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**ÇİRİŞ'İN (*Eremurus spectabilis* Bieb.) ve BAZI KÜKÜRTLÜ
BİLEŞİKLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ**

Bertan Boran BAYRAK

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Ocak, 2013

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**ÇİRİŞ'İN (*Eremurus spectabilis* Bieb.) ve BAZI KÜKÜRTLÜ
BİLEŞİKLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ**

Bertan Boran BAYRAK

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Ocak, 2013

İSTANBUL


2602070094 Öğrenci numaralı Bertan Boran BAYRAK tarafından hazırlanan bu çalışma 10/01/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Nuriye AKEV
İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşen YARAT
Marmara Üniversitesi
Dış Hekimliği Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe YUSUFÖĞLU
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Organik Kimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe OGAN
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı

Bu çalışma **İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'nin 22605** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek öğrenimim sırasında ve bu tezin konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren hocam Sayın Doç. Dr. Özlem SAÇAN'a; Yard. Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya, Arş. Gör. İ. Burcu TÜRKYILMAZ'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma, çalışmalarım esnasında bana gösterdikleri ilgi, anlayış ve desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca bana her zaman sonsuz destek olan sevgili eşim ve aileme çok teşekkür ederim.

Çiriş bitkisinin teşhisini yapan Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Emine AKALIN'a teşekkür ederim.

22605 sayılı proje kapsamında, çalışmama maddi destek sağlayan İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'ne de teşekkürlerimi sunarım.

Ocak, 2013

Bertan Boran BAYRAK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ	viii
DENKLEM LİSTESİ	x
SEMBOL LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. SERBEST RADİKALLER.....	4
2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri	5
2.1.1.1. Süperoksit Anyon Radikali	7
2.1.1.2. Singlet Oksijen	8
2.1.1.3. Hidrojen Peroksit.....	8
2.1.1.4. Hidroksi Radikali	9
2.1.1.5. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri.....	10
2.1.2. Reaktif Azot Türleri	10
2.1.2.1. Nitrik Oksit Radikali	10
2.1.2.2. Peroksinitrit	11
2.1.3. Reaktif Kükürt Türleri	11
2.1.3.1. Tiyil Radikalleri	11
2.1.4. Reaktif Karbon Türleri	14
2.2. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI	14

2.3. SERBEST RADİKALLERİN FİZYOLOJİK ETKİLERİ	15
2.3.1. Serbest Radikallerin Yararlı Etkileri	15
2.3.2. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri.....	15
2.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri	16
2.3.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri.....	17
2.3.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve DNA Üzerine Etkileri	18
2.3.2.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlara Etkileri	18
2.4. ANTİOKSİDANLAR VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	18
2.5. ANTİOKSİDANLARIN SINIFLANDIRILMASI.....	21
2.5.1. Doğal Antioksidanlar	21
2.5.1.1. Polifenolik Bileşikler.....	22
2.5.1.2. Karotenoidler.....	29
2.5.1.3. L-Askorbik Asit (C Vitamini).....	31
2.5.1.4. Tokoferoller (E Vitamini).....	33
2.5.1.5. Enzimatik Antioksidanlar.....	35
2.5.2. Sentetik Antioksidanlar	39
2.5.2.1. Bütillenmiş Hidroksianisol.....	39
2.5.2.2. Bütillenmiş Hidroksitoluen	39
2.5.2.3. Tersiyer Bütil Hidrokinon.....	40
2.5.2.4. Propil Gallat.....	40
2.5.2.5. Nordihidroguayeretik Asit	41
2.6. SÜLFÜR.....	42
2.6.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	42
2.6.2. Kullanım Alanları	43
2.6.3. Antioksidan Özellikleri.....	43
2.6.3.1. Glutatyon	44
2.6.3.2. Sistein.....	45
2.6.3.3. N-Asetil-L-Sistein.....	47
2.6.3.4. Homosistein.....	47
2.6.3.5. Ditiyoeritritol.....	48
2.6.3.6. Sisteamin.....	49
2.6.3.7. S-Metilmetyonin Sülfonyum Klorür	49
2.6.3.8. Diallil Sülfid.....	50
2.6.3.9. α-Lipoik Asit.....	50
2.7. ÇİRİŞ (Eremurus spectabilis Bieb.)	51

3. MALZEME VE YÖNTEM	56
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER.....	56
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	57
3.3. BİTKİ MATERYALİ	60
3.3.1. Sulu Ekstrenin Hazırlanması.....	60
3.3.2. Etil Alkollü Ekstrenin Hazırlanması.....	60
3.3.3. Etil Asetatlı Ekstrenin Hazırlanması	60
3.4. BİTKİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ.....	61
3.4.1. Alkaloid Tayini.....	61
3.4.2. Antrakinon Tayini.....	61
3.4.3. Diterpen ve Fitosterol Tayini	61
3.4.4. Fenol Tayini	61
3.4.5. Flavonoit Tayini	61
3.4.6. Karbohidrat Tayini.....	62
3.4.7. Kükürt Tayini.....	62
3.4.8. Protein Tayini.....	62
3.4.9. Tannin Tayini	62
3.5. ÇİRİŞİN VE KÜKÜRTLÜ BİLEŞİKLERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ	62
3.5.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini.....	62
3.5.2. Total Flavonoit Miktarı Tayini.....	63
3.5.3. İndirgeme Gücü.....	64
3.5.4. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi.....	64
3.5.5. Hidroksi Radikal Giderme Aktivitesi	66
3.5.6. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi	66
3.5.7. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi.....	68
3.5.8. DMPD Radikal Giderme Aktivitesi.....	69
3.5.9. Süperoksit Anyon Radikal Giderme Aktivitesi.....	70
3.5.10. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Parametre Deneyi.....	71
3.5.11. Metal Kelatlama Aktivitesi	72
4. BULGULAR	74
4.1. BİTKİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ.....	74

4.2. TOPLAM FENOLİK BİLEŞİK MİKTAR TAYİNİ.....	74
4.3. TOTAL FLAVONOİT MİKTARI TAYİNİ.....	75
4.4. İNDİRGEME GÜCÜ.....	76
4.5. BAKIR (II) İYONU İNDİRGEYİCİ ANTİOKSİDAN KAPASİTE YÖNTEMİ	78
4.6. HİDROKSİ RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ.....	80
4.7. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ.....	83
4.8. DPPH RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ.....	86
4.9. DMPD RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ.....	89
4.10. SÜPEROKSİT ANYON RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ.....	93
4.11. FERRİ İYONU REDÜKLEYİCİ ANTİOKSİDAN PARAMETRE DENEYİ	96
4.12. METAL KELATLAMA AKTİVİTESİ	98
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	102
6. KAYNAKLAR.....	117
7. ÖZGEÇMİŞ.....	142

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	: Moleküler oksijen ve bundan meydana gelen bazı oksidan moleküllerin elektron spin dizilişleri	5
Şekil 2.2	: Nitrik oksit radikalının L-arginin'den oluşumu	11
Şekil 2.3	: Reaktif kükürt türlerinin glutatyon veya sisteindeki sülfidril grubundan oluşumu	13
Şekil 2.4	: Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu	15
Şekil 2.5	: Hidroksi radikali tarafından başlatılan linoleik asit peroksidasyonunun mekanizması.....	16
Şekil 2.6	: Doğal antioksidanların sınıflandırılması.....	22
Şekil 2.7	: Flavonoit çekirdeğinin 15 karbonlu temel yapısı.....	24
Şekil 2.8	: Bazı karotenoidler (likopen ve β -karoten) ve ksantofiller	30
Şekil 2.9	: Askorbik asitte meydana gelen redoks reaksiyonları	32
Şekil 2.10	: E vitamininin antioksidan etkisi.....	34
Şekil 2.11	: BHA izomerlerinin kimyasal yapıları	39
Şekil 2.12	: BHT'nin kimyasal yapısı.....	40
Şekil 2.13	: TBHQ'nun kimyasal yapısı.....	40
Şekil 2.14	: PG'nin kimyasal yapısı.....	41
Şekil 2.15	: Guayeretik asit ve NDGA'nın kimyasal yapıları.....	41
Şekil 2.16	: GSH'nin kimyasal yapısı.....	44
Şekil 2.17	: Cys'nin, HCys ve Ser amino asitlerinden oluşumu	46
Şekil 2.18	: Cys'nin kimyasal yapısı.....	46
Şekil 2.19	: NAC'nin kimyasal yapısı.....	47
Şekil 2.20	: HCys'nin kimyasal yapısı.....	47
Şekil 2.21	: DTE ve DTT'nin kimyasal yapıları.....	49
Şekil 2.22	: CysNH ₂ 'nin kimyasal yapısı	49
Şekil 2.23	: U Vit.'nin kimyasal yapısı.....	49
Şekil 2.24	: DAS'nin kimyasal yapısı.....	50
Şekil 2.25	: ALA ve DHLA'nın kimyasal yapıları	50
Şekil 2.26	: Çirişin çeşitli görünüşleri	53
Şekil 2.27	: Çirişin çeşitli görünüşleri	54
Şekil 2.28	: Çirişin çeşitli görünüşleri	54
Şekil 2.29	: Çirişin çeşitli görünüşleri	55
Şekil 2.30	: Çirişin çeşitli görünüşleri	55
Şekil 3.1	: CUPRAC reaksiyonu ve kromofor: Bis (neokuproin) bakır (I) kelat katyonu	65
Şekil 3.2	: ABTS'nin K ₂ S ₂ O ₈ ile yükseltgenmesi ve ABTS radikal katyonunun oluşumu	67
Şekil 3.3	: DPPH radikalının indirgenmesi	68
Şekil 3.4	: DMPD katyon radikallerinin oluşumu	69
Şekil 3.5	: Süperoksit anyon radikallerinin PMS-NADH-O ₂ non-enzimatik sisteminde oluşumu ve bunların NBT ile reaksiyonu	70
Şekil 3.6	: [Fe (III)-(TPTZ) ₂] ³⁺ kompleksinin antioksidan varlığında [Fe (II)-(TPTZ) ₂] ²⁺ kompleksine indirgenmesi	71
Şekil 3.7	: Fe (II)'nin ferrozin ile metal kelatlama teşkil etmesi.....	72

Şekil 4.1	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve askorbik asit, BHA ve Troloks'un indirgeme güçleri	76
Şekil 4.2	: GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE ve CysNH ₂ 'nin indirgeme güçleri	76
Şekil 4.3	: DAS'nin indirgeme gücü	77
Şekil 4.4	: ALA ve U Vit.'nin indirgeme güçleri	77
Şekil 4.5	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve askorbik asit, BHA ve Troloks'un bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri	78
Şekil 4.6	: GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE, CysNH ₂ ve DAS'nin bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri	79
Şekil 4.7	: U Vit.'nin bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi	79
Şekil 4.8	: ALA'nın bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi	80
Şekil 4.9	: Çirişin sulu ekstresinin ve gallik asidin hidroksi radikal giderme aktiviteleri	80
Şekil 4.10	: Çirişin etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve BHA ve α -tokoferol'ün hidroksi radikal giderme aktiviteleri	81
Şekil 4.11	: GSH, Cys, NAC, 1,4-DTE, CysNH ₂ ve U Vit.'nin hidroksi radikal giderme aktiviteleri	81
Şekil 4.12	: HCys, DAS ve ALA'nın hidroksi radikal giderme aktiviteleri	81
Şekil 4.13	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ABTS radikal giderme aktiviteleri	84
Şekil 4.14	: α -Tokoferol'ün ABTS radikal giderme aktivitesi	84
Şekil 4.15	: Gallik asidin ABTS radikal giderme aktivitesi	84
Şekil 4.16	: GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE, CysNH ₂ , DAS, U Vit.ve ALA'nın ABTS radikal giderme aktiviteleri	85
Şekil 4.17	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının DPPH radikal giderme aktiviteleri	87
Şekil 4.18	: BHA, rutin ve Troloks'un DPPH radikal giderme aktiviteleri	87
Şekil 4.19	: GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE, CysNH ₂ , DAS ve U Vit.'nin DPPH radikal giderme aktiviteleri	88
Şekil 4.20	: ALA'nın DPPH radikal giderme aktivitesi	89
Şekil 4.21	: GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE ve CysNH ₂ 'nin DMPD radikal giderme aktiviteleri	91
Şekil 4.22	: DAS'nin DMPD radikal giderme aktivitesi	92
Şekil 4.23	: U Vit.'nin DMPD radikal giderme aktivitesi	92
Şekil 4.24	: ALA'nın DMPD radikal giderme aktivitesi	92
Şekil 4.25	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve epikateşin, gallik asit, rutin ve Troloks'un süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri	94
Şekil 4.26	: HCys ve DAS'nin süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri	95
Şekil 4.27	: GSH, Cys, NAC, 1,4-DTE, CysNH ₂ , U Vit. ve ALA'nın süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri	95
Şekil 4.28	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının metal kelatlama aktiviteleri	98
Şekil 4.29	: EDTA'nın metal kelatlama aktivitesi	99
Şekil 4.30	: Gallik asidin metal kelatlama aktivitesi	99
Şekil 4.31	: GSH, Cys, NAC, HCys, U Vit.ve ALA'nın metal kelatlama aktiviteleri	100
Şekil 4.32	: 1,4-DTE ve CysNH ₂ 'nin metal kelatlama aktiviteleri	100
Şekil 4.33	: DAS'nin metal kelatlama aktivitesi	101

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	: Çeşitli serbest radikaller ve radikal olmayan reaktif türleri.....	6
Tablo 2.2	: Serbest radikal kaynakları.....	14
Tablo 2.3	: Flavonoidlerin bazı alt gruplarının temel kimyasal yapıları	26
Tablo 2.4	: Bazı doğal fenolik asidlerin temel yapısı ve gruplandırılması.....	28
Tablo 2.5	: Tokoferollerin ve tokotrienollerin kimyasal yapıları	33
Tablo 2.6	: Sülfürün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	42
Tablo 2.7	: Sülfür içeren amino asidlerin ve bazı organik bileşiklerin özellikleri	44
Tablo 4.1	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin fitokimyasal analizi	74
Tablo 4.2	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin fenolik bileşik miktarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi	75
Tablo 4.3	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin total flavonoid miktarının pirokateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi.....	75
Tablo 4.4	: Çirişin sulu ekstresinin ve gallik asidin hidroksi radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	82
Tablo 4.5	: Çirişin etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve BHA ve α -tokoferol'ün hidroksi radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri.....	82
Tablo 4.6	: Kükürtlü bileşiklerin hidroksi radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	83
Tablo 4.7	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve gallik asit ve α -tokoferol'ün ABTS radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	85
Tablo 4.8	: Kükürtlü bileşiklerin ABTS radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	86
Tablo 4.9	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve BHA, rutin ve Troloks'un DPPH radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri.....	88
Tablo 4.10	: Kükürtlü bileşiklerin DPPH radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	89
Tablo 4.11	: Çirişin sulu ekstresinin ve askorbik asidin DMPD radikal giderme aktivitelere	90
Tablo 4.12	: Çirişin etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve Troloks'un DMPD radikal giderme aktivitelere	90
Tablo 4.13	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve askorbik asit ve Troloks'un DMPD radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	91
Tablo 4.14	: Kükürtlü bileşiklerin DMPD radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	93
Tablo 4.15	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve epikateşin, gallik asit, rutin ve Troloks'un süperoksit anyon radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	94
Tablo 4.16	: Kükürtlü bileşiklerin süperoksit anyon radikal giderme aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri	96
Tablo 4.17	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve askorbik asit ve α -tokoferol'ün ferri iyonu indirgeme antioksidan güçleri (FRAP).....	96
Tablo 4.18	: Cys, NAC, 1,4-DTE, HCys, GSH ve CysNH ₂ 'nin ferri iyonu indirgeme antioksidan güçleri (FRAP).....	97
Tablo 4.19	: DAS, ALA ve U Vit.'nin ferri iyonu indirgeme antioksidan güçleri (FRAP)	98

Tablo 4.20	: Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve EDTA ve gallik asid'in metal kelatlama aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri 100
Tablo 4.21	: Kükürtlü bileşiklerin metal kelatlama aktivitelere ait IC ₅₀ değerleri 101

DENKLEM LİSTESİ

Denklem 2.1	: Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı	4
Denklem 2.2	: Normal bir molekülden tek bir elektronun ayrılması ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi sonucu kovalent bağı oluşturan her 2 elektronun atomlardan birinde kalması	4
Denklem 2.3	: Normal bir moleküle tek elektron katılması	4
Denklem 2.4	: Tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin tek elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit anyon radikalinin oluşumu	7
Denklem 2.5	: İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu	7
Denklem 2.6	: İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu	7
Denklem 2.7	: Süperoksit anyon radikalinin ferristokrom c veya NBT ile reaksiyonu.....	7
Denklem 2.8	: Süperoksit anyon radikalinin oksidan perhidroksi radikali oluşturmak üzere protonlanması.....	7
Denklem 2.9	: Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron ve $2H^+$ alması ile hidrojen peroksit oluşturması.....	8
Denklem 2.10	: Süperoksit anyonunun çevresindeki moleküllerden tek elektron alarak hidrojen peroksiti oluşturması	8
Denklem 2.11	: Süperoksit anyonunun, süperoksit dismutaz katalizöründe dismutasyonu.....	9
Denklem 2.12	: Fenton reaksiyonu	9
Denklem 2.13	: Fenton reaksiyonu	9
Denklem 2.14	: Haber-Weiss reaksiyonu	9
Denklem 2.15	: Hidrojen peroksidin katalaz tarafından suya ve oksijene parçalanması.....	9
Denklem 2.16	: Hidroksi radikalinin tiyollerden $1H^+$ koparması ile tiyil radikallerinin oluşumu	10
Denklem 2.17	: Hidroksi radikalinin yağ asidi gibi moleküllerden $1H^+$ koparması ile C merkezli organik radikallerin oluşumu.....	10
Denklem 2.18	: Nitrik oksit ve süperoksit anyonundan peroksinitrit oluşumu	11
Denklem 2.19	: Peroksinitritin protonlanarak azot dioksit ve hidroksi radikalini oluşturması	11
Denklem 2.20	: Disülfid bağlarına sahip bir kaynaktan tiyil radikalinin oluşumu.....	12
Denklem 2.21	: Disülfid bağına tek elektronun katılması ile tiyolat anyonunun ve tiyil radikalinin oluşumu	12
Denklem 2.22	: Tiyil radikallerinin fotoliz reaksiyonu sonucunda oluşumu.....	12
Denklem 2.23	: Tiyil radikallerinin bakır (II) iyonları varlığında yükseltgenmesi	12
Denklem 2.24	: Tiyil radikallerinin demir (III) iyonları varlığında yükseltgenmesi	12
Denklem 2.25	: Tiyil radikallerinin moleküler oksijen ile reaksiyonu	13
Denklem 2.26	: Askorbatın tiyil radikalini tiyole indirgemesi	13
Denklem 2.27	: Oksihemoglobinin süperoksit ile reaksiyonu sonucu methemoglobin oluşumu	17
Denklem 2.28	: Oksihemoglobinin hidrojen peroksit ile reaksiyonu sonucu methemoglobin oluşumu	17
Denklem 2.29	: Polifenolik antioksidanların peroksil radikali ile reaksiyonu.....	23
Denklem 2.30	: Süperoksit dismutazın süperoksit anyon radikalini hidrojen peroksite dönüştürmesi	35
Denklem 2.31	: Süperoksit dismutazın süperoksit anyon radikaline etkisi	36

Denklem 2.32 : Süperoksit dismutazın süperoksit anyon radikaline etkisi	36
Denklem 2.33 : Katalazın, hidrojen peroksidi su ve moleküler oksijene dönüştürmesi	36
Denklem 2.34 : Glutasyon peroksidazın, hidrojen peroksidi suya ve okside glutatyona dönüştürmesi	37
Denklem 2.35 : Glutasyon peroksidazın, peroksidi alkole, suya ve okside glutatyona dönüştürmesi	37
Denklem 2.36 : Fosfolipit glutasyon peroksidazın, fosfolipit hidroperoksidi alkole indirgemesi	37
Denklem 2.37 : Glutasyon redüktazın, okside glutatyonu indirgemesi	38
Denklem 2.38 : Glutasyon-S-transferazın, peroksidi alkole ve suya indirgemesi	38
Denklem 3.1 : Fenolik bileşikten bir elektronun ayrılması ile fenolat anyonunun oluşması.....	63
Denklem 3.2 : Mavi renkli molibdat kompleksinin oluşması.....	63

SEMBOL LİSTESİ

ABTS	: 2,2-azinobis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ALA	: α -lipoik asit
AMP	: Adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	: Katalaz
CCl₄	: Karbon tetraklorür
CUPRAC	: Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
Cys	: L-Sistein
CysNH₂	: Sisteamin
DAS	: Diallyl sülfid
DHA	: Dehiroaskorbik asit
DHLA	: Dihidrolipoik asit
DMPD	: <i>N,N</i> -dimetil-1,4-fenilendiamin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EC	: Epikateşin
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
ETS	: Elektron taşıma zinciri
FDA	: İlaç ve Gıda Dairesi
FRAP	: Ferri iyonu indirgeyici antioksidan parametre
Ferrozin	: 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disülfonik asit
GA	: Gallik asit
GP_x	: Glutatyon peroksidaz
GR	: Glutatyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSNO	: S-nitrosoglutatyon
GSSG	: Yükseltgenmiş glutatyon
GST	: Glutatyon-S-transferaz
G6PD	: D-Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
Hb	: Hemoglobin
HCys	: DL-homosistein
IUPAC	: Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
KOAH	: Kronik obstruktif akciğer hastalığı
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MetHb	: Methemoglobin

MTHF	: 5,10-metiltetrahidrofolat
NAC	: N-asetil L-sistein
NAD	: Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NBT	: Nitroblue tetrazolyum
Nc	: Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)
NDGA	: Nor dihidroguareyetik asit
OG	: Oktil gallat
PG	: Propil gallat
PLGP_x	: Fosfolipit glutatyon peroksidaz
PLP	: Piridoksal- 5'-fosfat
PMS	: Fenazin metosülfat
PPH	: Polifenolik antioksidan
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi
RAT	: Reaktif azot türleri
RNA	: Ribonükleik asit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
s	: Saniye
SAH	: S-adenozilhomosistein
SAM	: S-adenozilmetiyonin
SD	: Standart sapma
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TBHQ	: Tersiyer bütül hidrokinon
TCA	: Triklorasetik asit
TPTZ	: 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazin
Troloks	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
U Vit.	: U vitamini (DL- metil metiyonin sülfonyum klorür)
UV	: Ultraviyole
1,4-DTE	: 1,4-ditiyoeritritol
1,4-DTT	: 1,4-ditiyotreitol
8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

ÖZET

ÇİRİŞ'İN (*Eremurus spectabilis* Bieb.) ve BAZI KÜKÜRTLÜ BİLEŞİKLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Çiriş (*Eremurus spectabilis* Bieb.) Türkiye'de Akdeniz, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen ve bu bölgelerde sebze olarak tüketilen bir bitkidir. Çalışmamızda çirişin ve bazı kükürtlü bileşiklerin antioksidan aktiviteleri araştırıldı.

Bu çalışmada, çirişten hazırlanan sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin ve kükürtlü bileşiklerin (glutatyon, sistein, N-asetil sistein, homosistein, 1,4-ditiyoeritritol, sisteamin, metil metiyonin sülfonyum klorür, diallil sülfid ve α -lipoik asit) antioksidan aktiviteleri indirgeme gücü, bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC), hidroksi radikal giderme aktivitesi, ABTS radikal giderme aktivitesi, DPPH radikal giderme aktivitesi, DMPD radikal giderme aktivitesi, süperoksit anyon radikal giderme aktivitesi, ferri iyonu redükleyici antioksidan parametre (FRAP) ve metal kelatlama aktivitesi yöntemleri kullanılarak incelendi. Sonuçlar sentetik (butillenmiş hidroksianisol, Troloks) ve doğal standart antioksidanlarla (askorbik asit, epikateşin, gallik asit ve α -tokoferol) karşılaştırıldı. Ekstrelerin total fenolik ve flavonoit madde miktarları da tayin edildi.

Antioksidan aktivitenin, ekstrelerin ve kükürtlü bileşiklerin konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. Ekstrelerde genel olarak en yüksek antioksidan aktivitenin etil asetatlı ekstrede olduğu görüldü. En düşük aktivitenin ise sulu ekstrede olduğu bulundu. Diallil sülfidin, çalışılan kükürtlü bileşikler arasında genellikle en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edildi. Buna karşılık, metil metiyonin sülfonyum klorürün de en düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulundu.

Çirişin ve incelenen kükürtlü bileşiklerin antioksidan aktivite gösterdiği ve bunların antioksidan kaynağı olabileceği sonucuna varıldı.

SUMMARY

ANTIOXIDANT ACTIVITIES of *Eremurus spectabilis* Bieb. and SOME SULFUROUS COMPOUNDS

Eremurus spectabilis Bieb. is grown in Mediterranean, East and Southeast regions of Turkey, and this plant is commonly used as a vegetable in these regions. In this study, antioxidant activities of *Eremurus spectabilis* Bieb. and sulfurous compounds were investigated.

In this study, the antioxidant activity of water, ethyl alcohol and ethyl acetate extracts of *Eremurus spectabilis* Bieb. and sulfurous compounds (glutathione, cysteine, N-acetyl cysteine, homocysteine, 1,4-dithioerythritol, cysteamine, methyl methionine sulfonium chloride, diallyl sulfide, and α -lipoic acid) were investigated by different antioxidant tests including reducing power, cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC), hydroxyl radical scavenging, ABTS radical scavenging, DPPH radical scavenging, DMPD radical scavenging, superoxide anion radical scavenging activity, ferric ion reducing antioxidant parameter (FRAP) and metal chelating activities. Results were compared with synthetic antioxidants such as butylated hydroxyanisole and Trolox, with natural antioxidants such as ascorbic acid, epicatechin, gallic acid and α -tocopherol. Total phenolic and flavonoid contents of all extracts were determined.

It is found out that antioxidant activities of all extracts and sulfurous compounds increase in proportion to the concentration. In general, the highest antioxidant activity was found in ethyl acetate extract while the aqueous extracts were found to be the lowest antioxidant activity. Diallyl sulfide which studied sulfur compounds, was found to be generally the highest antioxidant activity. On the other hand, methyl methionine sulfonium chloride was also found with the lowest antioxidant activity.

It was determined that all extracts of *Eremurus spectabilis* Bieb. and the sulfurous compounds investigated show antioxidant activity and that could be considered as a source antioxidants.

1.GİRİŞ

Bilim insanlarının üzerinde en çok durdukları ve araştırmalarını yoğunlaştırdıkları konular arasında serbest radikaller ve antioksidan sistemler yer alır. Serbest radikallerin en önemlilerinden olan reaktif oksijen türleri, hücrelerin yaşamsal fonksiyonları sırasında doğal olarak üretilir. Öte yandan, hücreler kendilerini bu serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyacak savunma mekanizmaları da geliştirmişlerdir. Kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan bu antioksidan savunma mekanizmaları, enzimatik ve enzimatik olmayan savunma mekanizmaları olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Enzimatik antioksidanlar, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz gibi enzimlerden oluşur (Benzie, 2000). Enzimatik olmayanlar ise başlıca α -tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), β -karoten, polifenoller, glutatyon, sistein, lipoik asit ve N-asetil sistein gibi kükürtlü bileşiklerdir (Battin ve Brumaghim, 2009).

İnsan vücudunu serbest oksijen radikallerine karşı korumada doğal, fenolik ve kükürtlü bileşiklerce zengin meyve ve sebzelerin yararlı olduğu bilinmektedir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda bitkisel mikro bileşenlerin reaktif oksijen türlerine karşı yararlı olduğu; meyve ve sebzelerin koruyucu etkilerinin içerdikleri askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), karotenoidler, glutatyon, sistein, metiyonin gibi kükürtlü bileşikler, flavonoidler ve fenolik asidler gibi doğal bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Halvorsen ve diğ., 2002).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış reaktif oksijen türlerinin ve lipid peroksidasyonunun yaşlanma ile ilişkili olarak kalp-damar hastalıkları, ateroskleroz, diyabet, kanser, iskemi/reperfüzyon hasarı, hipertansiyon, romatoid artrit ve ayrıca Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir (Valko ve diğ., 2007). Bununla birlikte, günlük hayatımızda tükettiğimiz sebze ve meyvelerin miktarı ile söz konusu hastalıkların arasında ters bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Huang ve diğ., 2005). Serbest radikallerin hücrelerdeki oluşum

nedenlerinin, hangi tür moleküllere etki ettiklerinin ve hücrelerin serbest radikallere karşı geliştirdikleri antioksidan savunma mekanizmalarının aydınlatılmasının, günümüzde bilinen ve/veya bilinmeyen pek çok klinik olgunun patojenezine ışık tutacağı düşünülmektedir (Halliwell ve Grootveld, 1987).

Doğal olarak yetişen bitki türleri dünyanın diğer alanlarında bölgesel ekonominin gelişmesinde önemli bir rol oynamıştır. Eski çağlardan itibaren gıda kaynağı olarak yenilebilir bitki türleri kullanılmaktadır. Doğal olarak yetişen bitki türlerinin gıda olarak tüketilmesi halkımız için büyük önem taşımaktadır (Dogan ve diğ., 2004). Doğal bitki türlerinin mineral, lif, vitamin ve antioksidan bakımından zengin olması diyetdeki kullanımını da arttırmıştır. Buna ek olarak, antibakteriyel, antikarsinojenik, hepatoprotektif (Yıldırım ve diğ., 2001) ve antilipidemik (Bolkent ve diğ., 2001), antidiyabetik (Bolkent ve diğ., 2000), antiasetilkolinesteraz (Sacan ve Yanardag, 2010) antielastaz, antitirozinaz ve antilipooksijenaz (Onar-Celik ve diğ., 2012) özellikleri nedeni ile tıbbi değerleri de gün geçtikçe artmaktadır.

Epidemiyolojik çalışmalar gıdaların besleyici değerleri yanında insan sağlığı için faydalı etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Son yıllarda, bu alandaki araştırmalar gıdalardaki antioksidanları belirlemeye yoğunlaşmıştır. Özellikle meyve ve sebzeler, C vitamini, E vitamini, β -karoten gibi yüksek miktarda antioksidan madde içerdikleri için özel bir ilgi alanı oluşturmaktadır. Bu nedenle gıda ve biyolojik sistemlerde doğal olarak bulunan birçok molekülün antioksidan kapasitesinin çalışılması önem kazanmıştır.

Ülkemizde Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde doğal olarak yetişen ve halk arasında gerek besin, gerek gıda katkı maddesi olarak tüketilen çiriş (*Eremurus spectabilis* Bieb.), romatizma gibi hastalıkların tedavisinde şifa kaynağı olarak kullanılan çok yıllık, soğanlı ve otsu bir bitki türüdür. Çiriş bitkisi yıllardan beri uyuz ve frengi tedavisinde kullanılmıştır. Ayrıca *Eremurus* köklerinden hazırlanan bitki ekstraktlarının antitümör etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Xiao ve diğ., 2012).

Sülfür; amino asitlerin, proteinlerin, enzimlerin ve besin maddelerindeki mikro bileşenlerin yapısına katıldığı için organizmanın normal fizyolojik fonksiyonları için

gereklidir. İnsanlar, sülfür ihtiyaçlarını bitkisel ve hayvansal gıdalardan karşılarlar. Bu gıdalar süt, peynir, yumurta, sarımsak, soğanlı bitkiler (kuru soğan, yeşil soğan, Frenk soğanı, pırasa v.b) ve turpgiller gibi sebzeler ve meyvelerdir (Ip ve Ganther, 1992; Fleischauer ve Arab, 2001).

Kükürtlü bileşikler olan ve hücreler tarafından kullanılan glutatyon, sistein, N-asetil sistein ve bunların çeşitli türevlerinin antioksidan aktiviteleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada, HIV virüsü taşıyan insanlara gıda takviyesi olarak N-asetil sistein verilmesi sonucunda, bu kişilerin immün sistemlerinin güçlendiği bildirilmiştir (Beeh ve diğ., 2002). Kükürtlü bileşikler içeren sarımsak ve soğan gibi *Allium* türlerinin tüketilmesinin mide, kolon ve prostat kanserlerine karşı koruyucu etkiye sahip olduğu Fleischauer ve Arab (2001) tarafından gösterilmiştir. Kükürtlü bileşiklerin bakır ve demir gibi metallerle kompleks oluşturarak metal katalizli DNA hasarını inhibe ettiği belirtilmiştir (Battin ve Brumaghim, 2008)

Bu Doktora tez çalışmasında, *Liliaceae* (Zambakgiller) familyasına ait bir bitki olan çirişin (*Eremurus spectabilis* Bieb.), Anadolu halkı tarafından önemli bir besin maddesi olarak kullanılması, alternatif bir şifa kaynağı olduğuna inanılması, literatürde bu bitkinin antioksidan aktivitesi üzerine sınırlı sayıda araştırma yapılması nedeni ile, bitkiden hazırlanan sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin antioksidan aktiviteleri çeşitli antioksidan aktivite tayin yöntemleri kullanılarak araştırılması hedeflenmiştir. Çirişin soğanlı bir bitki olması ve yapısında kükürtlü bileşik içermesi sebebi ile bu çalışmada yapısında kükürt bulunan glutatyon (GSH), sistein (Cys), N-asetil sistein (NAC), homosistein (HCys), 1,4-ditiyoeritritol (1,4-DTE), sisteamin (CysNH₂), metil metiyonin sülfonyum klorür (U vitamini), diallil sülfid (DAS) ve α -lipoik asit (ALA) bileşiklerinin de antioksidan aktiviteleri tayin edilmiştir. Çalışmada çiriş ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ile kükürtlü bileşiklerin antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır.

2.GENEL KISIMLAR

2.1. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller atomik ya da moleküler orbitallerde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip atom ya da moleküllerdir. Bu ortaklanmamış elektron(lar) serbest radikalın oldukça reaktif ve kararsız olmasından sorumludur. Ortaklanmamış elektron, molekülün formülünde nokta şeklindeki bir simge ile (•) gösterilir (Gruhlke ve Slusarenko, 2012). Serbest radikaller küçük moleküllerdir, düşük aktivasyon enerjisine sahiptirler ve kısa ömürlüdürler. Boyutlarının küçük olması hücre membranlarından kolaylıkla geçmelerine olanak sağlar (Jensen, 2003). Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROT) veya diğer serbest radikaller ile antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması sonucunda oluşur. Neticede de bu dengesizlik hücrenin DNA, karbohidrat, membran lipidleri ve protein yapıları gibi en önemli kısımlarında oksidatif hasarlara, yani geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilir. Bu bakımdan oksidatif stresin oluşum sebeplerinin ve sonuçlarının insan sağlığı üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkiler önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı ile



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun ayrılması ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi sonucu kovalent bağı oluşturan her 2 elektronun atomlardan birinde kalması ile



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle

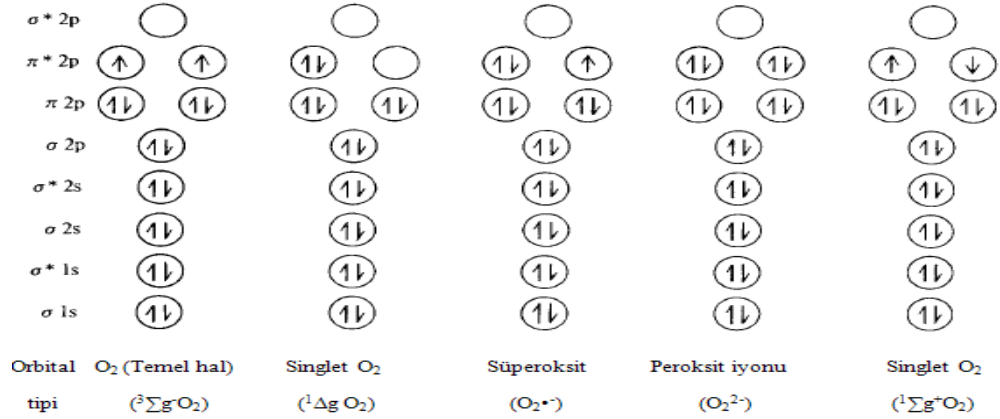


Serbest radikaller (+), (-) yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar. Oluşan bu serbest radikaller arasında en önemlileri oksijen kaynaklı serbest radikallerdir.

2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri

Aerobik organizmaların tamamında olduğu gibi en gelişmiş canlı olan insanların da canlılığını ve yaşamını idame ettirme sürecindeki oksijene olan zorunlu bağımlılığı, fizyolojik koşullar altındaki ROT'ların oluşumunu da kaçınılmaz kılmaktadır. Çünkü enerji gereksinimi oksidatif metabolizma reaksiyonları tarafından kontrol edilen tepkimeler sonucunda elde edilir ve bu süreçte de ROT oluşumu doğal olarak meydana gelmektedir (Valko ve diğ., 2007).

Atomlardaki elektronlar yörünge olarak bilinen boşluklarda hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur (Hurst ve diğ., 1997) (Şekil 2.1). Moleküler oksijen (O_2)'deki aynı yönde dönen 2 elektrona sahip 3p dış orbitali önem taşımaktadır.



Şekil 2.1. Moleküler oksijen ve bundan meydana gelen bazı oksidan moleküllerin elektron spin dizilişleri (Halliwell, 2006)

Orbitalerden birine veya ikisine ters dönüşlü bir ya da iki elektronun yerleşmesiyle radikal oluşmaktadır. Doğal oksijen molekülünden değişik sayıda oksidan molekül meydana gelebilmektedir.

Serbest radikal, oksidan molekül veya en doğru adlandırılması ile ROT, atomik veya moleküler yapıda eşlenmemiş tek elektron içeren ve bundan dolayı reaktif özellik gösteren moleküllerdir.

ROT'lar, Tablo 2.1'de de görüldüğü gibi, farklı serbest radikallerin meydana geldiği serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon ($R\bullet$) radikalleri,

tiyil radikalleri (RS•), sülfenil radikalleri (RSO•), tiyil peroksil radikalleri (RSO₂•) , hidroperoksil radikalleri, peroksil radikalleri, alkolsil radikalleri gibi farklı radikallerin oluşumuna sebep olabilirler (Halliwell, 2006; Gruhlke ve Slusarenko, 2012).

Tablo 2.1. Çeşitli serbest radikaller ve radikal olmayan reaktif türleri

Serbest Radikaller	Radikal Olmayan Reaktif Türleri
Reaktif Oksijen Türleri	Reaktif Oksijen Türleri
Singlet oksijen (¹ O ₂) ₂ Süperoksit radikali (O ₂ • ⁻) Hidroksi radikali (HO•) Alkoksil radikali (RO•) Peroksil radikali (ROO•) Hidroperoksil radikali (HO ₂ •) Karbonat radikali (CO ₃ •) Karbon dioksit radikali (CO ₂ •) Organik peroksit radikali (RCOO•) Nitrik oksit (NO•)	Ozon (O ₃) Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) Lipit hidroperoksit (LOOH) Organik peroksitler (ROOH) N-halojenli aminler (R-NH-X)
Reaktif Azot Türleri	Reaktif Azot Türleri
Azot dioksit (NO ₂ •) Diazot trioksit (N ₂ O ₃ •) Nitrat radikali (NO ₃ •) Nitrik oksit (NO•)	Nitrik asit (HNO ₂) Peroksi nitrik asit (ONOOH) Nitrosil katyonu (NO ⁺) Nitronyum katyonu (NO ₂ ⁺) Nitrosil anyonu (NO ⁻) Alkil peroksi nitritler (ROONO) Diazot tetra oksit (N ₂ O ₄) Alkil peroksi nitratlar (RO ₂ ONO) Peroksi nitrit (ONOO ⁻) Nitril klorür (NO ₂ Cl) Peroksi nitrat (O ₂ NOO ⁻) Peroksi asetil nitrat [CH ₃ C(O)OONO ₂]
Reaktif Sülfür Türleri	Reaktif Sülfür Türleri
Tiyil radikali (RS•) Sülfenil radikali (RSO•), Tiyil peroksil radikali (RSO ₂ •) Disülfid radikal anyonu (RSSR)• ⁻	Tiyol (RSH) Disülfid (RSSR) Sülfenik asit (RSOH) Tiyosülfinat (Disülfid-S-monoksit) (RS(O)SR) Tiyosülfonat (Disülfid-S-dioksit) (RS(O) ₂ SR)
Reaktif Klor Türleri	Reaktif Klor Türleri
Klor radikali (Cl•)	Hipoklorik asit (HOCl) Klor gazı (Cl ₂) Nitril klorit (NO ₂ Cl) Brom klorür (BrCl) Kloraminler Klor dioksit (ClO ₂)
Reaktif Brom Türleri	Reaktif Brom Türleri
Brom radikali (Br)	Hipobromik asit (HOBr) Brom gazı (Br ₂) Brom klorür (BrCl)

2.1.1.1. Süperoksit Anyon Radikali

Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin tek elektron alarak indirgenmesi sonucunda meydana gelir (Halliwell, 1990).



İndirgenmiş geçiş metallere otoksidasyonu, süperoksit radikali meydana getirebilir.

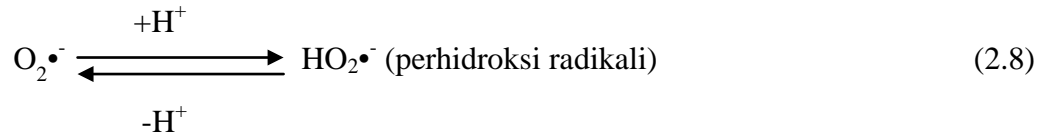


Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermemekle birlikte önemli özelliği, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.

Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin sitokrom c ya da nitrobluetetrazolyum (NBT) ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur.



Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali (HO_2^{\bullet}) oluşturmak üzere protonlanır.



Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir.

Süperoksit radikali 0.05 saniye (s) gibi uzun bir yarılanma ömrüne sahip olduğu için, ortamda radikal tutucunun olmaması durumunda (antioksidan molekül) glutatyon peroksidaz (GP_x) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan savunma sistemine dahil olan bazı enzimleri de inhibe eder (Fridovich, 1983; Benov, 2001).

2.1.1.2. Singlet Oksijen

Moleküler oksijenin orbitallerindeki herhangi bir elektron, bir orbitalden diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde farklı şekilde döndüğünde singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) oluşmaktadır. Sigma (σ) ve delta (δ) olmak üzere 2 şekli vardır. Sigma formunda zıt spinli elektronlar ayrı orbitallerde bulunurken, delta formunda elektronlar aynı orbitallerdedir. Singlet oksijen eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal özellik göstermemesine rağmen, ROT arasında yer alır ve moleküler oksijenin aksine 10^{-5} s olan yarı ömrü ile çok reaktiftir. Ultraviyole radyasyon ve ozon gibi çevresel ajanlar singlet oksijen üretebilir; peroksil radikallerinin, peroksinitrit reaksiyonları ve H_2O_2 reaksiyonlarının sonlandırılması, peroksidaz-aracılı reaksiyonlar da singlet oksijen üretir. Singlet oksijen, uyarılmasına neden olan enerjisini çevresindeki çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve DNA'daki guanin bazı gibi moleküllerin çifte bağlarına aktarmak suretiyle gösterir (Stahl ve Sies, 1993).

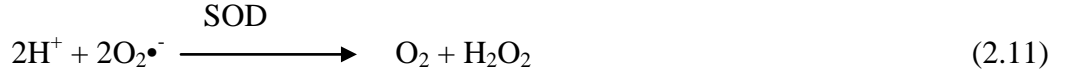
2.1.1.3. Hidrojen Peroksit

Oksidatif solunumdaki metabolizma reaksiyonlarında doğal olarak üretilen hidrojen peroksit (H_2O_2), eşleşmemiş elektronu olmadığından radikal özellik göstermeyen diğer bir ROT türüdür. Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin 2H^+ ile birleşmesi ile oluşabildiği gibi (2.9), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması sonucu da oluşabilir (2.10).



Hidrojen peroksit, uzun ömürlü bir oksidan olup, hücre membranlarından kolaylıkla geçebilme özelliğine sahiptir.

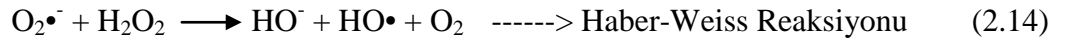
Serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynayan H_2O_2 'in, biyolojik sistemdeki asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon sonucunda radikal olmayan ürünler meydana geldiği için söz konusu bu tepkime dismutasyon tepkimesi olarak bilinir.



Bu dismutasyon reaksiyonu pH:4.8'de çok hızlı bir şekilde kendiliğinden gerçekleşir ya da nötral veya alkali pH'da SOD enzimi tarafından katalizlenir. "Haber-Weiss Reaksiyonu" adı verilen bu reaksiyon 2 şekilde gerçekleşebilir (Akkuş, 1995).

1. Katalizörsüz : Oldukça yavaş ilerler.
2. Katalizörlü : Fe^{3+} ile katalizlenen bu reaksiyon oldukça hızlıdır.

Burada önce ferri demir (Fe^{3+}), süperoksit tarafından ferro demir (Fe^{2+})'e indirgenir.



Buradan da anlaşılacağı üzere süperoksit radikali, hem H_2O_2 kaynağı hem de geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. Bu özelliğinden dolayı hidrojen peroksit, "Hem" grubundaki ferro demiri ferri demire oksitler. Bu nedenle H_2O_2 , organizmada katalaz ve peroksidaz enzimleri tarafından suya ve oksijene parçalanır.



2.1.1.4. Hidroksi Radikali

Hidroksil iyonunun nötral şekli olan hidroksi radikali ($\text{HO}\cdot$), organizmada birkaç yolla oluşur. Suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalmasıyla oluştuğu gibi, hidrojen peroksitin, geçiş metalleri varlığında indirgenmesi (Fenton veya Fenton benzeri reaksiyonlar) sonucu da oluşabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Hidroksi radikali yarı ömrü oldukça kısa olan (10^{-9} s), bilinen en güçlü ve zararlı etkiye sahip oksidan moleküldür. Meydana geldiği yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi moleküllerden 1 H^+ kopararak tiyil radikalleri ($\text{RS}\cdot$), C merkezli organik radikaller ($\text{R}\cdot$), organik peroksitler gibi yeni radikallerin oluşumuna neden olur. Sonuçta da ortaya lipid

peroksidasyonu, protein-karbonil oluşumu, DNA'da zincir kırılması, DNA bazlarında modifikasyon ve çapraz bağlanmalar gözlenir (Lloyd ve diğ., 1997).



2.1.1.5. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri

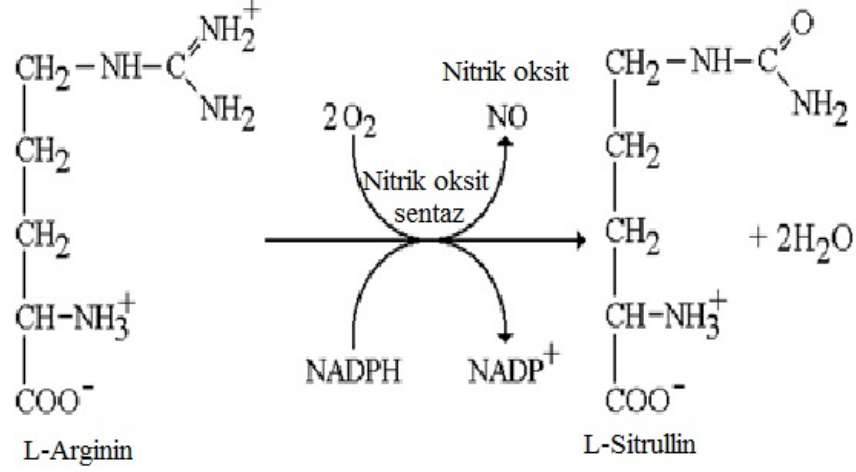
Peroksil radikalleri, lipit peroksidasyonu sürecinde PUFA'dan bir H atomu ayrılması sonucunda oluşur ve hem süperoksit hem de hidroksi radikallerinden daha uzun ömürlüdür. Peroksil radikali hücrede difüzyon ile yer değiştirerek hücrenin farklı yerlerinde peroksidasyonu başlatabilir. Lipit peroksidasyonunun daha ileri ki aşamalarında ise alkoksil ve diğer hidroperoksil radikalleri oluşur (Gülçin, 2012).

2.1.2. Reaktif Azot Türleri

Reaktif azot türleri (RAT), nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$), peroksinitrit (ONOO^-), diazot trioksit (N_2O_3), S-nitrosoglutasyon (GSNO), azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$), nitrozil katyonu (NO^+) gibi ilgili moleküllerden oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2001).

2.1.2.1. Nitrik Oksit Radikali

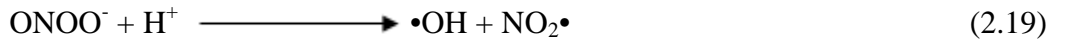
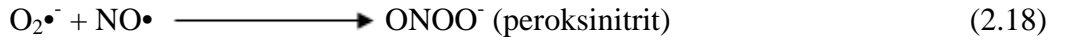
İnsanlar dahil olmak üzere memelilerde önemli bir hücre sel haberci (sinyal iletimi) molekülü olan nitrik oksit radikali ($\text{NO}\cdot$), birçok fizyolojik ve patolojik süreçte görev alır (Hou ve diğ., 1999). Radikal olan nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) L-arginin amino asidinden NO sentaz enziminin katalitik etkisiyle oluşur (Şekil 2.2). Ayrıca, aktive edilmiş makrofajlar tarafından da üretilen nitrik oksit, bağışıklık sisteminde de görev alır. Kan-beyin bariyerini geçerek düz kasların gevşemesinde ve damarlardaki kan basıncının düşürülmesinde önemli etkisi vardır. NO fazlalığı sitotoksik etkiye sahiptir (Gülçin, 2012).



Şekil 2.2. Nitrik oksit radikalinin L-arginin'den oluşumu

2.1.2.2. Peroksinitrit

Nitrik oksidin süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu oluşan peroksinitrit (ONOO^-), nitrik oksidin toksisitesinden sorumlu başlıca bileşiktir. Oldukça güçlü bir yükseltgeyici ajan olup birçok biyolojik materyali doğrudan etkiler. Proteinlerdeki $-\text{SH}$ gruplarını oksitleyerek direkt zarar verebilir. Ayrıca fizyolojik pH'da protonlanabilir ve güçlü bir lipid peroksidasyon başlatıcısı olan azot dioksiti ($\text{NO}_2\bullet$), hidroksi radikalini ($\text{HO}\bullet$), fenilalanin, tirozin gibi aromatik halkaları, nitrolama ajanı olan nitronyum iyonunu (NO_2^+) oluşturabilir. (Murray ve diğ., 1996; Karabulut, 2001).



2.1.3. Reaktif Kükürt Türleri

Sülfür merkezli radikaller üzerine son yıllarda yapılan araştırmaların sayısı gittikçe artmıştır.

2.1.3.1. Tiyil Radikalleri

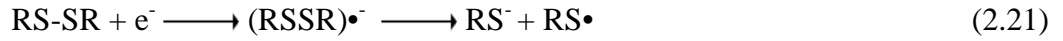
Alifatik tiyoller (RSH) canlılarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu RSH grupları, toksik ajanlar, çeşitli enzimatik reaksiyonlar ve C-H bağlarının kopmasıyla oluşan C merkezli radikallerin ($\text{C}\bullet$) ortadan kaldırılması için gerekli olan en iyi H atomu vericileridir (Ferreri ve diğ., 2005). RSH grupları, Shahid-Akhlaq ve diğ. (1987) tarafından "iki ucu keskin kılıç" olarak değerlendirilmiştir. Çünkü tiyoller, karbohidratlar (Pogocki ve Schöneich, 2001), amino asitler (Nauser ve Schöneich,

2003) ve lipidler gibi önemli biyomoleküllerin maruz kaldıkları serbest radikal saldırılarına karşı tiyil radikaline (RS•) dönüşerek, söz konusu biyomolekülleri onarıcı birer ajan gibi davranırlar (Ferreri ve diğ., 2005).

Tiyil radikali, disülfid bağlarına sahip bir kaynaktan (2.20) ve (2.21)'deki reaksiyonlarda gösterildiği gibi oluşabilir.

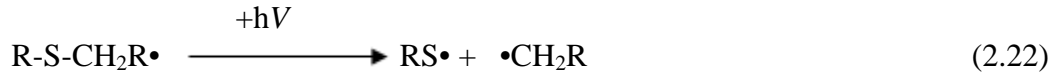


Burada önce serbest radikal varlığında sülfür-sülfür bağı kopar.



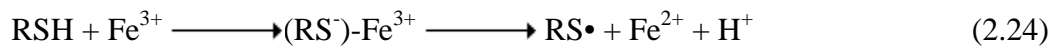
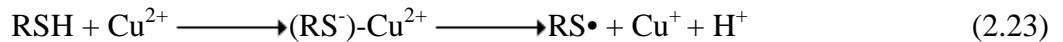
İkinci reaksiyonda ise, disülfür bağına tek elektron katılarak önce disülfid radikal anyonu, sonra da tiyolat ve tiyil radikali oluşur.

Tiyil radikalleri, tiyoester ve tiyoeter grupları da dahil olmak üzere UV ışınları ile fotoliz reaksiyonu sonucunda da oluşur (2.22).



Burada da C-S bağının direkt homolizi ile tiyoester grubundan tiyil ve C merkezli radikal oluşumu verilmiştir.

Tiyil radikalleri, tiyol gruplarının demir veya bakır iyonları varlığında yükseltgenmesiyle de oluşur.



Tiyil radikalleri, proteinlerdeki disülfid bağlarının homolitik yıkılmasıyla da oluşabilir. Tiyil radikalleri, oldukça reaktiftirler ve oksijen molekülüyle birleşebilirler.

2.1.4. Reaktif Karbon Türleri

Bu reaktif serbest radikallerin oluşumu, karbon tetraklorür (CCl₄)'e maruz kalmış dokularda gözlenmektedir. Sitokrom P₄₅₀ sistemi, oksijenle birlikte reaksiyona girerek çeşitli serbest radikalleri meydana getiren triklorometil (•CCl₃) radikalini oluşturur (Leray, 2011).

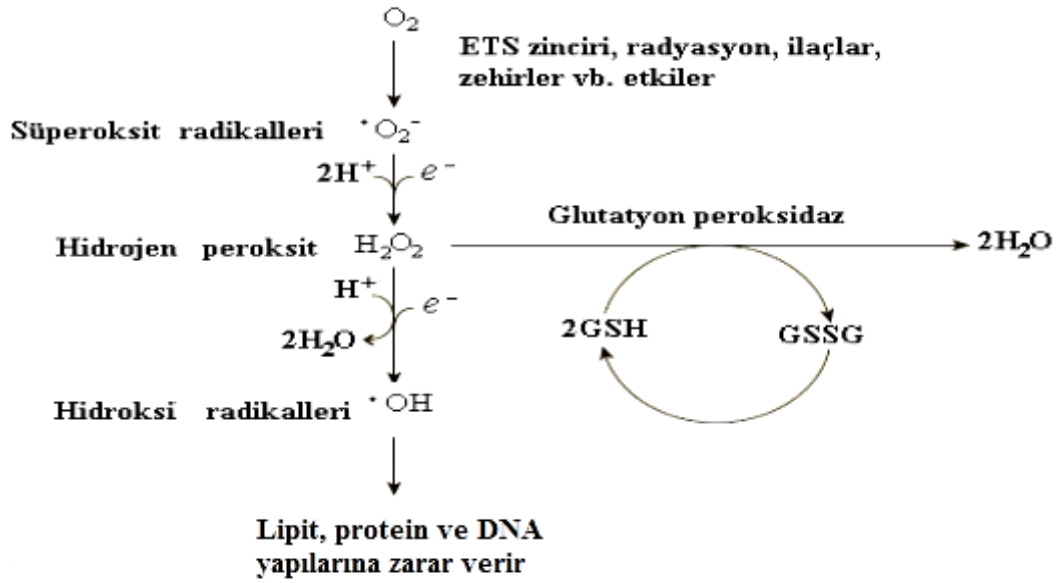
2.2. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen kaynaklı meydana gelen serbest radikallerdir (Akkuş, 1995). Reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olan kaynaklar ikiye ayrılmaktadır. Bunlar Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Serbest radikal kaynakları (Nelson ve Cox, 2004; Gürdöl ve Ademoğlu, 2006)

Eksojen Kaynaklar	Endojen Kaynaklar
Organik Çözücüler	Oksijenli Solunum
İlaçlar	Mitokondriyal Elektron Taşıma Zinciri
Anestezikler	Oksidatif Stres
Güneş Işınları (UV)	Araşidonik Asit Metabolizması
Radyasyon (X-Işınları)	Fagositik Hücreler (Nötrofiller, Makrofajlar, Monositler)
Egzoz Gazları	Kronik Hastalıklar
Sigara Dumanı	Oksidan Enzimler
Fazla Yağlı Beslenme	Plazma Membranı
Alkol Tüketimi	Geçiş Metalleri
Pestisidler	Malabsorpsiyon
Ozon	Ağır Egzersizler
Kirleticiler	Otoksidasyon Reaksiyonları

Eksojenik ve endojenik serbest radikallerin ve reaktif türlerin oluşumu Şekil 2.4'te de ayrıca gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu (Nelson ve Cox, 2004)

2.3. SERBEST RADİKALLERİN FİZYOLOJİK ETKİLERİ

2.3.1. Serbest Radikallerin Yararlı Etkileri

21. yüzyılda, yapılan araştırmaların çoğu, canlı organizmaların serbest radikallerin yararlı kullanımını için bazı mekanizmalar geliştirmiş olduğunu göstermektedir. İlmli konsantrasyonlarda üretilen ROT ve RAT hücrel yapıların olgunlaşma süreci için gereklidir, insan sağlığı için hayati öneme sahiptir ve bağışıklık sistemi için kalkan olarak hareket edebilir. Nötrofiller, makrofajlar ve monositlerin de dahil olduğu fagositik hücreler, hastalıklara karşı vücudun savunma mekanizmasının bir parçası olarak $O_2\cdot^-$ ve $NO\cdot$ üreterek patojenlere karşı serbest radikalleri kullanırlar. Bundan başka, vücudun normal metabolizması sırasında doğal olarak üretilen serbest radikallerin bazıları hücrel sinyal iletiminde ikincil haberci olarak görev yaparlar (Reddy ve diğ., 2010).

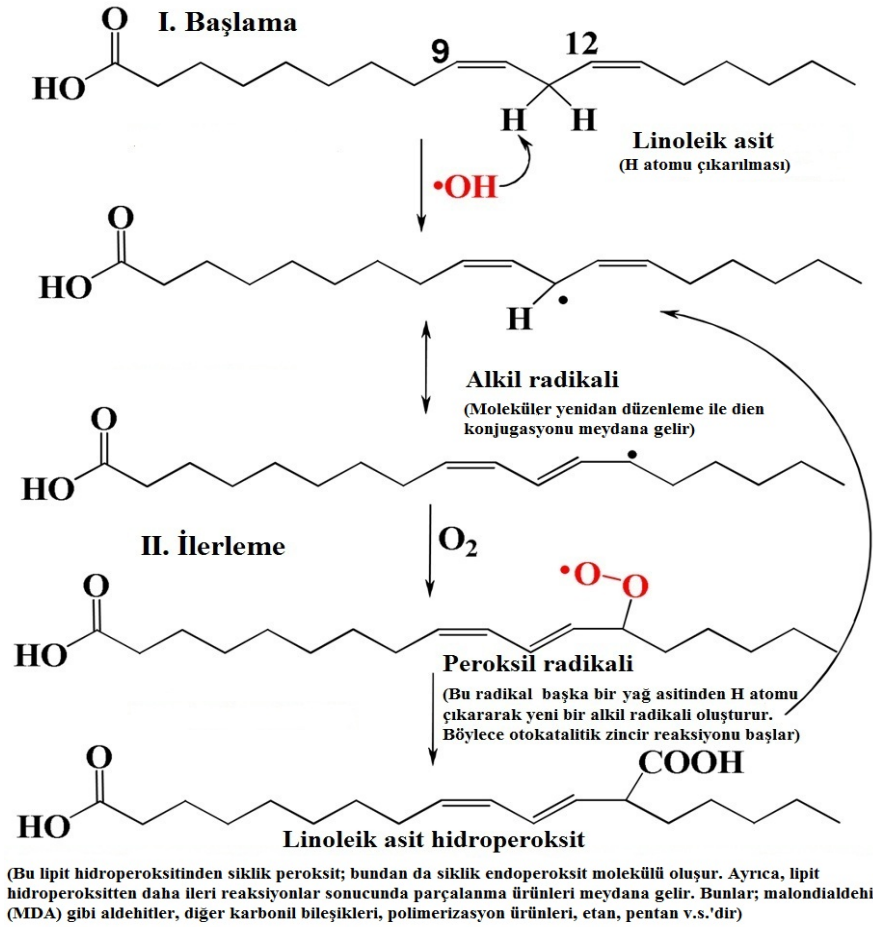
2.3.2. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri

Fizyolojik şartlar altında serbest radikaller sürekli üretilirler ve hücrel fonksiyonlar için gereklidir. Ancak, bu serbest radikallerin üretilme hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasında hassas bir denge vardır ve buna "oksidatif denge" adı verilir. Bazen antioksidan savunma sistemlerinin ortadan kaldıracılabileceğinden fazla ROT meydana gelir. Bu durum "oksidatif stres"e yol açar. Oksidatif stres "organizmadaki oksidan-antioksidan

dengesinin oksidanlar yönüne kayarak, hücre hasarına yol açması" şeklinde tanımlanır. Oksidatif stres durumunda reaktif oksijen ve azot türlerinin miktarında artış olur ve dolayısıyla bu ürünlerin reaksiyon hızları artar. Bu durumdan başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere metabolizmadaki birçok sistem olumsuz etkilenir (Halliwell, 2006).

2.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Serbest radikallerin lipidler üzerindeki en önemli etkileri lipit peroksidasyonunun (LPO) uyarılmasıdır. LPO, serbest radikaller tarafından başlatılan ve hücre membranlarındaki fosfolipidlerin yapısına katılan PUFA'nın oksidasyonuna yola açan kimyasal bir süreç olup, kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonları şeklinde ilerler (Şekil 2.5). Buna non-enzimatik lipit peroksidasyonu da denir (Gutteridge, 1995). Süperoksit radikali, hidroksi radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikali, LPO'yu başlatan başlıca radikallerdir (Reddy ve diğ., 2010).



Şekil 2.5. Hidroksi radikali tarafından başlatılan linoleik asit peroksidasyonunun mekanizması

(Lu ve diğ., 2010)

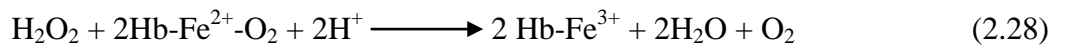
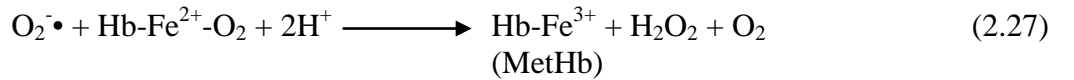
Hücre membranlarında lipit peroksidasyonu sonucunda hücrenin transport sistemi etkilenir, hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozulur. Bunun sonucunda da hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak da proteazlar aktive olur. Bu olaylar hücre hasarında etkin bir rol oynar. Ayrıca LPO'nun son ürünü olan aldehitler de (MDA) sitotoksik etkilere sahiptir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).

2.3.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Serbest radikaller proteinler üzerine doğrudan ya da dolaylı olarak etki gösterebilirler. Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlı olup, PUFA'ya kıyasla daha az etkilenirler. Protein oksidasyonu, özellikle triptofan, tirozin, prolin, arginin, lizin, fenilalanin, histidin gibi amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumu ile meydana gelir. Çünkü doymamış bağ ve kükürt (-SH grubu) ihtiva eden moleküllerin serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girme eğilimi yüksektir. Bunun sonucunda, özellikle kükürt radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu reaksiyon sonucu immünoglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfür bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur, böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (Akkuş, 1995).

LPO ürünlerinden olan MDA, sisteinin -SH grubu ile veya lizin, histidin ile kovalent bağlar oluşturarak proteinlerde çapraz bağlanmalara ve denatürasyona neden olurlar. Dolayısı ile de proteinlerin fonksiyonları da bozulur.

Hemoglobin gibi, "Hem" proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin, O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu methemoglobin (MetHb) oluşur.



Proteinin yapılarındaki hasarın belirlenmesinde "Protein-karbonil"lerin ölçülmesi yaygın olarak kullanılır (Akkuş, 1995).

2.3.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve DNA Üzerine Etkileri

DNA ve nükleik asitler serbest radikallerden çok kolay etkilenirler. İyonize edici radyasyonla meydana gelen serbest radikaller, hücrede mutasyon ve ölüme sebep olur.

Singlet oksijen ve özellikle hidroksi radikali, deoksiriboz ve diğer bazlarla reaksiyona girerek, tek ve çift zincir kırılmalarına, baz dizilim değişikliklerine ve baz eksilmelerine neden olabilir. Özellikle nötrofil kaynaklı H_2O_2 , membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşabilir ve ortamdaki metal iyonları ile etkileşerek hidroksi radikali oluşturabilir. Hidroksi radikali nükleik asitlerdeki doymuş karbon atomlarından hidrojen atomu çıkarılması veya çift bağlara katılma tepkimeleri ile sonuçlanan süreçlerde rol alır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak baz hasarları gösterilmektedir. Cu^{2+} iyonları DNA'da guaninsitozin'den zengin bölgelerde bulunduğu için oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz guanindir. Bu nedenle en fazla ölçülen baz hasarı 8-hidroksi-2'-deoksiguanozindir (8-OHdG). Bütün bunlar hücrede mutajenez, karsinogenez, hücre disfonksiyonuna veya ölüme yol açar (Halliwell ve Gutteridge, 1995; Valko ve diğ., 2007).

2.3.2.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbohidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 , peroksidler ve oksoaldehidler oluşur. Oksoaldehidler ise DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliğine sahiptir. Bu sayede kanser ve yaşlanma gibi olaylarda rol alırlar (Akkuş, 1995., Valko ve diğ., 2007).

2.4. ANTIOKSİDANLAR VE ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Son yıllarda fizyoloji, farmakoloji, gıda ve gıda endüstrisi gibi alanlarda antioksidanlar üzerine yapılan araştırmalar, antioksidanların öneminin gittikçe arttığını göstermektedir. Öyle ki, "antioksidan" ifadesi uluslar arası arenada kabul edilmiş bir tanım ile sınırlanmamıştır. Gıda endüstrisinde antioksidanlar, "kolaylıkla okside olabilen besin maddelerinin oksidasyonu sonucunda, bu maddelerin tatlarının acılaştırılmasını, ekşimesini ve kokularının bozulmasını önleyebilen, geciktirebilen veya durdurabilen maddeler" olarak tanımlanmıştır (Becker ve diğ., 2004). Lipidlerden başka

karbohidratlar, proteinler ve DNA gibi okside olabilen diğer tüm makromolekülleri de kapsayan diğer bir tanım, Halliwell ve Gutteridge (1995) tarafından, "yükseltgenabilir özellikteki bir substratla kıyaslandığında, düşük konsantrasyonlarda söz konusu substratın oksidasyonunu geciktiren ya da inhibe eden moleküller" şeklinde ifade edilmiştir. Fakat daha sonra bu terim Halliwell (2007) tarafından "aynı substratın hedef molekülde oluşturduğu oksidatif hasarı azaltan, geciktiren veya engelleyen maddeler" şeklinde verilmiştir. Aynı yıl, "doğrudan reaktif oksijen türlerini temizleyen ya da dolaylı olarak antioksidan savuma mekanizmasını uyaran veya reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inhibe eden maddeler" şeklinde tanımlanmıştır (Khlebnikov ve diğ., 2007).

Antioksidanlar, gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besin değerlerini muhafaza etmek amacıyla sonradan da ilave edilebildikleri gibi, besin maddelerinde doğal olarak da bulunurlar. Bunlar besinlerin tatlarının acılaşmasını, ekşimesini ve kokularının bozulmasını geciktirici özelliğe sahip bir grup kimyasal madde olup özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir. Bir antioksidanın, besin maddelerinde kullanılmadan önce sağlığa zararı olmadığı kesin olarak saptanmalıdır (EFSA, 2012). Piyasada en çok kullanılan sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer bütül hidrokinon (TBHQ)'dur (Türk Gıda Kodeksi, 2008).

İndirgeyici özellik gösteren antioksidanlar prooksidan olarak etki edebilirler. Ortamdaki antioksidan madde konsantrasyonunun artması ile oksidasyonun aynı oranda önlenmesi arasında doğru orantının olduğunu düşünmek yanlıştır. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda fenolik antioksidanlar, antioksidan özelliklerini yitirirler ve oksidasyonu hızlandırıcı etki gösterirler (Laughton ve diğ., 1989). Bu etkiye "prooksidan etki" denir.

Prooksidanlar, ROT'ları oluşturarak ya da antioksidan sistemleri inhibe ederek oksidatif strese neden olan kimyasallardır (Puglia ve Powell, 1984). Prooksidanların ve antioksidanların metabolitik yollardaki ve hücrelerin korunmasındaki hayati rolü hiç şüphe yok ki elzemdir. Ancak, son yıllarda bazı araştırmalardaki birbiri ile çelişen

ifadeler, bilim insanlarını daha detaylı araştırmaya zorlamıştır. Serbest radikaller prooksidan olarak kabul edilirken, antioksidanların da prooksidan etki gösterebilmeleri şaşırtıcıdır (Carocho ve Ferreira, 2013). Örneğin, C vitamininin yüksek konsantrasyonlardaki antioksidan aktivitesinin yanında, düşük konsantrasyonlarda prooksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. C vitamini H_2O_2 gibi oksidan molekülleri indirgediğinde antioksidan aktiviteye sahiptir (Duarte ve Lunec, 2005; Du ve diğ., 2012), fakat C vitamini metal iyonlarını da indirger ve indirgenme ile oluşan katyonlar Fenton reaksiyonu aracılığıyla serbest radikal oluşturlar.

Bir antioksidanın aktivitesi şu faktörler ile belirlenir:

- Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterebildiği reaktivite (Genelde serbest radikalleri indirmeye potansiyeline bağlıdır).
- Antioksidandan türeyen radikalın akıbeti.
- Diğer antioksidanlarla etkileşim yeteneği.
- Geçiş metali kelatlama potansiyeli (Magalhães ve diğ., 2008).

Antioksidanlar hücrelere zarar veren serbest radikalleri ve ROT'ların neden oldukları hasarı hücre içi (enzimatik) ve hücre dışı (enzimatik olmayan) savunma ile etkisiz hale getirirler (Tarpey ve diğ., 2004). Hücre içi savunma süperoksit dismutaz, glutatyon S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidaz gibi enzimler tarafından sağlanırken, hücre dışı savunma ise albümin, bilirübin, transferrin, seruloplazmin, ürik asit, koenzim Q10 gibi çeşitli moleküllerle sağlanır (Carocho ve Ferreira, 2013).

Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma, hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini gösterirler. Bir başka deyişle serbest radikalleri nötralize ederek organizmanın bunlardan etkilenmemesini veya kendisini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Antioksidanların etki tipleri 4'e ayrılır (Akkuş, 1995):

- Toplayıcı (Scavenging) Etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirmeye toplayıcı etki denir. Süperoksit

dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) gibi enzimler; EDTA, fitik asit gibi metal kelatlayıcıları örnek olarak verilebilir.

- Bastırıcı (Quencher) Etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara 1 hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale getirme bastırıcı etki olarak bilinir. Antioksidan vitaminler (E ve C), flavonoidler, antosiyaninler ve mannitol örnek olarak verilebilir.
- Onarıcı (Repair) Etki: ROT'ların oluşturduğu hasarın onarılmasıdır.
- Zincir Kırıcı (Chain Breaking) Etki: Reaktif oksijen türlerini kendilerine bağlayarak zincirleme olarak devam eden reaksiyonların belirli yerlerden kırılıp radikallerin fonksiyonlarını engelleme işlemidir. Hemoglobinin, seruloplazmin, bilirubin, ürik asit ve mineraller örnek olarak verilebilir.

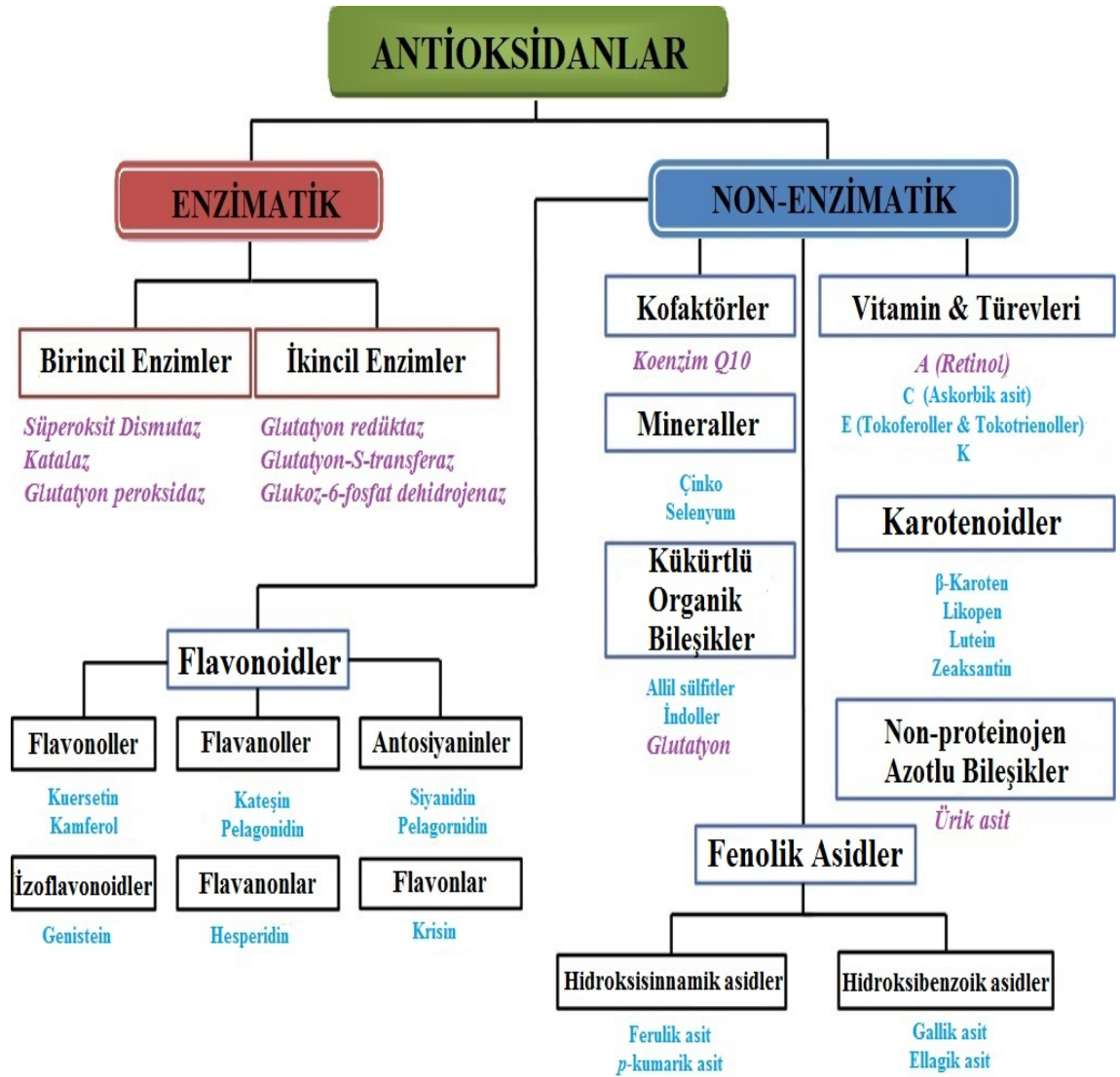
2.5. ANTIOKSİDANLARIN SINIFLANDIRILMASI

Antioksidanlar için birden fazla şekilde sınıflandırma yapmak mümkündür. Endojen (doğal) ve eksojen kaynaklı olarak sınıflandırılabilirler gibi, enzimatik ve non-enzimatik (enzim olmayanlar) olarak da sınıflandırılabilirler (Şekil 2.6). Hücrelerin hem sıvı hem de membran fazlarında bulunabilirler.

İnsanlardaki antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılır. Enzimatik savunma sistemi de kendi arasında birincil ve ikincil; non-enzimatik savunma ise flavonoidler, fenolik asitler, vitaminler, karotenoidler, mineraller, kofaktörler, non-proteinojen azotlu bileşikler ve organosülfür bileşikleri gibi alt gruplara ayrılabilirler.

2.5.1. Doğal Antioksidanlar

İnsan beslenmesinde, antioksidan aktiviteye sahip ve ROT'ları yapısal özelliklerine göre temizleyebilen bir dizi farklı bileşikler bulunmaktadır. Diyetteki antioksidanların en önemli temsilcileri flavonoidler, C vitamini, tokoferoller ve karotenoidlerdir. Yalnızca C vitamininden farklı olarak, bu gruptaki antioksidanların her biri yapısal olarak farklılık gösteren bir dizi bileşikten oluşur. Doğal antioksidanlar bitkinin bütün kısımlarında bulunabilen fenolik ve polifenolik bileşiklerdir.



Şekil 2.6. Doğal antioksidanların sınıflandırılması (Carocho ve Ferreira, 2013)
(Mor renkli yazılanlar endojen antioksidanları gösterirken, açık mavi renkli olanlar eksojen antioksidanları belirtmektedir.)

2.5.1.1. Polifenolik Bileşikler

Polifenoller, fitokimyasalların en geniş sınıflarından biridir (Tsao, 2010). Bitkiler aleminde oldukça geniş çapta yer almaktadırlar. Polifenollerin aktivitelerini, kimyasal yapılarındaki hidroksil grupları belirler. Bu nedenle de güçlü antioksidanlardır. Bitkisel kaynaklı polifenoller, hidrojen atomu verici, singlet oksijeni süpürücü ve indirgeyici gibi birden fazla fonksiyona sahiptir. Bazı polifenoller ise antioksidan özelliklerini metal iyonlarını kelatlama özelliklerine borçludurlar. Bir polifenolun antioksidan olarak tanımlanabilmesi için iki ana özelliğe sahip olması gerekmektedir (Cadenas ve Packer, 2002).

Bunlar;

- a. Yükseltgenebilen substratlara oranla düşük konsantrasyonlarda bulduklarında, otooksidasyonu veya serbest radikal merkezli oksidasyonu geciktirebilmeli veya önleyebilmelidir.
- b. Giderme işlemi sonunda oluşan radikal, oksidasyon zincir reaksiyonunu kesmekte kararlı olmalıdır.

Polifenolik antioksidanlar (PPH), peroksi radikale (ROO•) hızlı bir şekilde hidrojen atomu vererek, bu radikali alkil hidroperoksit (ROOH) yapısına dönüştürürler. Böylece lipit peroksidasyonunu inhibe eder (2.29).

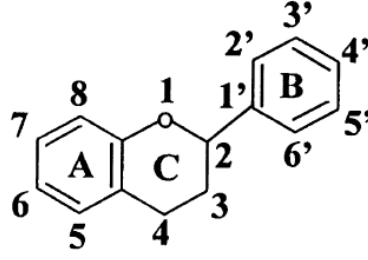


Oluşan polifenol radikali bir başka hidrojen daha atomu vererek, kinonların oluşumu ile kararlı hale gelmekte veya fenoksil radikali gibi başka bir radikal ile reaksiyona girerek yeni bir zincir reaksiyonunu başlamadan kesmektedir. Besin fenolikleri; flavonoidler, fenolik asidler, fenolik polimerler (tanenler) olmak üzere üç sınıfa ayrılır:

A. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerin ortak bileşenleridir. Çeşitli bitkilerin kök, gövde, yaprak, tohum ve meyvelerinden şu ana kadar 8000'den fazla polifenolik bileşik izole edilmiş olup, bunun 4000'den fazlasını flavonoidler oluşturmaktadır (Harborne, 1986; Friedli, 2011).

Flavonoidler, fenolik ve pıran halkalarından oluşan benzo- γ -pıran türevleri olup, bitki fenollerinin en geniş sınıfını oluştururlar. Flavonoidlerin temel yapısında 15 karbonlu flavan çekirdeği bulunur. Flavonoidlerin molekül yapıları, aromatik A halkasına birleşik halde bulunan heterosiklik C halkası ve bu C halkasına 2, 3 veya 4 pozisyonundan bağlı ikinci aromatik B halkasından oluşur (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Flavonoit çekirdeğinin 15 karbonlu temel yapısı
(Heim ve diğ., 2002)

Bu halkalara bağlanan çeşitli fenolik hidroksil grupları, bu yapıların antioksidan aktivite göstermelerini sağlar. Farklı türdeki bitkilerde veya aynı bitkinin değişik kısımlarında bulunan flavonoidlerin büyük yapısal farklılıkları vardır.

Diyetteki flavonoidlerin çoğu doğada *O*-glukozidleri şeklinde bulunur. Bu glukozidik birimler ise genellikle glukozdan ibarettir. Ancak, glukoramnoz, ramnoz, galaktoz, lignin ve arabinoz gibi örnekleri de vardır.

Flavonoidlerin yapısındaki aromatik A ve B halkalarına bağlanan çeşitli fenolik hidroksil grupları (fenolik hidroksiller) flavonoidlerin antioksidan aktivite göstermesini sağlarlar. Aromatik halkalardaki fenolik hidroksil gruplarının farklı şekilde bağlanmaları sonucunda flavonoidler, indirgeyici özellik, hidrojen vericisi, metal kelatlayıcı, singlet oksijeni bastırıcı, süperoksit radikali giderici olarak hareket edebilirler. Bu sayede de lipid peroksidasyonunu engelleme, reaktif oksijen türlerini içeren diğer süreçleri azaltma özellikleri vardır. Flavonoidler ayrıca, antioksidan enzimleri aktive ederler, α -tokoferolden tokoferoksil radikalinin oluşumunu azaltırlar (Procházková ve diğ., 2011).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, flavonoidlerin biyolojik aktivitelerinin daha net anlaşılmasını sağlamıştır. Antioksidan, serbest radikal süpürücü ve antienflamatuvar etkilerinin yanı sıra, farklı enzimlerin aktivitelerini arttırarak ve spesifik reseptörlerle etkileşerek de insan sağlığına faydalı oldukları gösterilmiştir. Flavonoidler, ayrıca antiviral, antitrombotik, antiallerjik ve vazodilatör etkiler de gösterirler, bakır ve demir gibi metal iyonlarını kelatlama özelliğine de sahiptirler. Flavonoidlerin ateroskleroz, tromboz ve karsinogenez olaylarında önemli etkisi olduğu düşünülen LDL

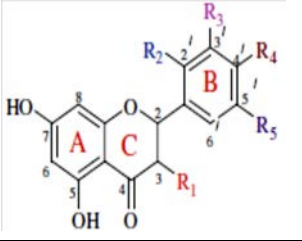
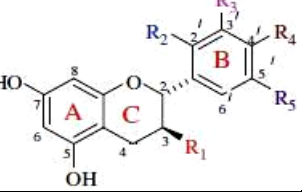
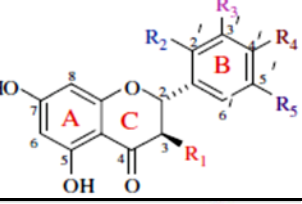
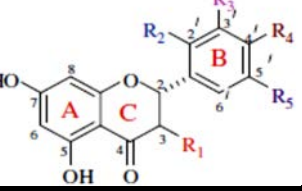
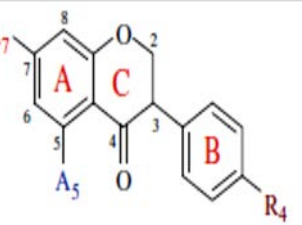
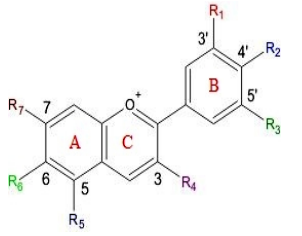
peroksidasyonunu önlediği de literatürde belirtilmektedir (Kahraman ve diğ., 2002; Booyse ve diğ., 2007). Koroner kalp hastalıklarını önleyici ve antikanserojen özelliğe de sahiptirler (Kim ve diğ., 2008).

Flavonoidlerin maksimum radikal giderici aktivite gösterebilmeleri aşağıda maddeler halinde belirtilen özelliklerinden kaynaklanır (Heim ve diğ., 2002):

- B halkasındaki hidroksil grupları (özellikle 3',4'-dihidroksi formu), hidroksi (HO•), peroksil (ROO•) ve peroksinitrit (ONOO[•]) radikallerine H atomu ve elektron transfer ederek, onları daha kararlı hale dönüştürür. Flavonoidlerin kendileri bu esnada nispeten kararlı 3',4'-dikinonlara (*o*-semikinonlara) dönüşür.
- 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çifte bağ, C halkasının 4. karbon atomunda keto grubunun oluşmasını sağlar ve bu da B halkasında radikalın elektron delokalizasyonunu artırır. Antioksidan güç, aromatik çekirdeğin elektron delokalizasyonuna bağlıdır. Bu bileşikler serbest radikallerle reaksiyona girdiğinde üretilen fenoksil radikalleri aromatik çekirdeğin rezonans etkisiyle kararlı hale getirilir. 2,3-çifte bağı, tüm moleküldeki rezonansı artırır.
- C halkasının 4. karbon atomunda keto grubu ile beraber C ve A halkalarındaki 3. ve 5. pozisyonundaki hidroksil grupları maksimum radikal giderme aktivitesi için gerekli olup, 5-hidroksi-4-keto grubu güçlü bir metal kelatlayıcı olarak da antioksidan etkinliğe katkıda bulunur.

Başlıca flavonoid grupları şunlardır: Flavonoller, flavonlar, flavononlar, antosiyaninler ve izoflavonoidler ve antosiyanidinler (flavilyum katyonları), proantosiyanidinler, biflavonoidler ve oligomerik flavonoidler, izoflavonlar (izoflavonoidler), kalkanlar ve auronlar (Friedli, 2011). Flavonoidlerin bazı alt grup temel yapıları Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3. Flavonoidlerin bazı alt-gruplarının temel kimyasal yapıları
(McKnaught ve Wilkinson, 1997)

Grup	Kimyasal Yapı	Örnek	R1	R2	R3	R4	R5		
Flavonoller (3-hidroksi-2-fenilkromen-4-on)		Kuersetin	OH	H	OH	OH	H		
		Kamferol	OH	H	H	OH	H		
		Rutin	O-glukozit	H	H	OH	OH		
		Luteolin	H	OH	OH	H	H		
		Apigenin	H	H	H	OH	H		
Flavanoller (2-fenil-3,4-dihidro-2H-kromen-3-ol)		Kateşin	OH	H	H	OH	OH		
Flavanonoller (3-hidroksi-2,3-dihidro-2-fenilkromen-4-on)		Taksifolin	OH	H	OH	OH	H		
Flavononlar (2,3-dihidro-2-fenilkromen-4-on)		Hesperetin	H	H	OH	OCH ₃	H		
		Naringenin	H	H	H	OH	H		
		Krisin	H	H	H	H	H		
Grup	Kimyasal Yapı	Örnek	A5	A7	R4				
İzoflavonlar (3-fenilbenzopiron)		Biokanin A	OH	OH	OCH ₃				
		Daidzein	H	OH	OH				
		Daidzin	H	Oglc	OH				
		Formononetin	H	OH	CH ₃				
		Genistein	OH	OH	OH				
		Genistin	OH	O-glukozit	OH				
Grup	Kimyasal Yapı	Örnek	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
Antosiyanidinler (2-fenilbenzopirilyum katyonu)		Delfinidin	OH	OH	OH	OH	OH	H	OH
		Luteolinidin	OH	OH	H	H	OH	H	OH
		Malvidin	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH	OH	H	OH
		Pelargonidin	H	OH	H	OH	OH	H	OH

B. Fenolik Asidler

Fenolik asidler, sinnamik asit ve benzoik asidin hidroksi türevleri olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Hidroksibenzoik asidler C₆-C₁ fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarda genelde iz miktarda bulunurlar. Hidroksisinnamik asidler ise C₆-C₃ fenilpropan yapısındadırlar. Çok yaygın bulunanları; kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit ve *o*-kumarik asidlerdir (Balasundram ve diğ., 2006). Bu iki grup arasında ise çoğunlukla hidroksisinnamik asidler bulunur. Bitkilerde serbest, esterleşmiş ya da glukozidleri halinde bulunan fenolik bileşiklerin % 30'u, fenolik asit şeklinde besin yolu ile alınır (Rossi, 2003; Terpinc ve diğ., 2011;). Fenolik asidler, hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve çeşitlerine göre farklı isimler alırlar (Tablo 2.4) (Cadenas ve Packer, 2002).

Fenolik asidlerin, yapılarındaki aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarının sayısı ve yerlerine göre kararlılığı ve antioksidan aktivitesi farklı olmaktadır. Aslında H atomu vererek antioksidan aktivite göstermelerine rağmen, elektron vererek de bu aktivitelerini gösterebilmektedirler. Fenolik asidlerin metal kelatlama, hidroksi, peroksil, peroksinitrit ve süperoksit anyon radikallerini giderme etkisine sahip olduğu son yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Krimmel ve diğ., 2010; Terpinc ve diğ., 2011).

C. Fenolik Polimerler (Tanenler)

Fenolik polimerler diğer bir deyişle tanenler veya proantosiyanidinler, yüksek molekül ağırlıklı bileşikler olup flavonoidlerin (flavan-3-ol) oligomer veya polimeridirler. Bitkilerin ikincil metabolitleri olup, bu bitkileri zararlılara (mantarlar ve böcekler v.s) karşı korurlar (Aydın ve Üstün, 2007). Fenolik polimerler bazı çilek türlerinde, elmada, nar suyunda, kırmızı ve beyaz üzümde, bunlardan elde edilen şaraplarda, yine bunların tohumlarında, kakao, çay, tarçın ve *Ginkgo biloba*'da bol miktarda bulunur. Koyu renkli ve tadı buruk bileşiklerdir. Proantosiyanidin içeriği yüksek gıda ya da gıda takviyelerini kısa/uzun süreli kullananlarda ateroskleroz, bazı kanser türleri ve enflamasyonun görülme oranlarının azaldığı bildirilmiştir (Cadenas ve Packer, 2002; Beecher, 2004).

Tablo 2.4. Bazı doğal fenolik asitlerin temel yapısı ve gruplandırılması (Rossi, 2003)

$Xa = \text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOH}$ $Xc = \text{CH}_2-\text{COOH}$
 $Xb = \text{CH}_2-\text{CHO}$

Fenolik Asitler	Örnek	X	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Sinnamik Asit Türevleri	Sinnamik asit	a	H	H	H	H
	<i>o</i> -Kumarik asit	a	OH	H	H	H
	<i>p</i> -Kumarik asit	a	H	H	OH	H
	<i>m</i> -Kumarik asit	a	H	OH	H	H
	Ferulik asit	a	H	OCH ₃	OH	H
	Sinapik asit	a	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Kafeik asit	a	H	OH	OH	H
	Sirinjaldehit*	b	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Vanilin*	b	H	OCH ₃	OH	H
Benzoik Asit Türevleri	Benzoik asit	c	H	H	H	H
	Salisilik asit	c	OH	H	H	H
	<i>p</i> -Hidroksi benzoik asit	c	H	H	OH	H
	Vanilik asit	c	H	OCH ₃	OH	H
	Sirinjik asit	c	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Protokateşuik asit	c	H	OH	OH	H
	Gentisik asit	c	OH	H	H	OH
	Gallik asit	c	OH	OH	OH	OH
	Veratrik asit	c	H	OCH ₃	OCH ₃	H

*Fenolik asitlerin aldehit analogu

2.5.1.2. Karotenoidler

Karotenoidler doğal ve renkli bileşikler olup, bitkilerde pigmentler halinde oldukça yaygın olarak bulunur. Ayrıca, birçok çiçek ve meyvede olduğu gibi çoğu böcek, deniz canlısı ve kuş türlerinin de renkleri bu pigmentlerden kaynaklanmaktadır (Cadenas ve Packer, 2002). Doğada 600'den fazla karotenoit bileşiği tespit edilmiş olup, gıdalarda bulunan karotenoidlerin başlıcaları β -karoten, β -kriptoksantin, lutein, zeaksantin, astaksantin ve violaksantindir (Dutta ve diğ., 2005). Doğada bulunan karotenoidlerden sadece 40 kadarı insan gıdaları arasında yer almakta olup, bunların da violaksantin hariç 20 kadarı insan doku ve kanında ölçülebilmektedir. Ölçülebilenlerin %90'a yakın kısmının ise α ve β -karoten, likopen, lutein ve kriptoksantinden oluştuğu *in vivo* çalışmalarla belirlenmiştir (Omoni ve Aluko, 2005; Rao ve Rao, 2007; Ma ve Lin, 2010).

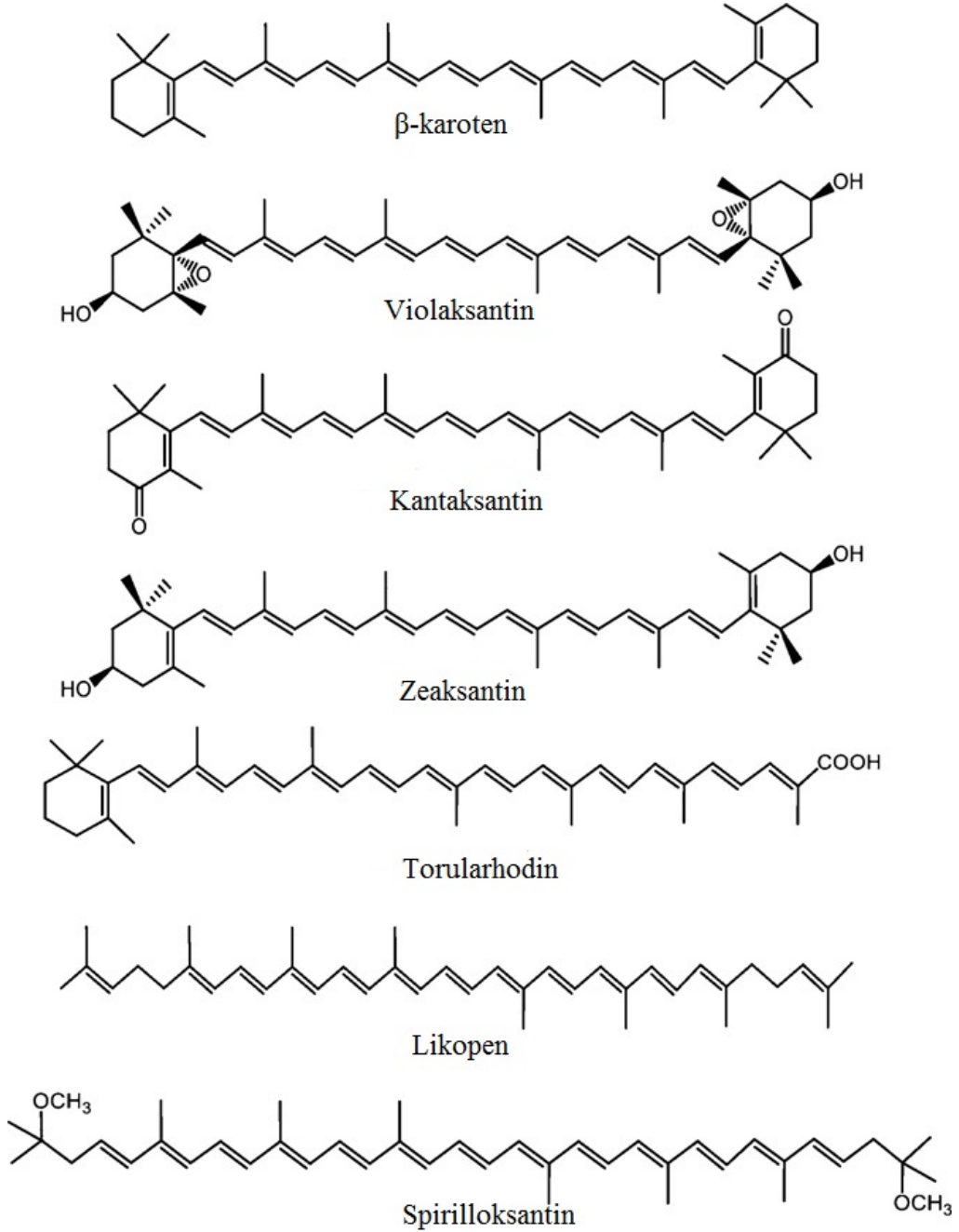
Karotenoidler, lipit fazda çözünen poliizopren türevleri olup, başlıca iki kısma ayrılabilirler (El-Qudah, 2009):

- Karotenoidler: Sadece hidrojen ve karbon atomlarından oluşanlar (hidrokarbon karotenoidler)
- Ksantofiller: En az bir oksijen grubu (epoksi-, hidroksi-, karboksil-, keto, metoksi-, gibi) taşıyan karotenoit türevleri

Karotenoidlerin en çarpıcı ve karakteristik özellikleri, yapılarında konjuge halde birden fazla çifte bağ (π elektronları) içermeleridir ki, bu çifte bağlar, moleküle yüksek antioksidan aktivite kazandırmaktadır. Şekil 2.8'de bazı karotenoidler ve ksantofiller görülmektedir (Rivera ve Canela-Garayoa, 2012).

Karotenoidlerin tüketimi toplumlar arasında gıda hazırlama ve tüketim alışkanlıklarına göre değişkenlik göstermekte, bu değişkenlikte mevsim de önem arz etmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, karotenoit tüketimi ile kanser, kalp-damar hastalıkları, katarakt ve yaşla ilişkili maküler dejenerasyonlar arasında sıkı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Ma ve Lin, 2010). Bitkilerdeki karotenoidler fotosentez sırasında klorofillerdeki kimyasal reaksiyonlarda, enerji dönüşümünde ve ayrıca hücrelerin ışıktan korunmasında rol alabilirler. Mikroorganizmalardaki karotenoidler ise bunlardaki kimyasal reaksiyonlarda hücre için koruyucu olabilmektedirler. İnsan ve

hayvanlarda ise karotenoidler enzimatik dönüşümde A vitamini gibi işlev görürken, A vitamini görme, büyüme, hücrel farklılaşma, morfojeniz ile birçok diğer hücrel ve fizyolojik durumlarda etkilidirler.



Şekil 2.8. Bazı karotenoidler (likopen ve β -karoten) ve ksantofiller (Rivera ve Canela-Garayoa, 2012)

Göz ve deri, fotooksidatif hasara karşı duyarlıdır. Fotooksidatif süreç ROT oluşumuna yol açar ve ışığa maruz kalan dokularda bazı hastalıklara neden olur. Körlüğe neden olan, yaşa bağımlı maküler hasarda, singlet oksijenden koruyucu pigmentler özellikle

lutein ve zeaksantindir. Güneş yanıklarında görülen eriteme karşı koruyucu ve fotooksidatif hasarı önleyici pigment β -karotendir. Lipofilik özelliklerinden dolayı, oksidatif hasara karşı hücrel membranları ve lipoproteinleri korumada önemli rol oynarlar. β -karoten reaktif azot türlerini gidermede C ve E vitaminleri ile sinerjik etki gösterir (Stahl ve Sies, 2003).

İnsanlarda plazma β -karoten düzeyi ile kanser ve kalp-damar hastalıkları riskinde güçlü bir ilişki olduğu, yeterli miktarda domates, marul-kıvırcık, havuç, margarin ve peynir tüketiminin akciğer kanseri gelişimini belirgin derecede engellediği, fazla meyve tüketiminin adenokarsinomlara etkisinin belirgin olmadığı, ama yassı epitel hücreli karsinom ile küçük hücreli karsinomlardan koruyucu olduğu vurgulanmaktadır (Su ve diğ., 2002).

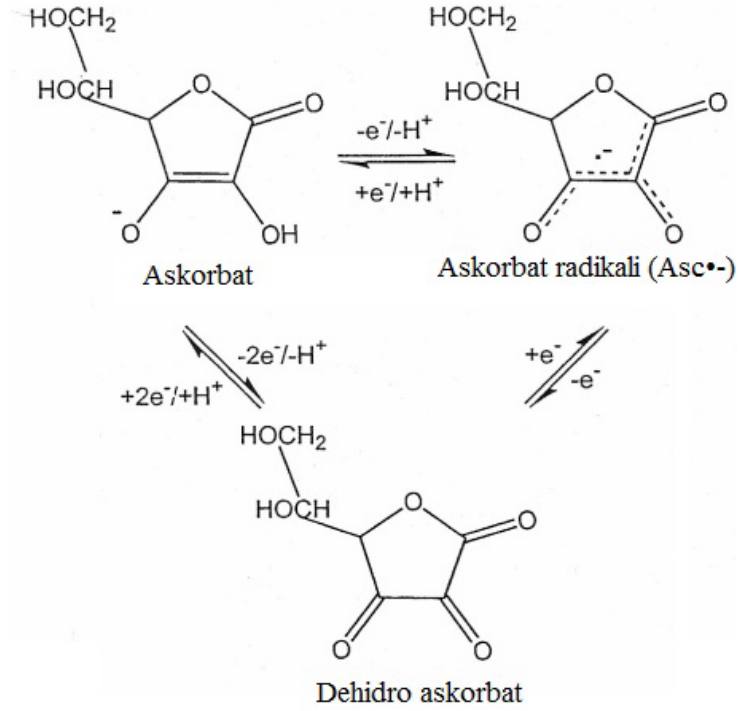
2.5.1.3. L-Askorbik Asit (C Vitamini)

Suda çözünen bir vitamin olan L-askorbik asit, bitkilerin yaprak kısımlarında özellikle kloroplastlarında yaygın olarak bulunur (Cadenas ve Packer, 2002). Birçok hayvanın karaciğer ve böbreklerinde glukozdan sentezlenir. Fakat insanlarda, L-gulanolakton oksidaz enzimi bulunmadığı için bu vitamini sentezleyemezler. Bu nedenle de dışarıdan besin yoluyla alınmak zorundadırlar (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).

C vitamini özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. Meyveler arasında en çok, portakal, limon, greyfurt, domates, ananas, çilek ve frenk üzümünde bulunur. Bunlara oranla elma, kiraz, armut ve erik daha az miktarda C vitamini içermektedir. Özellikle turunçgillerin ve domatesin iç kısımlarından ziyade kabuk kısımları C vitamini bakımından daha zengindir. Sebzelerden ise özellikle karnıbahar, lahana, ıspanak, kuru soğan, biber, tere, maydanoz ve yer elması C vitamini bakımından en zengin kaynaklardandır (Cadenas ve Packer, 2002).

Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapan L-askorbik asit, altı karbonlu bir ketolakton yapısına sahiptir ve iki adet kolaylıkla iyonize olabilen hidroksil grubu içermektedir. L-askorbik asit, bu sayede birbirini takip eden iki basamakta birer elektron yükseltgenerek, kolaylıkla askorbat radikaline ($Asc^{\bullet-}$) ve dehidroaskorbik aside (DHA) okside olur (Şekil 2.9).

Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidan olan C vitamini, $O_2^{\bullet-}$, HO^{\bullet} , H_2O_2 ve 1O_2 ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. C vitamininin; bitkisel ve hayvansal yağları, balık, margarin ve süt gibi yağ ihtiva eden yiyecekleri oksidatif bozulmaya karşı koruduğu bilinmektedir .



Şekil 2.9. Askorbik asitte meydana gelen redoks reaksiyonları (Yıldız, 2007)

Askorbik asit dehidroaskorbik asit ile bir redoks sistem oluşturur. Standart şartlarda oksidan ve redüktan kapasite eşittir. Ancak fizyolojik şartlarda bu eşitlik sağlanamadığı için askorbik asit elektron vericisi olarak görev yapar. Bu özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerde askorbik asidin en önemli fonksiyonu hidrojen taşıyıcısı olarak rol oynamasıdır (Du ve diğ., 2012).

Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı demir (Fe^{3+})'i uzaklaştırarak ya da doğrudan demir (Fe^{3+})'i indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksi radikali (HO^{\bullet}) oluşturmaya uygun demir (Fe^{2+})'e dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı C vitamini, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir (Paolini ve diğ., 1999).

2.5.1.4. Tokoferoller (E Vitamini)

Doğada E vitamini aktivitesi gösteren sekiz adet madde bulunmaktadır ve hepsi 6-hidroksikroman halka sistemine sahiptir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006). Bunlar başlıca (Tablo 2.5);

- Tokoferoller: α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol ve δ -tokoferol
- Tokotrienoller: α -tokotrienol, β -tokotrienol, γ -tokotrienol ve δ -tokotrienol'dür.

Tokoferoller, 6-hidroksikroman halkasına bağlı fitil grubuna sahipken, tokotrienoller izopren biriniden oluşan bir yan zincire sahiptir (Sen ve diğ., 2006).

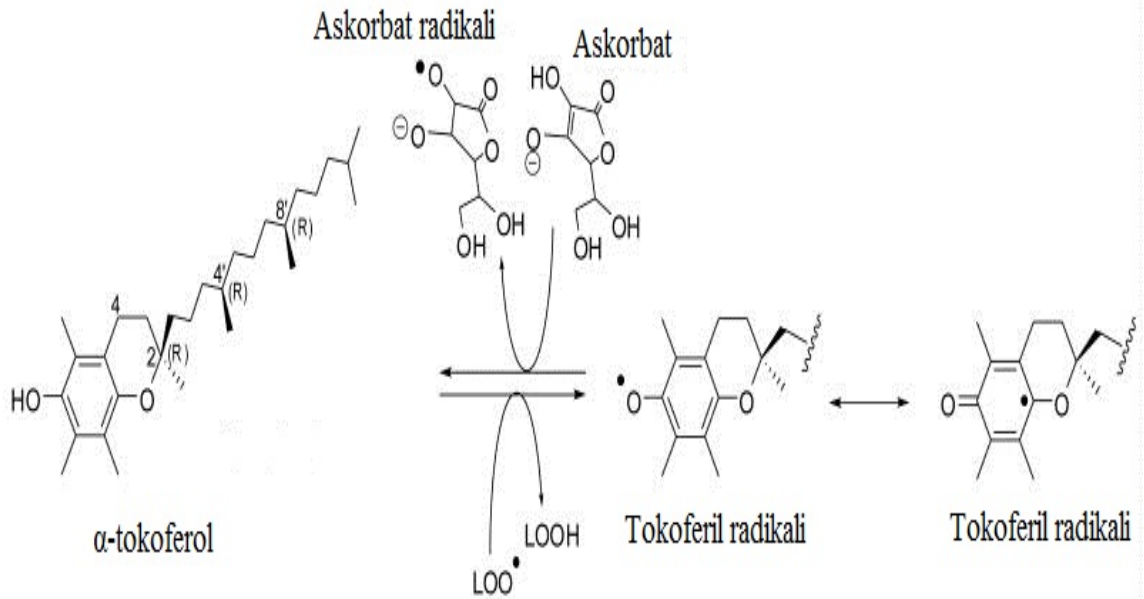
Tablo 2.5. Tokoferollerin ve tokotrienollerin kimyasal yapıları (Sen ve diğ., 2006)

Örnek	R ₁	R ₂	R ₃	Örnek	R ₁	R ₂	R ₃
α -Tokoferol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	α -Tokotrienol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β -Tokoferol	CH ₃	H	CH ₃	β -Tokotrienol	CH ₃	H	CH ₃
γ -Tokoferol	H	CH ₃	CH ₃	γ -Tokotrienol	H	CH ₃	CH ₃
δ -Tokoferol	H	H	CH ₃	δ -Tokotrienol	H	H	CH ₃

Özellikle süt, yumurta ve karaciğer E vitamininden zengin hayvansal kaynaklardır. Bitkisel kaynakları ise, yeşil yapraklı sebzeler, bitkisel yağlar, baklagiller, ceviz ve fındıktır. Tokoferollerin kimyasal yapıları birbirlerine benzese de, bunların biyolojik etkileri oldukça farklıdır. 3 metil grubu taşıyan α -tokoferol vitamin olarak en etkili olanıdır ve sadece "E vitamini" denildiğinde α -tokoferol anlaşılır. β ve γ tokoferoller, α izomerinin yarısı kadar, δ izomeri ise ancak yüzde biri kadar etkilidir. Tokoferoller, monofenolik yapıdaki doğal antioksidanlardır. Antioksidan etkileri vitamin etkilerinin tersine olarak α 'dan γ 'ya doğru artar. Antioksidan aktivitesi en büyük olan δ -tokoferoldür (Keskin ve Erkmen, 1987).

Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipidlerinde bulunan PUFA'ları serbest radikal etkilerinden koruyucu savuma elemanıdır. E vitamininin insanlardaki ana antioksidan fonksiyonu çoğunlukla α -tokoferollerle birlikte incelenir ve bu fonksiyon lipit peroksidasyonunun engellenmesidir. Lipit peroksidasyonu hücre ve organel zarlarında, lipoproteinlerde, yağlı dokuda, beyinde ve PUFA'nın bol olduğu diğer dokularda özellikle yaygındır.

Fitol kuyruğu sayesinde, yüzeye yakın olan aktif kroman halkasıyla birlikte zar alt tabakasında konumlanmak gibi eşsiz bir yeteneğe sahiptir. Bu hem lipit antioksidanı olarak iş görmesine hem de diğer antioksidanlarla etkileşime geçerek oksitlenmiş halinden kendi haline yeniden dönüşmesine imkân sağlar. Diğer antioksidanlarla, özellikle de suda çözünenlerle sinerjisi, antioksidan sistemin önemli bir özelliğidir. E vitamini aynı zamanda lipoproteinlerdeki lipit oksidasyonunu önlemede belirleyici rol oynar. α -Tokoferol LDL'deki bu etkiden sorumlu esas E vitamin formudur, çünkü peroksil radikallerinin en yaygın ve en iyi temizleyicisidir. Böylece LPO'da zincir kırıcı etki yapar (Traber ve Stevens, 2011). Şilomikronlar da beslenmeye bağlı olarak diğer tokoferoller ve tokotrienoller α -tokoferole benzer ya da daha yüksek konsantrasyonda sürükleyebilir ve lipit antioksidanı olarak önemli bir rol oynayabilir (Traber ve Atkinson, 2007). Şekil 2.10'da E vitamininin antioksidan etkisi gösterilmektedir.



Şekil 2.10. E vitamininin antioksidan etkisi (Traber ve Stevens, 2011)

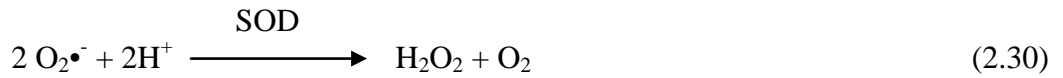
Burada α -tokoferol, lipid hidroperoksil ($\text{LOO}\bullet$) ile reaksiyona girer. Oluşan tokoferil radikali rezonans kararlılığı sayesinde stabildir ve lipid radikalının ($\text{L}\bullet$) aksine O_2 ile reaksiyon vermez. Sonuçta, tokoferil radikali askorbat tarafından yeniden α -tokoferole çevrilir.

2.5.1.5. Enzimatik Antioksidanlar

Antioksidan enzimler organizmanın savunmasında oksidatif strese karşı yaşamsal öneme sahiptirler.

A. Süperoksit Dismutaz

Organizmanın serbest radikallere karşı sahip olduğu savunma mekanizmasının ilk sırasında süperoksit dismutaz enzimi (EC 1.15.1.1; süperoksit: süperoksit oksidoredüktaz; SOD) bulunmaktadır. Bir metalloprotein olan SOD, aynı zamanda eritrokuprein, sitokuprein veya hemokuprein olarak da bilinir. Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktadır. Süperoksit anyon radikalının daha az toksik olan H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizler (Huang ve diğ., 2012).

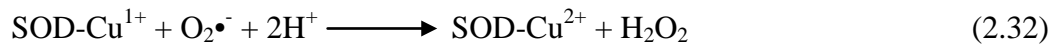
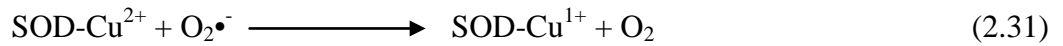


Kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre üç sınıf dismutaz enzimi vardır:

- Bakır ve çinko içeren dismutazlar (SOD1; Cu-Zn SOD) genel olarak ökaryotik hücrelerin sitosolünde ve kloroplastlarda bulunur. Tek disülfid bağı ile birbirine bağlı iki aynı alt birimden oluşur ve alt birim başına birer çinko ile bakır içerirler. Enzimin etkinliği için bakır mutlaka gerekli iken çinko; Co^{2+} , Hg^{2+} , Ca^{2+} ile yer değiştirebilir. Dismutasyon bakır ile süperoksit radikali arasındaki etkileşimle başlar (Dhar ve St. Clair, 2012).
- Mangan içeren dismutazlar (SOD2; Mn-SOD) prokaryotlarda ve mitokondri matriksinde bulunur. Birbirinin aynı iki alt birimden oluşan ve her alt birimde bir atom Mn içeren dismutazlardır (Kwon ve diğ., 2012).
- Bundan başka bir de ekstrasellüler dismutaz (SOD3; EC-SOD) enzimi de vardır (Kwon ve diğ., 2012).

SOD'un süperoksit anyon radikaline etkisi şu şekilde olmaktadır:

Süperoksit anyon radikali, Cu^{2+} ve bir arginin kalıntısının guanido grubuna bağlanır. Bunun sonucunda, süperoksitten bir elektron Cu^{2+} 'ya transfer olurken, Cu^{1+} ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci süperoksit anyonu, Cu^{1+} 'dan bir elektron, bağlanma ortağından ise 2 proton alarak hidrojen peroksidi oluşturur. Böylece enzim tekrar Cu^{2+} formuna dönüşür (Akkuş, 1995).



B. Katalaz

Katalaz enzimi (EC 1.11.1.6; hidrojen peroksit: hidrojen peroksit oksidoredüktaz; CAT), yapısında dört tane hem grubu bulduran bir hemoproteindir. Esas olarak peroksizomlarda, daha az olarak sitosolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur (Nicholls, 2012).

CAT'ın asıl görevi H_2O_2 'i suya ve oksijene parçalamaktır (2.33). Hücrede oluşan H_2O_2 'i, hidroksi serbest radikali ($\text{HO}\bullet$) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.

CAT'ın indirgeyici aktivitesi, H_2O_2 , metil ve etil hidroperoksidleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksidlerine karşı etki edemez (Akkuş, 1995).



CAT enzimi, insanlarda turnover sayısı en yüksek enzimlerden birisi olup, 1 molekül CAT yaklaşık 6 milyar H_2O_2 'i suya ve moleküler oksijene çevirir (Carocho ve Ferreira, 2013).

C. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (EC 1.11.1.9, glutatyon: hidrojen peroksit oksidoredüktaz, GP_x ; EC 1.11.1.12, glutatyon: fosfolipit hidroperoksit oksidoredüktaz, PLGP_x),

hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu enzim ailesidir. GP_x, yapısında 4 selenyum atomu içermekte olup, enzimin aktivitesi selenyuma bağımlıdır ve homotetramerik yapıdadır.

Bu enzim ailesi, H₂O₂ ve organik hidroperoksidlerin suya ve hidroperoksidlere karşılık gelen alkollere indirgenmesini katalizlerler. Bu esnada elektron verici olarak GSH kullanırlar.



Memelilerde genel olarak 4 ana izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar:

- Klasik form GP_x1: Eritrositlerde, karaciğerde, akciğerlerde ve böbreklerde bulunur.
- Gastrointestinal GP_x2
- Plazma GP_x3
- Fosfolipit GP_x4 (PLGP_x)

Bunlardan ilk üçü homotetramer yapıda olup, PLGP_x monomer yapıdadır ve bunun aktivitesi Se-bağımsızdır (Margis ve diğ., 2008). PLGP_x, esas olarak membranlarda bulunur ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger.

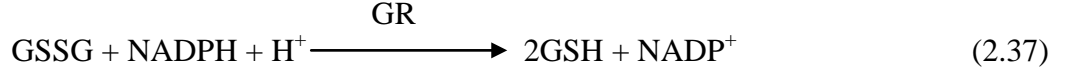


Fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGP_x), özellikle meme kanserinde PUFA metabolizmasında önemli rol oynar. Ayrıca, membrana bağlı en önemli antioksidan olan E vitamininin yetersiz olduğu durumlarda membranı peroksidasyona karşı korur (Utomo ve diğ., 2004).

D. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz (EC 1.8.1.7, glutatyon: NADP⁺ oksidoredüktaz; GR), okside glutatyonun (GSSG) GSH'a indirgenmesini katalizleyen NADP⁺-bağımlı bir flavoenzimdir. Homodimerik yapıda olup, bu yapı enzimin katalitik etkinliği için

gereklidir. GR'nin önemi, organizmadaki en önemli antioksidanlardan olan GSH'ın, indirgenmiş halde tutulmasından sorumlu olmasıdır (Tandogan ve diğ., 2011).



E. Glutasyon-S-Transferaz

Glutasyon S-transferazlar (EC 2.5.1.18; GST), her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir.



Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipit peroksidlerine karşı selenyum-bağımsız GP_x aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.

Glutasyon-S-transferazlar (GST) hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Bunlar, katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler.

- Katalitik olarak; yabancı maddeleri GSH'daki sisteine ait serbest –SH grubu ile bağlayarak bu moleküllerin elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve oluşan bu GSH konjugatlarının sudaki çözünürlüğünü arttırarak idrarla atılabilir hale getirilmesini sağlarlar.
- Katalitik olmayan rolleri ise, metabolize edilmeyen lipofilik-hidrofobik pek çok bileşiği bağlayarak hücre içinde sınırlı çözünürlüğe sahip moleküller için depo ve taşıma görevi üstlenmesidir.

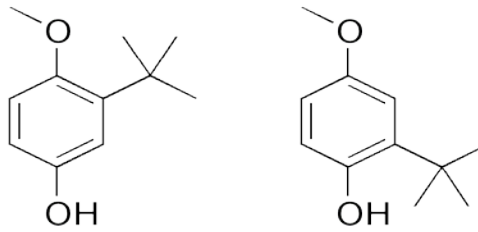
GST'lar, karaciğerde sitokrom P₄₅₀ enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizlerler (Akkuş, 1995).

2.5.2. Sentetik Antioksidanlar

Bitkisel ve hayvansal yağların oksidasyon direncini arttırmak için bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), TBHQ (*ter*-bütül hidrokinon), propil gallat (PG) ve oktil gallat (OG) gibi sentetik antioksidanlar gıda katkıları olarak kullanılmaktadır. Ancak, yakın zamanda yapılan araştırmalarda, bazı sentetik antioksidanların toksik ve kanserojenik etki gibi pek çok sağlık riskine sahip olduğu bildirilmektedir (Bouaziz ve diğ., 2010).

2.5.2.1. Bütillenmiş Hidroksianisol

BHA iki izomerinin karışımı halinde bulunur. Bunlar, % 90 oranında 3-*tert*-bütül-4-hidroksianisol ve % 10 oranında 4-*tert*-bütül-4-hidroksianisol'den ibarettir (EFSA, 2011). Bitkisel ve hayvansal yağlarda kolay çözünebilir, suda çözünmeyen, etkili bir sentetik antioksidandır (Şekil 2.11).

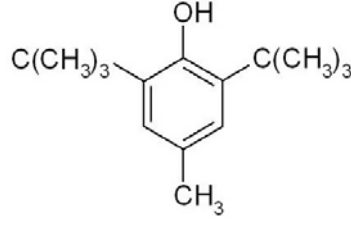


Şekil 2.11. BHA izomerlerinin kimyasal yapıları

BHA, katı ve sıvı yağlar, yağ içeren gıdalar, gıda kaplama malzemeleri, balmumları ve uçucu yağ içeren gıdalarda, işlenmiş kabuklu ürünler, baharat ve çeşnilerde kullanılmaktadır (Türk Gıda Kodeksi, 2008).

2.5.2.2. Bütillenmiş Hidroksitoluen

BHT (2,6-di-*tert*-bütül-p-kresol) bitkisel ve hayvansal yağlarda çözünür, suda çözünmez (Şekil 2.12). Beyaz, kristalize toz halindedir.

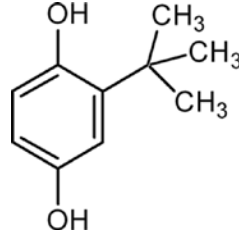


Şekil 2.12. BHT'nin kimyasal yapısı

Gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlardan birisidir. Balık ürünleri, ambalaj malzemeleri, parafin ve mineral yağlarda kullanıldığı gibi kek karışımları, hububat bazlı çerezler, toz çorba ve et suları, katı ve sıvı kızartma yağları (zeytin yağı ve pirina yağı hariç) gibi ürünlerde de kullanılır (Türk Gıda Kodeksi, 2008).

2.5.2.3. Tersiyer Bütil Hidrokinon

IUPAC ismi 2-(1,1-Dimetiletil)-1,4-benzendiol olan TBHQ, oldukça güçlü bir antioksidandır (Şekil 2.13). Gıda olarak tüketilen doymamış bitkisel yağlarda ve hayvansal yağlarda koruyucu olarak kullanılır.



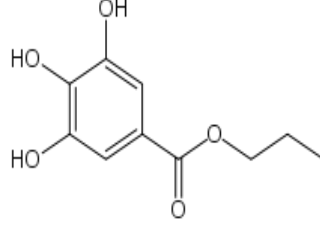
Şekil 2.13. TBHQ'nun kimyasal yapısı.

Hem Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) hem de ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından gıdalarda kullanımının güvenli olduğu bildirilmiştir. FDA tarafından gıdalardaki kullanımı besinin yağ içeriğinin % 0.02'si ile sınırlandırılmıştır (EFSA, 2004).

2.5.2.4. Propil Gallat

Propil gallat (PG), ticari olarak gallik asidin propil alkol ile esterleştirilmesi sonucu üretilir (Şekil 2.14). Propil gallat, demir iyonları ile mavi-siyah renkte bir kompleks

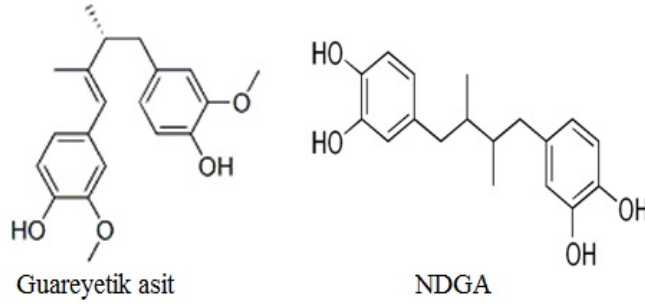
oluşturur. Bunu önlemek için PG daima sitrik asitle birlikte kullanılır. Propil gallatlar, BHA ve BHT ile iyi sinerjistik etki gösterirler. PG, bitkisel ve hayvansal yağlarda, et ürünlerinde, taze ve dondurulmuş salam ve soslerde antioksidan olarak kullanılır (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. PG'nin kimyasal yapısı

2.5.2.5. Nordihidroguayeretik Asit

Nordihidroguayeretik asit (NDGA) ağırlıkça % 0.001-0.01 arasında değişen oranlarında cilt bakım sistemlerinde kullanılan bir güçlü bir antioksidandır (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. Guajayetik asit ve NDGA'nın kimyasal yapıları

Yapılan çalışmalarda, UV ışınlarına maruz kalma sonucunda oluşan keratozise karşı, serbest radikal süpürücü ve koruyucu bir ajan olarak etki ettiği bildirilmiştir (Sreekumar ve diğ., 2006). Ayrıca, erkek fareler üzerinde yapılan bir araştırmada NDGA'nın hem antioksidan hem de antienflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Strong ve diğ., 2008).

2.6. SÜLFÜR

Antoine Lavoiser tarafından 1777 yılında keşfedilen sülfürün, atom ağırlığı 32.064 ve atom numarası da 16'dır. Metal olmayan bu element, demirle birlikte veya element halinde, saf ya da sülfid mineralleri halinde doğada bulunmaktadır. Katı sülfür sarı renkte, kokusuz, tatsız ve suda çözünmez özelliktedir (Parcell, 2002).

Bu element, bütün canlılar için büyük bir öneme sahip anorganik bir elementtir. Çünkü proteinlerin, enzimlerin, vitaminlerin ve diğer biyomoleküllerin yapısına katılır. İnsanlar ve tek mideli hayvanların tersine bitkiler ve bakteriler anorganik sülfürü kullanarak sistein ve metiyonin gibi kükürt içeren amino asitleri sentezleyebilirler (Komarnisky ve diğ., 2003).

2.6.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sülfür, tıpkı oksijen gibi periyodik tablonun 6A grubunda bulunan bir ametaldir. Sülfür, oksijene kıyasla daha az elektronegatif olduğundan genellikle +6 oksidasyon basamağında bulunur (Brosnan ve Brosnan, 2006). Sülfürün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.6'da verilmiştir.

Tablo 2.6. Sülfürün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri (Komarnisky ve diğ., 2003)

Fiziksel Özellikleri		Kimyasal Özellikleri	
Yoğunluk (20°C)	2.06 g/cm ³	Oksidasyon Numarası	Min. -2 Maks. +6
Kaynama Noktası	44.6 °C	Reaktivite	Yüksek
Çözünürlük	Suda çözünmez Karbon disülfidde çözünür	Oksidasyon Basamağı	Sülfat (SO ₄) ²⁻ → +6 Dityonat (S ₂ O ₆) ²⁻ → +5 Sülfid (SO ₃) ²⁻ → +4 Disülfid (S ₂ O ₆) ²⁻ → +4 Dityonit (S ₂ O ₄) ²⁻ → +3 Tiyosülfat (S ₂ O ₃) ²⁻ → +2 Elementel (S) → 0 Sülfid (S ²⁻) → -2
Tutuşabilirlik	Yanıcı		

Sülfür, kükürt içeren amino asidlerde ve diğler organik sülfür bileşiklerinde en düşük oksidasyon basamağı olan -2 değlerliklidir. Bunlar tiyol (-SH), sülfid (-S-) ve disülfid (-S-S-) formundadır. Ancak sülfür, canlı organizmada en kararlı hali olan sülfat şeklinde bulunmasına rağmen amino asit sentezinde kullanılabilmesi için sülfid formuna indirgenmesi gereklidir (Komarnisky ve diğ., 2003).

2.6.2. Kullanım Alanları

Sülfür dioksit ve bunun tuzları genellikle inhibitör olarak, enzimatik ve enzimatik olmayan kahverengileşme reaksiyonlarında, geniş spektrumlu antibiyotiklerde, beyazlatıcı olarak ve antioksidan olarak kullanılmaktadır. FDA tarafından gıdalarda koruyucu olarak sodyum sülfid, sülfür dioksit, sodyum bisülfid, potasyum bisülfid, sodyum metabisülfid ve potasyum metabisülfidin kullanımı onaylanmıştır. Bazı sülfidler ise kardiyovasküler ilaçlarda, antiemetik, analjezik, antibiyotik ve anesteziklerde kullanılmaktadır (Komarnisky ve diğ., 2003). Sülfür cilt bozukluklarından aknenin tedavisindeki merhemlerin, kepek şampuanlarının ve akut olarak radyoaktif maddelere maruz kalanlarda kullanılan antidotların hazırlanmasında uzun yıllardır kullanılmaktadır. Sülfür keratinden geçerek yara iyileşmesine yardım eder. Halk tarafından ürtikerin tedavisinde tarih boyu kullanılmıştır. Sülfür topikal olarak kullanıldığında hidrojen sülfür oluşturarak keratinositlerle reaksiyona girer. Deride hiperkeratoz, akantozis gibi histolojik değışiklere ve damarlarda genişlemeye yol açar (Tarımcı ve diğ., 1997).

2.6.3. Antioksidan Özellikleri

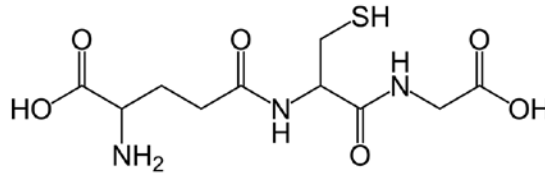
Amino asit, protein, enzim ve vitamin gibi birçok biyomolekülün yapısına giren sülfür, sülfidril gruplu moleküllerin aktivasyonu için gereken tiyoester bağlarını oluşturur (Komarnisky ve diğ., 2003). Sülfür içeren sistein (Cys), metiyonin (Met), taurin gibi amino asidlerin ve glutatyon (GSH), N-asetil sistein (NAC), α -lipoik asit (ALA), α -merkaptopropiyonilglisin (MPG), diallil sülfid (DAS) gibi organik sülfür bileşiklerinin antioksidan özellikleri üzerine çalışmalar yapılmıştır (Battin ve Brumaghim, 2009). Bu bileşiklerin bazıları Tablo 2.7'de verilmiştir.

Tablo 2.7. Sülfür içeren amino asitlerin ve bazı organik bileşiklerin özellikleri
(Battin ve Brumaghim, 2009)

Kükürtlü Bileşik	Kaynak	Özellik
Metiyonin	Diyet	Antioksidan
Sistin	Endojen	Antioksidan
Metil sistein	Diyet	Antioksidan
Taurin	Diyet/Endojen	Antioksidan
Sistein	Diyet/Endojen	Antioksidan/Prooksidan
Homosistein	Endojen	Antioksidan/Prooksidan
N-Asetil sistein	Diyet/Endojen	Antioksidan/Prooksidan
N-Asetil sistein amit	Sentetik	Antioksidan
Dimetilsülfoksit	Sentetik	Antioksidan
Diallil sülfid	Diyet (<i>Allium</i> türleri)	Antioksidan
Diallil disülfid	Diyet (<i>Allium</i> türleri)	Antioksidan
S-Allil-L-sistein	Diyet (<i>Allium</i> türleri)	Antioksidan
Glutatyon	Diyet/Endojen	Antioksidan/Prooksidan
Lipoik asit	Diyet/Endojen	Antioksidan
Mezo-2,3-dimerkaptosüksinik asit	Sentetik	Antioksidan
Sodyum-2,3-dimerkaptopropan sülfonat	Sentetik	Antioksidan

2.6.3.1. Glutatyon

Glutatyon (GSH), memelilerde, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan ve suda çözünebilen bir tripeptiddir (Kidd, 1997). Hücrelerin sitosolünde γ -glutamil, sistein ve glisinden *de novo* olarak iki basamakta sentezlenir (Lu, 2009) (Şekil 2.16).



Şekil 2.16. GSH'nin kimyasal yapısı (Morris ve diğ., 2012)

GSH, birçok hücrenin sitosolünde, mitokondrisinde ve çekirdeğinde bulunur. Memelilerde en fazla bulunduğu organ ise karaciğer olup, buradaki konsantrasyonu 5 mM veya daha fazladır (Timbrell, 2009).

GSH, en önemli non-enzimatik antioksidanlardan biridir. Bu görevini yapısındaki sülfhidril grubuna borçludur. Çünkü bu grup, elektronlarını kolaylıkla verebilir, bu

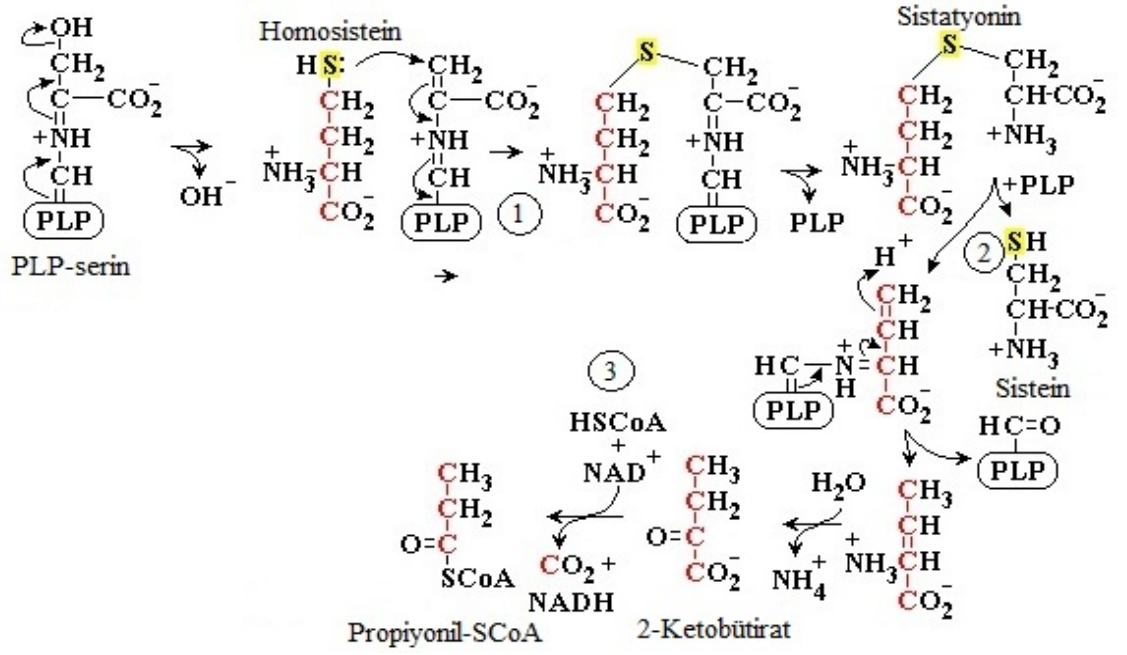
nedenle de GSH serbest radikallere karşı organizmadaki en kuvvetli indirgeyici moleküldür. Hücrelerdeki redükte GSH profili, o hücrelerin tüm hayatı süresince hem serbest radikallere hem de toksik ajanlara karşı korunmasında hassas bir belirteçtir (Kidd, 1997).

GSH, vücutta ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda, serbest radikallerin süpürülmesinde ve hücre büyümesinde önemli fonksiyonları vardır. Hücredeki ana antioksidan olan GSH'nın tükenmesi, hücrelerin oksidatif strese karşı duyarlılığını arttırır. Bu nedenle glutasyon havuzu, oksidatif stresin neden olduğu birçok süreçte anahtar bir role sahiptir. GSH, peroksinitritleri GSSG oluşumu ile temizler.

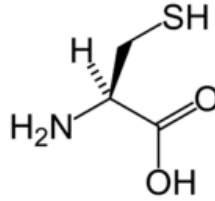
2.6.3.2. Sistein

Yan zincirinde sülfhidril (-SH) grubu bulunan sistein (Cys), polar özelliktedir. Bu sülfhidril grubu sayesinde de oldukça reaktiftir. Sisteinin sülfhidril grubu esansiyel amino asit olan metiyoninden, karbon iskeleti ve amin grubu ise serin amino asidinden gelmektedir. Sentez, koenzimi piridoksal 5'-fosfat (PLP) olan olan sistasyonin β -sentazın katalizörlüğünde, serinin β -karbon atomundaki hidroksil grubunun ayrılması sonucu oluşan PLP-serin kompleksi ve homosisteinin sülfhidril grubunun birleşmesi ile başlar. Böylece sistasyonin ara ürünü oluşur. Sistasyonin, daha sonra sistasyonin γ -liyaz katalizörlüğünde dezaminasyona uğrayarak sistein, α -ketobütirat ve NH_4^+ iyonu oluşur (Şekil 2.17) (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).

Sisteindeki (Şekil 2.18) sülfür atomları ise proteinlerin yapı taşlarındaki kovalent çapraz bağdan sorumludur. İki sistein molekülü arasında oluşan disülfid köprüsü sonucunda sistin oluşur ve bu özelliği bazı proteinlerin şeklinin stabilizasyonunu sağlar. Hücre dışı indirgeyici bir ajan olan sistein, aynı zamanda hücre içi glutasyon biyosentezinde sınırlayıcı bir substrat olarak görev alır. Kolaylıkla yükseltgenebildiği için, hücre dışında bulunan sisteinin hemen hemen tamamı okside formu olan sistin şeklinde bulunur. Sistein aynı zamanda taurin ve kondroitin sülfat için aktif sülfat kaynağıdır (Baker ve Czarnecki-Maulden, 1987).



Şekil 2.17. Cys'nin, HCys ve Ser amino asitlerinden oluşumu (Voet, 1995)
(1: Sistyonyin β -sentaz; 2: Sistyonyin γ -liyaz; 3: α -ketoasit dehidrojenaz)



Şekil 2.18. Cys'nin kimyasal yapısı

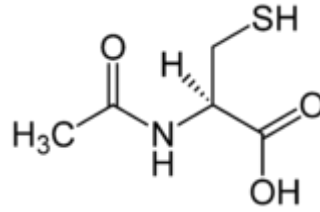
Aynı amino asit taşıyıcısını kullanan sistein ve glutamat, hücre içine taşınmak için sürekli yarışır. Ekstrasellüler glutamat konsantrasyonunun yükseldiği durumlarda, sistein taşınması inhibe edilir ve bu durum hücrel GSH'nin azalması ile sonuçlanır. Bunun neticesinde, hücrenin oksidatif strese duyarlılığını artır. Tiyol içeren sistein ile N-asetilsistein (NAC) ve α -lipoik asit (ALA) gibi antioksidanlar glutamatın indüklediği hücre ölümünü engeller. Besinsel veya gıda desteği olarak tüketilen tiyol grubu içeren bu tip antioksidanların düşük konsantrasyonlarda, ROT'ların zararlı etkilerine karşı koruyucu rolü, direkt ROT'ları temizlemesinden ziyade glutatyon öncülü olma özellikleriyle ilişkilidir (Parcell, 2002).

Baker ve Czarnecki-Maulden (1987), oral olarak verilen sisteinin, GSH miktarını arttırdığını, geçiş elementleri ile kelat oluşturduğunu ve böylece söz konusu geçiş elementlerinin emilimini azaltmak maksadı ile gut hastalığında kullanıldığını

bildirmiştir. Ayrıca oral olarak sistein verilmesinin kobalt, selenyum ve arsenik toksisitesine karşı koruyucu olduğu da aynı çalışmada gösterilmiştir.

2.6.3.3. *N-Asetil-L-Sistein*

N-Asetil-L-sistein (NAC), sisteinin biyolojik bir türevidir (Şekil 2.19). Sebze ve meyvelerde bulunur. Kolaylıkla hidroliz olarak, sistein ve ekstrasellüler GSH konsantrasyonunu arttırmak sureti ile dolaylı yoldan antioksidan savunmaya yardımcı olur (Brannan, 2011).

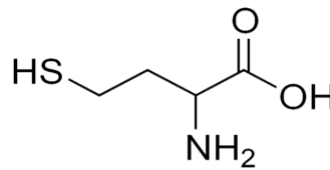


Şekil 2.19. NAC'nin kimyasal yapısı

NAC'nin hipoklorik asit ve hidroksi radikalleri ile hızlı, H_2O_2 ile yavaş bir şekilde reaksiyona girdiği bildirilmiştir. Ayrıca, kurşun zehirlenmesinde antioksidan rolü olduğu gösterilmiştir (Brannan, 2011). Mukolitik bir ajan olan NAC'nin, kronik obstruktif akciğer hastalığında (KOAH) antioksidan rolü incelenmiş ve oksidatif stresin önemli bir belirteci olan MDA seviyesini önemli oranda düşürdüğü ifade edilmiştir (Dulger ve diğ., 2002). Bir başka araştırmada ise yüksek doz radyasyona maruz kalan dişi farelerde hem akciğer hem dalak hem de karaciğer dokularında radyasyonun olumsuz etkilerine karşı koruyucu olduğu belirtilmiştir (Neal ve diğ., 2003). Günümüzde halen parasetamol zehirlenmesinde, AIDS tedavisinde ve psikiyatri alanında kullanılmaktadır (Dean ve diğ., 2011).

2.6.3.4. *Homosistein*

Homosistein, non-proteinojen ve endojen kükürtlü bir amino asit olup, metiyonin metabolizması sırasında tüm dokularda oluşur (Şekil 2.20) (Turgut ve Bakan, 1998; Malinowska ve diğ., 2012). Remetilasyon ve transsülfürasyon siklusu olarak iki ana metabolik yolla metabolize edilir.



Şekil 2.20. HCys'nin kimyasal yapısı

Remetilasyon siklusunda HCys, metiyonin sentetazın katalizlediği bir reaksiyon ile metiyonine dönüşür. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için homosisteine metil grubunun katılması gereklidir. Burada metil vericisi, 5,10-metiltetrahidrofolat (MTHF) veya betaindir. MTHF'nin katıldığı reaksiyon tüm dokularda olur ve B₁₂ vitaminine bağımlıdır. Metiyonin, S-adenozilmetiyonin sentetazın katalizlediği bir reaksiyon ile ATP varlığında S-adenozilmetiyonine (SAM) dönüşür. SAM birçok reaksiyonda metil grubu vericisi olarak görev alır. Bu metilasyon reaksiyonu sonucunda S-adenozilhomosistein (SAH) meydana gelir. SAH'tan, SAH hidrolazın katalize ettiği tepkime sonucunda ise HCys oluşur.

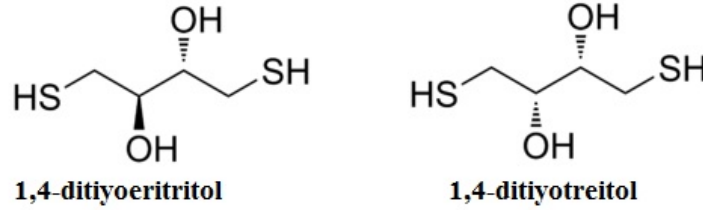
Eğer, organizmanın Cys sentezine ihtiyacı bulunuyor ise veya ortamda metiyoninin fazlası varsa, bu durumda HCys transsülfürasyon yoluna gider. Bu yolda HCys, B₆ vitaminine bağımlı olan sistatyonin-β-sentazın katalitik etkisi ile serin amino asidi ile birleşerek sistatyonini oluşturur. Sistatyonin de PLP bağımlı sistatyoninaz katalizörlüğünde Cys ve α-ketoglutarata dönüşür (Turgut ve Bakan, 1998).

Plazmada, total homosisteinin %70'i proteinlere bağlanarak, %25'i disülfid bağı ile birbirlerine bağlanarak (disülfid homosistein) ve %5'i de homosistein tiyolaktan halinde bulunur. Açlık kan total plazma homosistein konsantrasyonu, normal (5-15 µmol/L), orta (15-30 µmol/L), ara (30-100 µmol/L) ve ağır (100 µmol/L ve üzeri) olarak 4 gruba ayrılmaktadır (Kang ve diğ., 1992). Plazmadaki homosisteinin toplam konsantrasyonundaki artışın klinik açıdan önemli olduğu, 15-30 µmol/L'nin üzerine çıktığı durumların genellikle hiperhomosisteinemi olarak adlandırıldığı, bu durumun ateroskleroz başta olmak üzere çeşitli kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, inme, kalp krizi ve kronik böbrek yetmezliği gibi hastalıklarda önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Pfanzagl ve diğ., 2003; Dikmen, 2004).

2.6.3.5. Ditiyoeritritol

Ditiyoeritritol (DTE), ismini 4 karbonlu bir şeker alkolü olan eritritolden alır ve kuvvetli bir indirgeyici ajandır (Şekil 2.21). DTE ve onun epimeri olan ditiyotreitil (DTT), ilk defa Cleland (1964) tarafından, proteinlerdeki disülfid bağlarını indirgeyici ajan olarak kullanılmış ve bu tarihten sonra da Cleland reaktifi olarak isimlendirilmiştir. DTE, katı

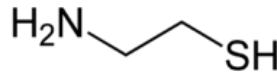
halde olup, suda oldukça iyi çözünebilen, hafif kokulu bir maddedir. Serbest sülfhidril gruplarını indirgenmiş halde tutmak ve disülfidleri ise indirgemek için kullanılır (Cleland, 1964).



Şekil 2.21. DTE ve DTT'nin kimyasal yapıları

2.6.3.6. Sisteamin

Sisteamin (CysNH₂) sisteinden oluşan -SH grubu taşıyan bir biyojen amindir (Şekil 2.22). Diğer adı β-merkpto etilamin olan CysNH₂, vücutta sisteine dönüşebilir ve sistein disülfid bağları halinde sistin olarak lizozomlar içerisinde depolanır.

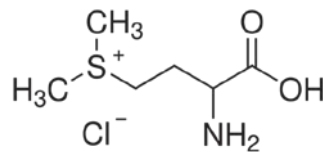


Şekil 2.22. CysNH₂'nin kimyasal yapısı

Antioksidan etkiye sahip bir madde olup, pediatrik sistinozisin tedavisinde kullanılır (Tennezé ve diğ., 2004). CysNH₂, fosfopantotenat ve adozin ile birlikte asetil koenzim A'nın yapısına girdiğinden hücre metabolizmasında önemli görevleri vardır. Somatostatin sentezini azalttığından büyümeyi teşvik etmektedir. Parasetamol zehirlenmelerinde sisteaminin kullanılmasıyla başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Strubelt ve diğ., 1974; Basouw ve Levtchenko, 2011).

2.6.3.7. S-Metilmetyonin Sülfonyum Klorür

S-Metilmetyonin sülfonyum klorür (U vit.), özellikle lahana türleri başta olmak üzere çiçekli bitkilerde oldukça yaygın olarak bulunan ve U vitamini olarak da adlandırılan kükürtlü bir bileşiktir (Şekil 2.23).



Şekil 2.23. U Vit.'nin kimyasal yapısı

U vitamini olarak adlandırılması Latince “ulcus” (ülser, acı, ağrı) kelimesinden gelmektedir. Lee ve diğ. (2012a), U vitamininin adipositlerde gliserol-3-fosfat dehidrojenaz ve AMP-bağımlı protein kinaz enzim aktivitelerini düzenleyerek trigliserit biyosentezini azalttığını belirtmiştir. Bir başka çalışmada, sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan karaciğer hasarında, bu dokudaki antioksidan enzimlerin, GSH ve LPO seviyelerinin üzerine U vitamininin koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Sokmen ve diğ., 2012).

2.6.3.8. Diallyl Sülfid

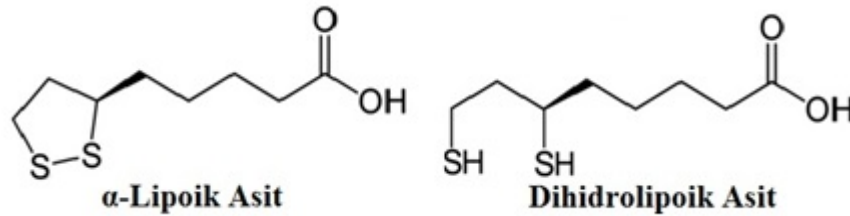
Diallyl sülfid (DAS), sarımsağın ve soğanın (*Allium* türleri) en önemli organosülfür bileşiklerinden birisidir. *Allium* türlerinden olan sarımsağın ezilmesi, çiğnenmesi veya kesilmesi sonucu açığa çıkan alliin ile birlikte DAS de bu türlerin karakteristik kokusundan ve lezzetinden sorumludur (Lancaster ve diğ., 2000; Yang ve diğ., 2001). Sarımsağın uçucu organik bileşiklerinden biri olan DAS'nin antioksidan özellik gösterdiği, bu özelliğinin ise yapısında bulunan tiyol ve allil gruplarından ileri geldiği bildirilmiştir (Casella ve diğ., 2012) (Şekil 2.24).



Şekil 2.24. DAS'nin kimyasal yapısı

2.6.3.9. α -Lipoik Asit

Bir disülfür bileşiği olan α -lipoik asit (ALA) antioksidan ve metal kelatlayıcı özelliklere sahiptir. Diyetle alınan ALA kolaylık emilir ve bunun indirgenmiş formu olan dihidrolipoik aside (DHHLA) dönüşür (Şekil 2.25).



Şekil 2.25. ALA ve DHHLA'nın kimyasal yapıları

Mitokondride doğal olarak bulunan bu ditiyol bileşiği, enerji metabolizmasında hayati bir rol oynar. Piruvat dehidrogenaz, α -ketoglutarat dehidrogenaz ve glisin dekarboksilaz gibi çeşitli enzimlerde açıl gruplarını bağlar ve onları enzim kompleksinin bir yerinden diğer bir yerine transfer eder. Bu olayda ALA, DHLA'ya indirgenir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).

Lipoik asit, hidroksi radikalini ve hipoklorik asidi temizler; ancak, süperoksit ve peroksil radikaline pek etkili değildir. DHLA ise GSH'den daha güçlü bir redüktandır; hipoklorik asit, peroksil ve hidroksi radikallerini temizleyerek LPO'yu önler. Hem ALA hem de DHLA, H_2O_2 ve singlet oksijene de etki eder. (Atmaca, 2004).

2.7. ÇİRİŞ (*Eremurus spectabilis* Bieb.)

Ülkemiz, sahip olduğu 10.500 bitki türü, iklimi ve coğrafi konumu ile doğal flora açısından Avrupa ve Orta Doğu'nun en zengin ülkelerinden biridir. Ülkemiz sınırları içerisinde tespit edilen bu 10.500 bitki türünün % 30'u endemik özelliindedir. Endemizm ise coğrafi bir bölgenin değerlendirilmesinde en önemli kriterlerden birisidir. Ülkemiz, Avrupa ülkeleri ile kıyaslandığında endemik bitki türleri bakımından oldukça zengindir (Ugulu ve diğ., 2009).

Bitkiler, ikincil metaboliteler olarak bilinen bir dizi kimyasal madde üretirler. Bu metabolitlerin birçoğu insanoğlu tarafından özellikle ilaç yapımında kullanılmıştır. Anadolu'da, antik medeniyetlerin büyük çoğunluğu, birçok yiyecek ve şifalı bitki yetiştirmiştir. Bununla ilgili ilk kayıt, 1. yy'da Discorides tarafından yazılan "Materia Medica" isimli eserde mevcuttur. Bu eserde kaleme alınan 950 ilacın 600 tanesinin bitkisel kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Altundag ve Ozturk, 2011). Yapılan son çalışmalar, ülkemizdeki bu bitkilerin geleneksel ve halk hekimliğinde yöre insanları tarafından halen kullanıldığını ortaya koymuştur (Altundag ve Ozturk, 2011; Cakılcıoğlu ve diğ., 2011). Altundag ve Ozturk (2011) tarafından yapılan etnobotanik araştırmalar, tıbbi etkileri olan bitkilerin birçoğunun Ülkemizin Ağrı, Ardahan, Bingöl, Bitlis, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Hakkari, Iğdır, Kars, Malatya, Muş, Tunceli ve Van illerinde bulunduğunu göstermektedir.

Ülkemiz doğal florasındaki bazı bitki türlerinden olan çiriş (*Eremurus spectabilis* Bieb.) Zambakgiller (*Liliaceae*) familyasına ait dünyada 50 farklı türü olan bir bitki türüdür (Hu ve diğ., 2011). *Eremurus* türleri Asya, Ortadoğu, Afganistan, İran, Tacikistan, Lübnan ve Türkiye’de yetişmektedir (Wandelbo, 1982). *Eremurus* türlerinin Türkiye’de doğal olarak yetişen *E. spectabilis* ve *E. cappadocicus* olmak üzere iki türü bulunmaktadır. *Eremurus*’un ülkemizde en çok bulunan türü *E. spectabilis*’tir. Bu tür, Erzurum, Sivas, Yozgat, Bitlis, Uşak, Kars, Ağrı, Erzincan, Van, Artvin ve Ardahan illerinde bulunur (Tuzlacı, 1985). Çirişin çeşitli görünüşleri Şekil 2.26-2.29’da verilmiştir. Bu tür 100-200 cm yükseklikte, rozet yapraklı, tüysüz, sarı çiçekli, soğanlı, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Kökler mekik şeklinde şişkin ve sarı renklidir (Tanker ve diğ., 1998). Bitkinin bol olarak bulunduğu yerlere “çirişlik” denir. Doğu Anadolu’nun birçok yöresinde “kiriş”, “gulik” veya “gullik” olarak adlandırılan bitkinin genç rozet yaprakları pişmeden yenildiği gibi, çorbası ve birçok yemeği de yapılmaktadır. Haşlandıktan sonra yumurta ile kavrulmaktadır. Peynirle de karıştırılarak yufka ekmek içinde yenilmektedir (Koyuncu ve Arslan, 2009). Rusya’da bu bitkinin sebze olarak tüketildiği ve aranılan bir bitki olduğu, semizotu ile ıspanak arasında bir tada sahip olduğu, Komarov tarafından bildirilmiştir (Komarov, 1968). Ayrıca, İtalya’da Rignano Garganico peynirinin üretiminde de çiriş yapraklarından yararlanıldığı belirtilmektedir (Güngör, 2002). Ülkemizde çiriş, otlu peynir yapımında kullanılmaktadır (Özçelik, 1989). Gıda olarak tüketilmesinin yanında, çirişten çok eskiden beri tedavi amacıyla da yararlanılmaktadır. Özellikle Arap hekimler tarafından çiriş kökünden hazırlanan merhemler uyuz ve frengi tedavisinde kullanılmıştır. Dahilen idrar söktürücü özelliği vardır (Baytop, 1984). Halk arasında çirişin adet söktürücü, süt arttırıcı, egzama, sivilce ve çıban, hemoroid, saçkıran, mafsalsız ağrıların tedavisinde ilaç olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Baytop, 1984; Ugulu ve diğ., 2001). Çirişin, sarısabır ve limon tuzu (tartarik asit, sitrik asit veya limon suyu) ile karıştırılması sonucu hazırlanan çubukların, kurutulduktan sonra rahime sokularak çocuk düşürücü olarak kullanıldığı Baytop (1984) tarafından bildirilmiştir. Beyaz kan hücrelerini arttırdığı ve savunma sistemimiz için önemli bir özelliği olduğu da rapor edilmektedir. Çiriş otunun antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu Oskay ve diğ. (2007) tarafından belirlenmiştir. Çiriş bitkisinin sıçanlarda etanol ile oluşturulan mide hasarını önlediği Gurbuz ve diğ. (2002) tarafından ileri sürülmüştür. Xiao ve diğ. (2012), *Eremurus chinensis* Fedtsch. köklerinden hazırlanan

etanol ekstresinin antioksidan ve antikanser aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, çiriş otunun maya endüstrisinde, ciltçilikte, ayakkabı yapıştırıcısı olarak, yün ipliğine apre vermek için kullanıldığı da rapor edilmektedir (Baytop, 1984). Adana bölgesinde yetişen çiriş bitkisinin kökleri kullanılarak biyogaz elde edilebileceği Çolak ve Soran tarafından bildirilmiştir (Çolak ve Soran, 1983).

Karataş ve diğ. (2011), çirişin glutatyon, C vitamini, B₁, B₂, B₃, B₆ ve B₉ vitaminlerini içerdiğini bulmuşlardır. Çiriş bitkisinin yapısında P, K, Ca, Mg, Na, Fe ve Cu minerallerinin bulunduğu da Tosun ve diğ. (2012) ve Yıldırım ve diğ. (2001) tarafından gösterilmiştir.

Çeşitli araştırmacılar *Eremurus spectabilis* ve *Asphodelus* türlerinde antrakinon, naftalen, polisakkarit (Li ve diğ., 2000; Zhang ve diğ., 2000), seskiterpen, lakton, flavonoit, arilkumarin ve glikozit bileşiklerinin bulunduğu da bildirmişlerdir (Peksel ve diğ., 2012).



Şekil 2.26. Çirişin çeşitli görünümüleri



Şekil 2.27. Çirişin çeşitli görünümleri



Şekil 2.28. Çirişin çeşitli görünümleri



Şekil 2.29. Çirişin çeşitli görünümüleri



Şekil 2.30. Çirişin çeşitli görünümüleri

3. MALZEME VE YÖNTEM

Çalışmamızda kullanılan çiriş (*Eremurus spectabilis* Bieb.), Nisan 2010 tarihinde İstanbul İli Eyüp İlçesi'ndeki semt pazarlarından alındı. Çalışmamızda kullanılan kükürtlü bileşikler L-glutasyon (GSH), L-sistein (Cys), N-asetil L-sistein (NAC), DL-homosistein (HCys), 1,4-ditiyoeritritol (1,4-DTE), sisteamin (CysNH₂), DL-metiyonin metil sülfonyum klorür (U Vit.), diallil sülfid (DAS) ve α -lipoik asit (ALA)'dir. Bu maddelerin tamamı analitik saflıkta olup, çeşitli firmalardan temin edildi.

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER

Buzdolabı	: Arçelik
Çalkalayıcı Su Banyosu	: Memmert WB 14
Çalkalayıcı Su Banyosu	: Memmert WNB 14
Deepfreeze	: Beko
Destile Su Cihazı	: Brand MonoDest 3000
Etüv	: Memmert UNB 500
Evaporatör	: Bibby Rotary Vacuum Evaporator
Fırın	: Heraus
Liyofilizatör	: Telstar/Cryodos-50
pH Metre	: Hanna pH/ORP Meter HI 2211
Santrifüj Cihazı	: Denley BS400
Sirkülatör	: PolyScience Soğutmalı Su Sirkülatörü
Sonikatör	: Bandelin Sonorex
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-Visible Mini UV-1240
Su Banyosu	: Bibby Waterbath RE100B
Terazi	: Radwag XA 60/220/X Hassas Terazi
Terazi	: Radwag AS 220/C/2 Hassas Terazi
Vorteks	: Fisons Whirlimixer

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Çirişin etil alkol ve etil asetat ekstralarının hazırlanmasında etil alkol (C_2H_5OH , %96) ve etil asetat ($CH_3COOC_2H_5$, Merck 109623) kullanıldı.

Fitokimyasal analiz yöntemlerinde bakır-2-asetat [$Cu(CH_3COOH)_2$, Merck 2710], hidroklorik asit (HCl, Merck 100314), sülfürik asit (H_2SO_4 , Merck 100732), nitrik asit (HNO_3 , Merck 101799), asetanhidrit [$(CH_3CO)_2O$, Merck 100041], amonyak (NH_3 , Merck 105422), etil alkol (C_2H_5OH , %96), dietil eter [$(C_2H_5CO)_2O$, Merck 100921], demir-3-klorür ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$ Merck 3948), sodyum hidroksit (NaOH, Merck 6462), pikrik asit [$(C_6H_5OH(NO_2)_3O)$, Fluka 80452], kloroform ($CHCl_3$, Merck 102431) ve α -naftol ($C_{10}H_7OH$, Merck 822289) kullanıldı.

Toplam fenolik ve total flavonoit bileşiklerin miktar tayinleri hariç, diğer tüm antioksidan aktivite deneylerinde kükürtlü bileşik olarak L-glutasyon (GSH, Fluka 49750), L-sistein (Cys, Merck 2839), N-asetil L-sistein (NAC, Merck 112422), DL-homosistein (HCys, Sigma H4628), 1,4-ditiyoeritritol (1,4-DTE, Fluka 43796), sisteamin ($CysNH_2$, Sigma 30070), DL-metiyonin metilsülfonyum klorür (U Vit., Fluka 64382), diallil sülfid (DAS, Merck 820050) ve α -lipoik asit (ALA, Sigma T5625) kullanıldı.

Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarı tayininde sodyum tungstat (Na_2WO_4 , Merck 106673), sodyum molibdat (Na_2MoO_4 , Merck 386021), fosforik asit (H_3PO_4 , Merck 100563), hidroklorik asit (HCl, Merck 100314) ve lityum sülfat ($LiSO_4 \cdot H_2O$, Fluka 62609), brom (Br_2 , Merck 101945) kullanılarak Folin-Ciocalteu reaktifi hazırlandı. Hazırlanan Folin-Ciocalteu reaktifi ile sodyum karbonat (Na_2CO_3 , Merck 106398) kullanılarak ekstraların fenolik bileşik miktarları tayin edildi. Standart olarak (+)-kateşin hidrat ($C_{15}H_{14}O_6 \cdot xH_2O$, Fluka 22110) kullanıldı.

Total flavonoit miktarı tayininde ise sodyum nitrit ($NaNO_2$, Merck 6544), alüminyum klorür ($AlCl_3$, Merck 1064), sodyum hidroksit (NaOH, Merck 6462)'den yararlanıldı. Standart olarak pirokateşin ($C_6H_6O_2$, Fluka 15880) kullanıldı.

İndirgeyici güç miktar tayininde sodyum dihidrojen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck 106345) ve disodyum monohidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck 106573) kullanılarak fosfat tamponu hazırlandı. Deneyde potasyum ferrisiyanür ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Riedel de H en 12643), trikloroasetik asit (TCA, Merck 100807), demir-3-klorür ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ Merck 3948) ve standart olarak L-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Merck 100127), b tilenmiş hidroksianisol (BHA, $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$, Sigma B1253) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks, Aldrich 23881-3) kullanıldı.

Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) yönteminde bakır-2-klorür dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck 2731), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin, Sigma N1501) ve amonyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, Fluka 09690) kullanıldı. Standart olarak L-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Merck 100127), b tilenmiş hidroksianisol (BHA, $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$, Sigma B1253) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks, Aldrich 23881-3)'ten yararlanıldı.

Hidroksi radikali giderme aktivitesi deneyinde ise sodyum dihidrojen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck 106345) ve disodyum monohidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck 106573) kullanılarak fosfat tamponu hazırlandı. 2-deoksi-D-riboz ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_4$, Fluka 31170), demir-2-sülfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Riedel de H en), etilendiamin tetra asetik asit (EDTA, Merck 8421), hidrojen peroksit (H_2O_2 , Merck 108600), trikloroasetik asit (TCA, Merck 100807), tiyobarbitürik asit (TBA, Fluka 88481) ve sodyum hidroksit (NaOH , Merck 6462) kullanıldı. Standart olarak b tilenmiş hidroksianisol (BHA, $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$, Sigma B1253), gallik asit ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$, Merck 842649) ve α - tokoferol ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$ Sigma T3376)'den yararlanılarak aktivite tayini yapıldı.

ABTS radikal giderme aktivitesi deneyinde ise 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS, Fluka 11557), potasyum peroksodis lfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, Merck 5090), metanol (CH_3OH , Merck 106009) ve standart olarak gallik asit ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$, Merck 842649) ve α - tokoferol ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$, Sigma T3376) kullanıldı.

DPPH radikal giderme aktivitesi deneyinde ise 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH, Sigma D9132) ve metanol (CH_3OH , Merck 106009) kullanıldı. Standart olarak b tilenmiş hidroksianisol (BHA, $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$, Sigma B1253), rutin ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$,

Sigma R5143) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks, Aldrich 23881-3) kullanıldı.

DMPD radikal giderme aktivitesi deneyinde ise, *N,N*-Dimetil-1,4-fenilen diamonyum diklorür (DMPD, Merck 103067), demir-3-klorür ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck 3946) ve sodyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Merck 6265) kullanıldı. Standart olarak ise L-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Merck 100127) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks, Aldrich 23881-3) kullanıldı.

Süperoksit anyon radikal giderme aktivitesinde, tris(hidroksimetil)-amino metan ($\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$, Merck, 108387) ve hidroklorik asit (HCl, Merck 100314) kullanılarak Tris-HCl tamponu hazırlandı. Nitrobluetetrazolyum (NBT, Sigma N6876), indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit (NADH, Fluka 43420) ve fenazin metosülfat (PMS, Sigma P9625) kullanıldı. Standart olarak (-)-epikateşin (Fluka, 45300), gallik asit ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$, Merck 842649), rutin ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma R5143) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks, Aldrich 23881-3) kullanılarak deneyler yapıldı.

Ferri iyonu indirgeyici antioksidan parametre (FRAP) deneyinde, 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazin (TPTZ, Merck 110208), hidroklorik asit (HCl, Merck 100314), demir-3-klorür ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck 3946), sodyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Merck 6265), glasiyel asetik asit (CH_3COOH , Merck 100056) ve demir-2-sülfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Merck 3965) kullanılarak deneyler yapıldı. Standart olarak L-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Merck 100127) ve α -tokoferol ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$, Sigma T-3376) kullanıldı.

Metal kelatlama aktivitesinin tayininde demir-2-klorür ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Merck 103861) ve ferrozin [3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disülfonik asit sodyum tuzu, Fluka 82950] kullanıldı. Standart madde olarak etilendiamin tetra asetik asitten (EDTA, Merck 8421) yararlanıldı.

3.3. BİTKİ MATERYALI

Eyüp/İstanbul'daki semt pazarlarından 2010 yılı Nisan ayında satın alınan taze çiriş (*Eremurus spectabilis* Bieb.) bitkisi destile su ile yıkandı. Süzgeç kağıdı ile kurulandıktan sonra küçük parçalara ayrıldı ve gölgede kurutuldu. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Emine AKALIN tarafından teşhisi yapılan çiriş numunesi İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (ISTE)'nda 93132 numara ile kayıtlıdır. Çalışmamızda, çirişten sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstreler hazırlandı.

3.3.1. Sulu Ekstrenin Hazırlanması

100 g bitki cam balona konularak üzerine 1000 mL destile su ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında ısıtıcı ile 5 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü, önceden darası alınan cam balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek karışımın bir miktar suyu düşük basınç altında uzaklaştırıldı ve daha sonra liyofilize edildi. Elde edilen ekstre miktarı 323.1 mg/g bitkidir. Ekstre daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

3.3.2. Etil Alkollü Ekstrenin Hazırlanması

50 g bitki Sokslet ekstraksiyon cihazının kartuşuna konuldu. Kartuş Sokslet sistemine yerleştirilerek, cihazın balonuna 250 mL % 96'lık etil alkol ilave edildi. Karışım Sokslet cihazında 4 saat ekstrakte edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan cam balona aktarıldı ve düşük basınç altında etil alkol karışımından uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarı 218.3 mg/g olarak bulundu. Ekstre daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

3.3.3. Etil Asetatlı Ekstrenin Hazırlanması

50 g bitki Sokslet ekstraksiyon cihazının kartuşuna konuldu. Kartuş Sokslet sistemine yerleştirilerek, cihazın balonuna 250 mL etil asetat ilave edildi. Karışım Sokslet cihazında 4 saat ekstrakte edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan cam balona aktarıldı ve düşük basınç altında etil asetat karışımından uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarı 219.6 mg/g bitki olarak bulundu. Ekstre daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

3.4. BİTKİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ

Çiriş bitkisinin fitokimyasal analizinde tüm ekstrelerde alkaloid, antrakinon, diterpen ve fitosterol, fenol, flavonoid, karbohidrat, kükürt, protein ve tannin varlığı kalitatif olarak tayin edildi (Ravishankara ve diğ., 2002; Tiwari ve diğ., 2011).

3.4.1. Alkaloid Tayini

Çiriş ekstreleri Hager's reaktifi (doymuş pikrik asit çözeltisi) ile muamele edildi. Sarı renkli çökeltinin oluşması ile alkaloid varlığı tespit edildi.

3.4.2. Antrakinon Tayini

Çiriş ekstrelerinde antrakinon tayini Bornträger testi ile yapıldı. Ekstrelelere % 10 FeCl₃ ve 1 mL derişik HCl çözeltisi ilave edildikten sonra ısıtıldı. Soğudutulduktan sonra süzöldü. Süzöntölere dietil eter katıldı, iyice çalkandıktan sonra eter fazına derişik NH₃ damlatıldı. Pembe rengin oluşması ile antrakinon varlığı tespit edildi.

3.4.3. Diterpen ve Fitostreol Tayini

Ekstrelerde diterpenlerin tayini Cu(CH₃COOH)₂ testi ile yapıldı. Ekstrelelere Cu(CH₃COOH)₂ çözeltisinden 3-4 damla damlatıldı. Zömrüt yeşili rengin oluşması ile diterpen varlığı tayin edildi.

Ekstrelerde fitosterol tayini Liberman Burchard testi ile yapıldı. Bunun için ekstreler kloroform ile muamele edildi ve süzöldü. Süzöntölere 1-2 damla asetanhidrit damlatılarak kaynatıldı. Soğuduktan sonra derişik H₂SO₄ ilavesi ile kahverengi halka oluşması sonucunda fitosterol varlığı tayin edildi.

3.4.4. Fenol Tayini

Ekstrelerde fenol tayini Millons testi ile yapıldı. Bunun için ekstrelere derişik HNO₃'de çözünmüş civa çözeltisi damlatıldı ve kaynatıldı. Kırmızı rengin oluşması ile fenol varlığı tayin edildi.

3.4.5. Flavonoid Tayini

Flavonoid tayininde ekstrelere birkaç damla AlCl₃, NaNO₂ ve NaOH damlatıldı. Yoğun kırmızı rengin oluşması ile flavonoidlerin varlığı tespit edildi.

3.4.6. Karbohidrat Tayini

Ekstrelerde karbohidrat tayini Molisch testi ile yapıldı. Bunun için ekstrelelere alkollü α -naftol çözeltisi ilave edildi. Sonra musluk suyu altında soğutularak yavaşça derişik H_2SO_4 ilave edildi. Kahverengi-kırmızı halkanın görölmesi sonucunda karbohidrat varlığı tayin edildi.

3.4.7. Kükürt Tayini

Ekstrelerde kükürt tayini $Pb(CH_3COOH)_2$ testi ile yapıldı. Ekstrelelere önce derişik NaOH ilave edilerek kaynatıldı. Soğuduktan sonra $Pb(CH_3COOH)_2$ katıldı ve ısıtıldı. Siyah rengin oluşması ile kükürt varlığı tayin edildi.

3.4.8. Protein Tayini

Ekstrelerde protein varlığı ksantoprotein testi ile yapıldı. Bunun için ekstrelelere derişik HNO_3 damlatıldı ve ısıtıldı. Oluşan sarı renkli çözeltilere % 33'lük NaOH damlatıldı. Ekstrelerin renklerinin turuncuya dönmesi ile protein varlığı tespit edildi.

3.4.9. Tannin Tayini

Ekstrelerde tannin varlığı Braemer testi ile yapıldı. Bunun için ekstrelelere alkollü % 10 $FeCl_3$ çözeltisinden birkaç damla damlatıldı. Yeşile dönük gri rengin görölmesi ile tannin varlığı tespit edildi.

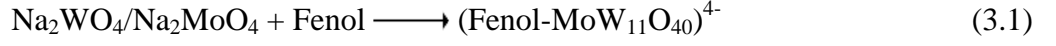
3.5. ÇİRİŞİN VE KÜKÜR TLÜ BİLEŞİKLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

3.5.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile Slinkard ve Singleton (1977) metoduna göre belirlendi.

Bu yöntemin esası, fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu (fosfomolibdik-fosfotungstik asit) reaktifi ile bazik ortamda reaksiyona girmelerine dayanmaktadır. Reaksiyon asidik ortamda çok yavaş ilerler. Bu nedenle reaksiyon ortamı Na_2CO_3 çözeltisi ile pH:10'a ayarlanır ve reaksiyon % 2-10 Na_2CO_3 içeren tungstat ve molibdat karışımı ile yapılır

(Singleton ve Rossi, 1965). Fenolik bileşikten bir elektronun ayrılması ile fenolat anyonu oluşur ve bu da mavi renkli bir molibdat kompleksinin oluşmasına neden olur;



Standart fenolik bileşik olarak kateşin kullanıldı. Önce standart grafik çizmek amacıyla 25 mg kateşin 25 mL destile suda çözülerek (1mg/mL) stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 25, 50, 75, 100, 150 ve 200 µg/mL olacak şekilde destile su ile seyreltmeler yapıldı. Tüplere 0,1 mL destile su ve standart çözeltilerden ilave edildi. Sonra tüplere sıra ile 0.1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. 3 dakika sonra % 2 Na₂CO₃ çözeltilerinden 3 mL ilave edildi. Karışım çalkalandıktan sonra 2 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Benzer şekilde ekstratlar (1-2.5 mg/mL) ve kör de hazırlandı. Daha sonra standardın ve numunelerin absorbansı 760 nm'de köre karşı okundu. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen kateşin miktarı standart eğri yardımı ile hesaplandı ve sonuçlar kateşin ekivalenti şeklinde ifade edildi.

3.5.2. Total Flavonoit Miktarı Tayini

Bitki ekstratlarında total flavonoit miktarı Zhishen ve diğ. (1999)'nin geliştirdiği yöntemle göre tayin edildi.

Standart flavonoit bileşik olarak pirokateşin kullanıldı. Standart grafik çizmek amacıyla 25-300 µg/mL olacak şekilde standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerden ve bitki ekstratının farklı derişimlerdeki çözeltilerinden (1000-2500 µg/mL) 0.25 mL alındı. Üzerine 1.25 mL destile su ve 75 µL % 5'lik NaNO₂ ilave edildi. 6 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Üzerine 150µL % 10'luk AlCl₃ çözeltileri ilave edilerek yeniden 5 dakika bekletildi. 0.5 mL 1 M NaOH çözeltileri ve 275 µL destile su ilavesinden sonra tüpler iyice karıştırıldıktan sonra 510 nm'de absorbans değerleri okundu. Ekstratların flavonoit miktarı pirokateşin ekivalenti şeklinde ifade edildi.

3.5.3. İndirgeme Gücü

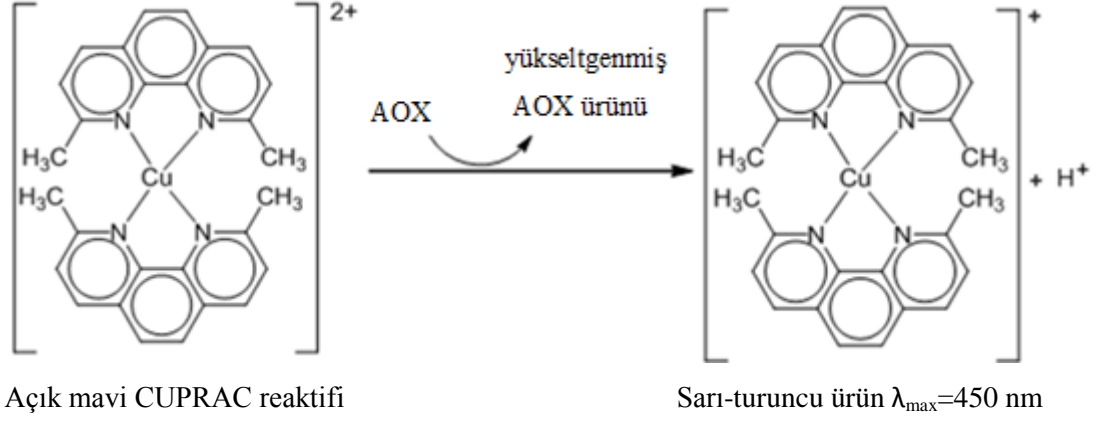
Çiriş ekstrelerinin indirgeme gücünün tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı (Oyaizu, 1986).

Kükürtlü bileşik, bitki ekstreleri ve standartların farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Standart olarak L-askorbik asit, BHA ve Troloks kullanıldı. Bu çözeltilerden 1 mL alındı. Üzerine pH'sı 6.6 olan 0.2 M fosfat tamponundan 2.5 mL ilave edildi. Daha sonra % 1'lik $K_3[Fe(CN)_6]$ den 2.5 mL ilave edilerek karışım su banyosunda 50°C'de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemden sonra karışımlara 2.5 mL % 10'luk triklorasetikasit (TCA) ilave edildi. Tüpler karıştırıldı. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi. Çözeltinin üst fazından 2.5 mL alındı. Üzerine 2.5 mL destile su ve 0.5 mL % 0.1'lik $FeCl_3$ ilave edildikten sonra 10 dakika bekletildi ve spektrofotometrede 700 nm'de köre karşı absorbans değeri ölçüldü.

Körün hazırlanmasında 5 mL destile su kullanıldı. Üzerine 2.5 mL $FeCl_3$ ilave edildi. Standartların, kükürtlü bileşiklerin ve ekstrelerin absorbans değerleri ile konsantrasyonları arasında grafik çizildi.

3.5.4. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi

Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC) yöntemi, Cu^{2+} redüksiyon kapasitesine dayalı bir toplam antioksidan kapasite ölçüm yöntemidir. Bu yöntem elektron transferine dayanan ve prooksidan kullanılmayan spektrofotometrik bir yöntemdir. Bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in $Cu(II)$ ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin ($Cu(II)-Nc$), ortama antioksidan çözeltisi ilave edilmesi sonucunda 450 nm'de maksimum absorbans veren bakır(I)-neokuproin [$Cu(I)-Nc$] kelat kompleksine (Şekil 3.1) indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır (Apak ve diğ., 2004).



Şekil 3.1. CUPRAC reaksiyonu ve kromofor: Bis (neocuproin) bakır (I) kelat katyonu

Çiriş ekstralarının, standartların ve kükürlü bileşiklerin toplam antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini normal CUPRAC metoduna (CUPRAC_N) göre yapıldı (Apak ve diğ., 2006).

CuCl₂·2H₂O kullanılarak destile suda 10 mM Cu (II) klorür (CuCl₂) çözeltisi günlük olarak hazırlandı. Yine destile su kullanılarak 1 M amonyum asetat tampon çözeltisi (pH:7.0) hazırlandı. Mutlak etanol kullanılarak 7.5 mM Ne çözeltisi günlük olarak hazırlandı.

Farklı konsantrasyonlarda (200-1000 µg/mL) hazırlanan çiriş ekstresi ve kükürlü bileşiklerden 0.25 mL alındı. Üzerine 0.25 mL CuCl₂ çözeltisi, 0.25 mL neocuproin çözeltisi ve 0.25 mL amonyum asetat tamponu konuldu. Daha sonra tüplere toplam hacim 2 mL olacak şekilde 1 mL destile su eklendi ve iyice karıştırıldı. Tüpler oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak 30 dakika bekletildikten sonra, 450 nm'deki absorbans değerleri reaktif körüne karşı okundu. Kör olarak kullanılan karışım ekstre yerine destile su kullanılması ve diğer reaktiflerin aynı şekilde ilave edilmesiyle hazırlandı. İşlem standart olarak L-askorbik asit, Troloks ve BHA çözeltileri ile tekrarlandı.

Reaksiyon karışımının artan absorbansı artan indirgeme yeteneğini gösterir. Ekstrelerin, standartların ve kükürlü bileşiklerin Cu²⁺-Cu⁺ indirgeyici güç eğrileri, konsantrasyon (200-1000 µg/mL) ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri arasında çizildi.

3.5.5. Hidroksi Radikal Giderme Aktivitesi

Çiriş ekstrelerinin, standartların ve kükürtlü bileşiklerin hidroksi radikal giderme aktiviteleri 2-deoksi-D-ribozun oksidasyonunun hidroksi radikali tarafından inhibisyonu ile ölçüldü (Sakanaka ve diğ., 2005). Reaksiyon karışımı 450 µL 0.2 M sodyum fosfat tamponu pH'sı 7.0, 150 µL 10 mM 2-deoksi-D-riboz, 150 µL 10 mM FeSO₄-EDTA, 525 µL bidistile su, 75 µL örnek numune çözeltisi ve 150 µL 10 mM H₂O₂ çözeltisinden oluşmaktadır. Reaksiyon H₂O₂ ilavesi ile başlatıldı. 37°C'deki su banyosunda 4 saat inkübasyondan sonra 750 µL % 2.8'lik TCA ve 50 mM NaOH'deki % 1'lik TBA çözeltisinden 750 µL ilave edildi ve 10 dakika kaynatıldı. Tüpler soğutularak 520 nm'de absorbans değerleri okundu. Numune içermeyen reaksiyon karışımı kontrol olarak kullanıldı.

Örnek ve standartların hidroksi radikal giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

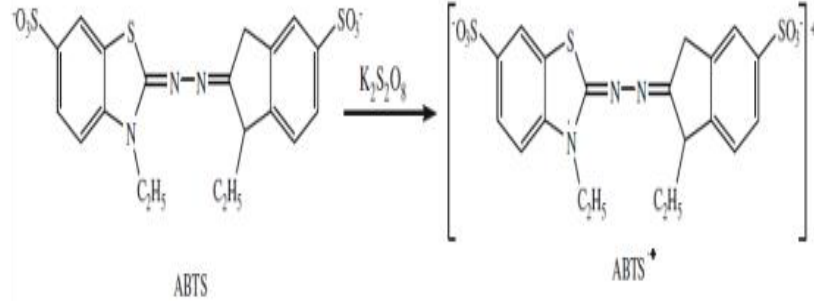
$$\text{Hidroksi Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀=Kontrol absorbans değeri

A₁=Örnek veya standardın absorbans değeri

3.5.6. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi

ABTS deneyi, antioksidanların dayanıklı bir katyon radikali olan ABTS radikalini giderme aktivitesinin belirlenmesi esasına dayanır. Çiriş ekstrelerinin, standartların ve kükürtlü bileşiklerin ABTS radikal giderme aktiviteleri Arnao ve diğ., (2001) metoduna göre tayin edildi. 7.4 mM ABTS [2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenotiyazoline-6-sülfonik asit)] ve 2.6 mM K₂S₂O₈ çözeltilerinden eşit hacimde (1'er mL) karıştırıldıktan sonra 12-16 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. Bu süre sonunda ABTS radikal katyonu elde edilmiş oldu (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. ABTS'nin $K_2S_2O_8$ ile yükseltgenmesi ve ABTS radikal katyonunun oluşumu

Bu karışımdan 1 mL alındı. Üzerine 60 mL metanol ilave edildi. Bu şekilde hazırlanan ABTS radikal katyonu çözeltisinin 734 nm'de spektrofotometrede metanole karşı absorbansı 0.7 ± 0.02 olmalıdır. Her deney için bu çözelti taze olarak hazırlandı. Hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2.85 mL alındı. Üzerine 150 μ L bitki ekstresi konuldu. 2 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. Spektrofotometrede 734 nm'de absorbans değeri okundu. Standart olarak gallik asit (2.5-15 μ g/mL) ve α -tokoferol (25-150 μ g/mL), kontrol olarak da ekstre yerine metanol içeren reaksiyon karışımı kullanıldı. Aynı deney şartlarında kükürtlü bileşiklerin de ABTS radikal giderme aktiviteleri tayin edildi.

Absorbans değerinin azalması ile reaksiyon ortamından giderilen ABTS radikalinin arasında ters orantı vardır. Örnek ve standartların ABTS radikal giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100$$

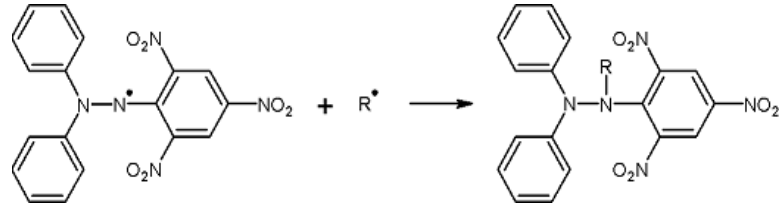
A_0 = Kontrol absorbans değeri

A_1 = Örnek veya standardın absorbans değeri

3.5.7. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi

Serbest radikal giderme aktivitesi Brand-Williams metoduna göre 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak yapıldı. Kararlı bir organik azot radikali olan DPPH radikali, ortamdaki antioksidan madde ile etkileştiğinde hidrazine indirgenir (Brand-Williams ve diğ., 1995).

Taze olarak hazırlanmış etanol ya da metanoldeki çözeltisi koyu mor renklidir ve 517 nm dalga boyunda maksimum absorbands değerine sahiptir. DPPH radikali bir elektron veya hidrojen atomu ile etkileştiğinde stabil diyamagnetik bir molekül olma eğilimine girer ve radikalın rengi açılarak sarıya döner (Birboim ve Kanabus–Kaminska, 1985; de Mello ve Meneghini, 1985) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. DPPH radikalının indirgenmesi (Huang ve diğ., 2005)

DPPH radikalının 20 mg/L olacak şekilde taze hazırlanmış metanoldeki çözeltisinden 1.5 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda (100-800 µg/mL) hazırlanan bitki ekstraktlarından 0.75 mL ilave edildi. 5. dakikadaki absorbands değeri köre karşı 517 nm’de spektrofotometrede ölçüldü. Kontrol olarak 0.75 mL metanol ve 1.5 mL DPPH çözeltisi kullanıldı. Kör olarak sadece metanol kullanıldı. Standart olarak Troloks, BHA ve rutin (20-100 µg/mL) kullanıldı. Aynı deney şartlarında kükürtlü bileşiklerin de DPPH radikal giderme aktiviteleri tayin edildi. Azalan absorbands değeri geriye kalan DPPH çözelti miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verir.

DPPH radikal giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

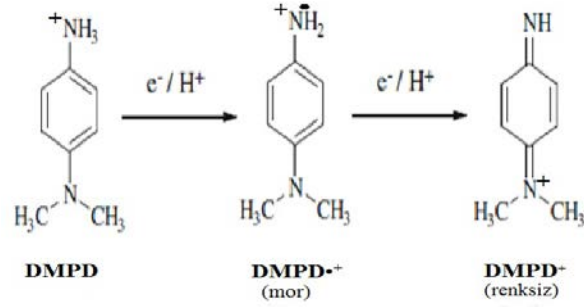
$$\text{DPPH Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 =Kontrol absorbands değeri

A_1 =Örnek veya standardın absorbands değeri

3.5.8. DMPD Radikal Giderme Yöntemi

DMPD radikal giderme aktivitesi Fogliano ve diğ. (1999) geliştirdikleri yöntemle yapıldı. Bu yöntemin esası, asidik pH ve uygun bir oksidan çözelti varlığında *N,N*-dimetil-1,4-fenilendiamin (DMPD)'in kararlı ve renkli bir radikal katyonu ($\text{DMPD}^{\bullet+}$) oluşturmasına dayanır. Oluşan bu radikal katyonu ise 505 nm dalga boyunda maksimum absorban değerine sahiptir. Antioksidan madde, DMPD radikal katyonuna bir H atomu transfer ederek bu rengi giderir ve çözeltide bir renksizleşme meydana gelir (Şekil 3.4). Rengin açılması antioksidan konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Bu reaksiyon hızla gerçekleşir ve stabildir, antioksidatif etkinliğin bir göstergesidir (Fogliano ve diğ., 1999).



Şekil 3.4. DMPD kation radikallerinin oluşumu (Gülçin, 2012)

209 mg DMPD, 10 mL deiyonize suda çözüldü. Bu çözülden 1 mL alınarak 0.1 M Na-asetat tamponu (pH: 5.30) ile 100 mL'ye tamamlandı. Deiyonize su ile hazırlanmış 0.05 M FeCl_3 çözeltisinden 0.2 mL ilave edilmesiyle renkli DMPD radikal katyonu elde edildi. Bu karışım stabilitesini en fazla 12 saate kadar koruduğundan taze olarak hazırlandı. Karışımın ilk hazırlandığı andaki absorbanı 0.9 ± 0.1 olmalıdır. Karışımın 1 mL'si 0.5 mL çiriş sulu ekstre (100-1000 $\mu\text{g/mL}$) çözeltisine ilave edildi ve tüpler karıştırıldı. 10 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra 505 nm'deki absorbanları tampon çözeltiye karşı okundu. Deney, etil alkollü ve etil asetatlı ekstratlar (0.01-100 ng/mL), standart olarak L-askorbik asit ve Troloks (1-100 $\mu\text{g/mL}$) kullanılarak tekrarlandı. Aynı deney şartlarında kükürtlü bileşiklerin de DMPD radikal giderme aktiviteleri tayin edildi. Sonuçlar DMPD radikal giderme aktivitesi (%) olarak ifade edildi. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı:

DMPD radikal giderme aktivitesi (%) = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$

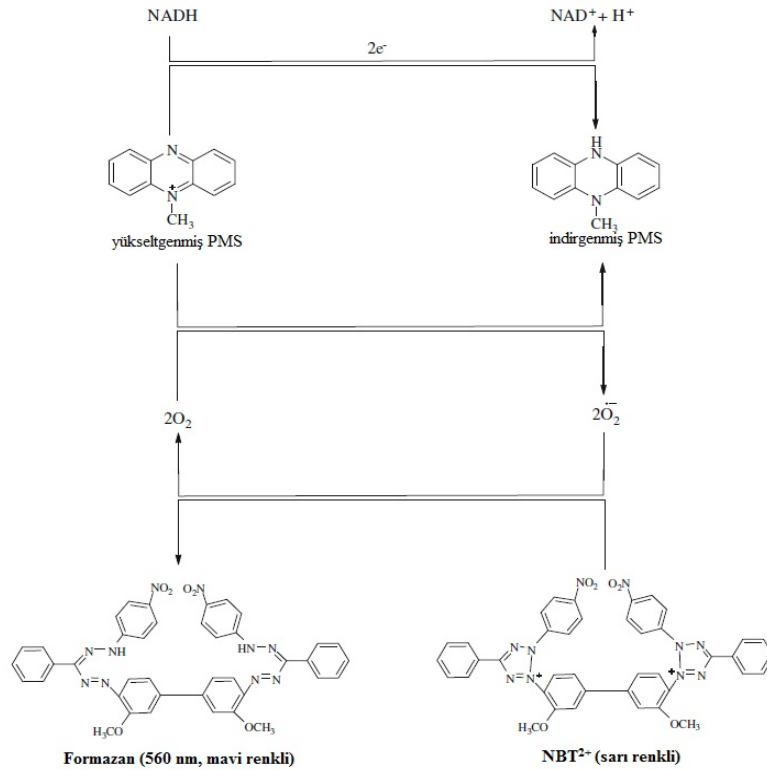
A_0 = DMPD çözeltisinin başlangıç absorbanısı

A_1 = Örnek veya standardın absorbanısı

3.5.9. Süperoksit Anyon Radikal Giderme Aktivitesi

Süperoksit anyon radikal giderme aktivitesi Liu ve diğ., (1997) metoduna göre tayin edildi.

Süperoksit anyon radikali *in vitro* koşullarda NADH-PMS-O₂ non-enzimatik sisteminde NADH'in oksidasyonu sonucu oluşur. Bu şekilde üretilen süperoksit radikali sarı renkli nitrobluetetrazolyum (NBT)'u mavi-mor renkli formazan türevine indirger (Şekil 3.5). Oluşan mavi-mor renkli formazan 560 nm dalga boyunda maksimum absorban değeri verir. Antioksidan moleküller, NBT ile süperoksit anyon radikalini gidermek için yarışır. Bu şekilde NBT'nin mavi renkli formazan bileşiğine indirgenmesini inhibe ederler.



Şekil 3.5. Süperoksit anyon radikallerinin PMS-NADH-O₂ non-enzimatik sisteminde oluşumu ve bunların NBT ile reaksiyonu (Gülçin, 2012)

16 mM Tris-HCl (pH:8.0) tamponunun 3 mL'si üzerine sırası ile 50 μ M NBT, 78 μ M NADH, 1 mL değişik konsantrasyonlarda hazırlanan çiriş ekstresi (5-25 μ g/mL) ve 10 μ M fenazin metosülfat (PMS) ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra 25 °C su banyosunda 5 dakika bekletildi ve 560 nm'de absorbansları köre karşı ölçüldü. Aynı deney koşullarında 1 mL destile su kullanılarak kontrol ile de çalışıldı. Standart olarak epikateşin (5-25 μ g/mL), gallik asit (5-25 μ g/mL), rutin (5-25 μ g/mL) ve Troloks (5-25 μ g/mL) kullanıldı. Aynı deney şartlarında kükürtlü bileşiklerin de süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri tayin edildi. 560 nm dalga boyundaki azalan absorbans değeri, süperoksit anyon radikallerinin reaksiyon ortamından giderildiğini gösterir. Süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri (%) asağıdaki formül yardımı ile hesaplandı.

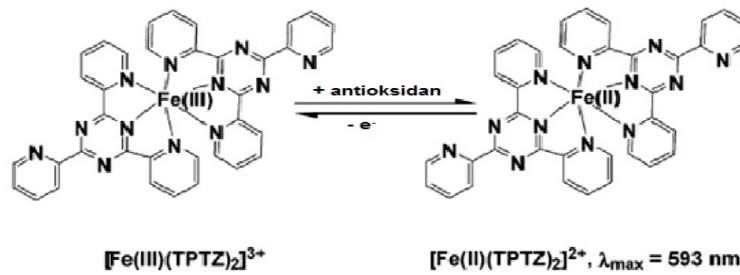
$$\text{Süperoksit anyon radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrol absorbans değeri

A_1 = Örnek veya standardın absorbans değeri

3.5.10. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Parametre Deneyi

Benzie ve Strain (1996) tarafından geliştirilen ferri iyonu redükleyici antioksidan parametre (FRAP) yönteminde, oksidan olarak Fe(III) tuzları kullanıldı. Yöntemin esası, Fe(III)'ün kısa adı TPTZ olan 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazin ile reaksiyonu sonucu oluşan kompleksin $[\text{Fe (III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$ asidik ortamda (pH: 3.6) Fe (II)'ye $[\text{Fe (II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$ indirgenmesiyle oluşan koyu mavi rengin 593 nm'de verdiği maksimum absorbansın ölçülmesine dayanır (Şekil 3.6).



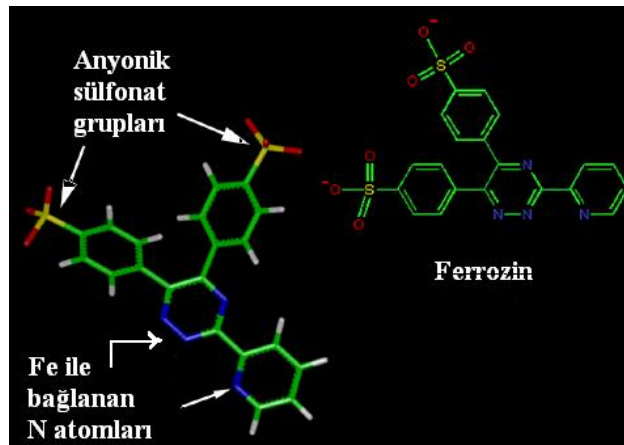
Şekil 3.6. $[\text{Fe (III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$ kompleksinin antioksidan varlığında $[\text{Fe (II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$ kompleksine indirgenmesi (Huang ve diğ., 2005)

FRAP deneyinde, FRAP ayıracı 2.5 mL 10 mM TPTZ'nin 40 mM HCl içerisindeki çözeltisine, 2.5 mL 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi ve 25 mL 0.3 M asetik asit-sodyum asetat tamponunun (pH:3.6) ilave edilmesi ile hazırlandı. Buna göre, bu ayıraçtaki Fe (III)'ün son konsantrasyonu 1.67 mM, TPTZ 'nin son konsantrasyonu ise 0.83 mM olmalıdır. Deney günü taze olarak hazırlanan ve 37°C'deki su banyosunda inkübe edilen FRAP ayıracının 0.9 mL'si, 0.09 mL destile su ve 0.03 mL ekstre (50-1500 $\mu\text{g/mL}$) ile muamele edildi. Standart grafik elde etmek amacı ile 200-1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kullanıldı. Elde edilen doğru denklemden yararlanılarak sonuçlar $\mu\text{M Fe}^{2+}$ cinsinden hesaplandı.

Aynı koşullarda L-askorbik asit ve α -tokoferol (50-250 $\mu\text{g/mL}$) ile, kükürtlü bileşikler kullanılarak FRAP deneyi tekrarlandı.

3.5.11. Metal Kelatlama Aktivitesi

Metal kelatlama aktivitesi lipit peroksidasyonuna neden olan Fe^{3+} ve Cu^{2+} metallerini tutukladığından dolayı önemlidir. Metal kelatlama aktivitesi Decker ve Welch (1990) tarafından geliştirilen yöntemle yapıldı. Fe (II)'nin direkt olarak spektrofotometrik tayininde kullanılan ferrozin [3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disülfonik asit disodyum tuzu], Fe (II) ile kelat kompleksi oluşturur (Şekil 3.7). Metal kelatlama aktivitesinin prensibi, mor-menekşe renkli bu kelat kompleksinin 562 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermesi esasına dayanır (Stookey, 1970).



Şekil 3.7. Fe (II)'nin ferrozin ile metal kelatlama teşkil etmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çiriş ekstreleri (100-1000 µg/mL), standartlar ve kükürtlü bileşiklerden 1 mL alındı. Üzerine 3.7 mL metal iyonları içermeyen bidestile su ve 0.1 mL 2 mM FeCl₂ ilave edildi. Karışım 60 dakika karanlıkta bekletildi. Reaksiyon 5 mM ferrozinden 0.2 mL ilave edilmesi ile başlatıldı. Çözelti vortekste kuvvetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm'de absorbansı, metal iyonları içermeyen bidestile suya karşı okundu. Kontrol olarak 4.7 mL destile su alındı. Üzerine 0.1 mL FeCl₂ ve 0.2 mL ferrozin ilave edilerek yukarıda belirtilen şekilde yapıldı. Metal kelatlama aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Metal Kelatlama Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀=Kontrol absorbans değeri

A₁=Örnek ve standardın absorbans değeri

4. BULGULAR

4.1. BİTKİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ

Çalışmamızda çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarında fitokimyasal analiz yapıldı. Sonuçlar Tablo 4.1'de verildi.

Tablo 4.1. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının fitokimyasal analizi

Madde İçeriği	Sulu Ekstre*	Etil Alkollü Ekstre*	Etil Asetatlı Ekstre*	Yöntem
Alkaloidler	+	++	++	Hager's Testi
Antrakinonlar	+	+++	+++	Bornträger Testi
Diterpenler	+	+++	+++	Bakır-2-asetat Testi
Fitosteroller	-	+	++	Lieberman Burchard Testi
Fenoller	+++	+	+++	Millons Testi
Flavonoidler	+	++	+++	Zhishen Testi
Karbohidratlar	+	+	+	Molisch Testi
Kükürtler	+	+	++	Kurşun-2-asetat Testi
Proteinler	+	++	+++	Ksantoprotein Testi
Tanninler	+	++	++	Braemer Testi

*(-) : Yok; (+) : Az; (++) : Orta; (+++) : Fazla

Çiriş bitkisinin tüm ekstralarında Tablo 4.1'de belirtilen maddelerin varlığı tayin edildi. Kükürtlü bileşiklerin, tüm ekstralarda varlığı tespit edildi.

4.2. TOPLAM FENOLİK BİLEŞİK MİKTAR TAYİNİ

Çalışmamızda çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarında fenolik bileşik miktarı tayin edildi. Total fenolik bileşik içeriği kateşin ekivalenti olarak ifade edildi (Tablo 4.2).

Konsantrasyon artışı ile tüm ekstrelerde total fenolik bileşik miktarlarında da artış olduğu saptandı (Tablo 4.2). Ekstrelerin total fenolik bileşik miktarları sırası ile etil alkol>etil asetat>sulu ekstre şeklindedir. Tüm ekstrelerde en yüksek fenolik bileşik içeriği 2500 µg/mL derişiminde bulundu.

Tablo 4.2. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin fenolik bileşik miktarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi

Ekstre Miktarı (µg/mL)	Sulu Ekstre (µg/mL)*	Etil Alkollü Ekstre (µg/mL)*	Etil Asetatlı Ekstre (µg/mL)*
1000	36.93 ± 0.52	46.94 ± 2.12	41.79 ± 1.61
1500	46.53 ± 1.06	56.53 ± 1.26	52.60 ± 0.18
2000	52.80 ± 1.43	62.19 ± 2.58	61.68 ± 1.22
2500	62.80 ± 0.46	80.37 ± 1.55	73.00 ± 1.09

*Ortalama ± SD

4.3. TOTAL FLAVONOİT MİKTARI TAYİNİ

Çiriş bitkisinin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin total flavonoit miktarları Tablo 4.3'te verildi. Ekstrelerin total flavonoit miktarları µg/mL pirokateşin ekivalenti olarak ifade edildi. Ekstrelerin konsantrasyonuna bağlı olarak flavonoit miktarları da artmaktadır.

Ekstrelerin total flavonoit miktarları sırası ile etil asetat>etil alkol>su şeklinde sıralanmaktadır. Tablo 4.3'e göre en yüksek flavonoit miktarının etil asetatlı ekstrede olduğu görölmektedir.

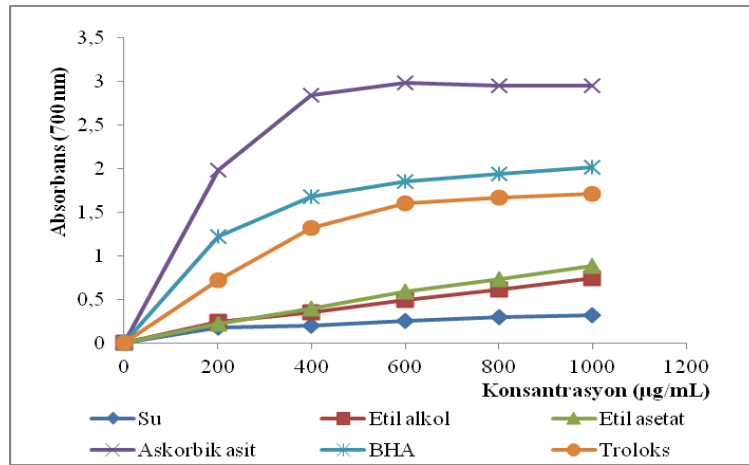
Tablo 4.3. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin flavonoit miktarının pirokateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi

Ekstre Miktarı (µg/mL)	Sulu Ekstre (µg/mL)*	Etil Alkollü Ekstre (µg/mL)*	Etil Asetatlı Ekstre (µg/mL)*
1000	11.54 ± 0.31	27.41 ± 1.35	72.25 ± 1.47
1500	20.90 ± 0.79	42.09 ± 0.69	107.25 ± 1.78
2000	27.81 ± 0.26	61.38 ± 0.65	138.13 ± 3.17
2500	34.64 ± 0.55	71.54 ± 2.27	183.99 ± 3.55

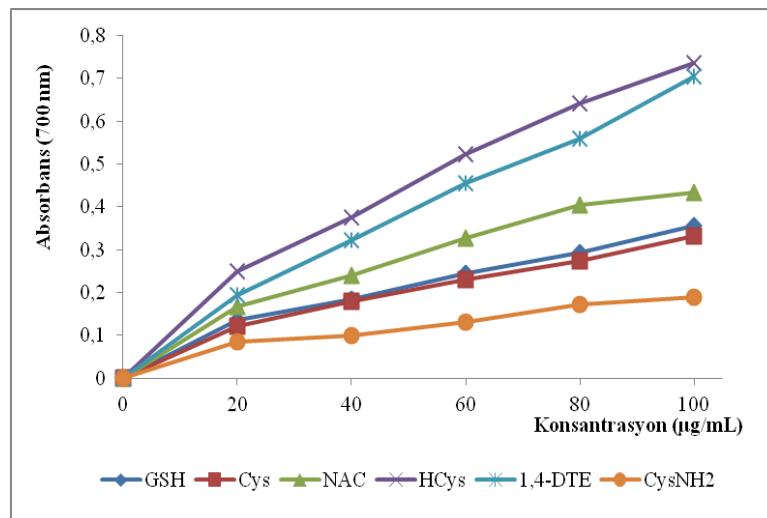
*Ortalama ± SD

4.4. İNDİRGEME GÜCÜ

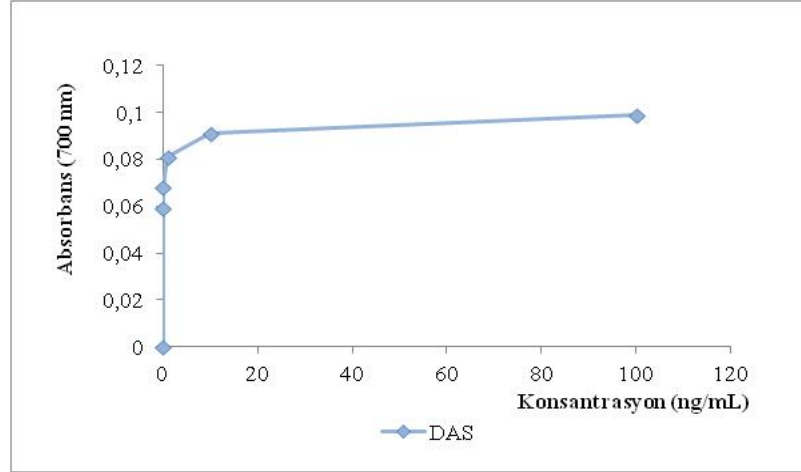
İndirgeme gücü ile antioksidan aktivite değerleri arasında genellikle doğrusal bir bağıntı bulunmaktadır. Bir bileşik veya ekstrenin indirgeme kapasitesi o bileşik veya ekstrenin antioksidan aktivitesinin bir indikatörü olarak bilinir (Yıldırım ve diğ., 2003). Antioksidan bileşiklerin aktiviteleri radikal zincir reaksiyonlarını önleme, radikal giderme veya indirgeme gücü gibi temel antioksidan özelliklerden kaynaklanmaktadır (Diplock, 1997). Çalışmada kullanılan ekstre, standart ve kükürtlü bileşiklerin indirgeme kapasiteleri Fe^{3+} 'ün Fe^{2+} 'ya indirgenmesine göre yapıldı. Çalışmamızda bütün ekstrelerin indirgeme güçleri Şekil 4.1'de, kükürtlü bileşiklerin ise indirgeme güçleri ise Şekil 4.2-4.4'te gösterildi.



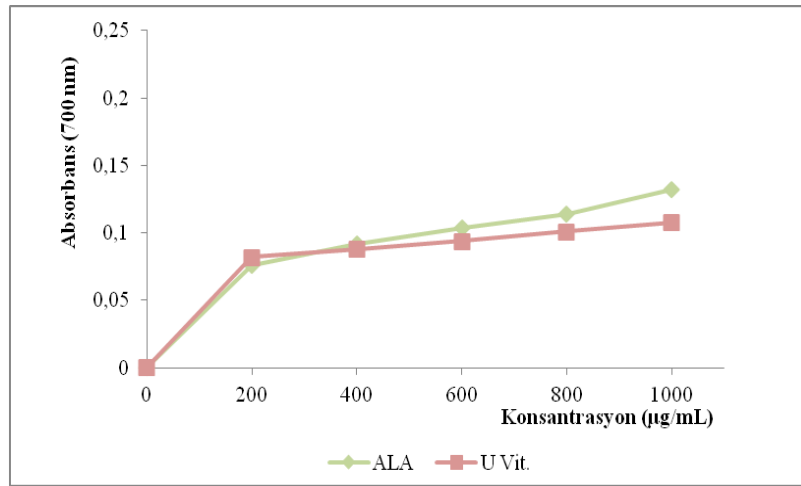
Şekil 4.1. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve askorbik asit, BHA ve Troloks'un indirgeme güçleri



Şekil 4.2. GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE ve CysNH₂'nin indirgeme güçleri



Şekil 4.3. DAS'nin indirgeme gücü



Şekil 4.4. ALA ve U Vit.'in indirgeme güçleri

Çalışmamızda ekstre, standart ve kükürtlü bileşiklerin indirgeme güçlerinin madde miktarına bağlı olarak arttığı Şekil 4.1-4.4'te görülmektedir. En yüksek indirgeme gücüne etil asetatlı ekstre, en düşük indirgeme gücüne ise sulu ekstre sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.1). İndirgeme güçleri standart olarak kullanılan BHA, Troloks ve askorbik asit ile mukayese edildiğinde askorbik asidin, BHA ve Troloks'un ekstrelerle göre daha yüksek bir indirgeme gücüne sahip olduğu görüldü. Ekstrelerin ve standartların indirgeme güçleri askorbik asit>BHA>Troloks>etil asetat>etil alkol>sulu ekstre şeklinde azalmaktadır.

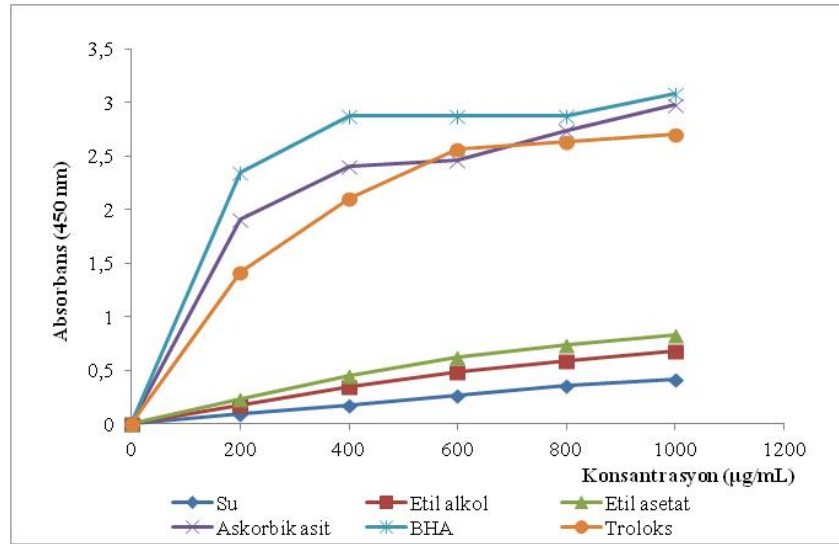
Kükürtlü bileşiklerin indirgeme güçleri Şekil 4.2-4.4'te verildi. İndirgeme güçleri sırası ile kükürtlü bileşiklerde DAS>HCys>1,4-DTE>NAC>GSH>Cys>CysNH₂>ALA>U vitamini şeklinde azalmaktadır. Kükürtlü bileşikler ile bitki ekstreleri mukayese

edildiğinde kükürtlü bileşiklerin indirgeme güçlerinin bitki ekstrelerinden daha yüksek bir değerde olduğu görülmektedir (Şekil 4.1-4-4).

4.5. BAKIR (II) İYONU İNDİRGEYİCİ ANTIOKSİDAN KAPASİTE (CUPRAC) YÖNTEMİ

Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yönteminde Cu^{2+} 'nin Cu^{1+} 'ya indirgenmesi sırasında rengin açık maviden sarı-turuncu renge dönmesinden ve oluşan rengin absorpsansının 450 nm'de okunmasından yararlanılarak indirgeyici güç ve bu gücün kendisi ile orantılı olduğu antioksidan kapasite belirlendi (Apak ve diğ., 2009).

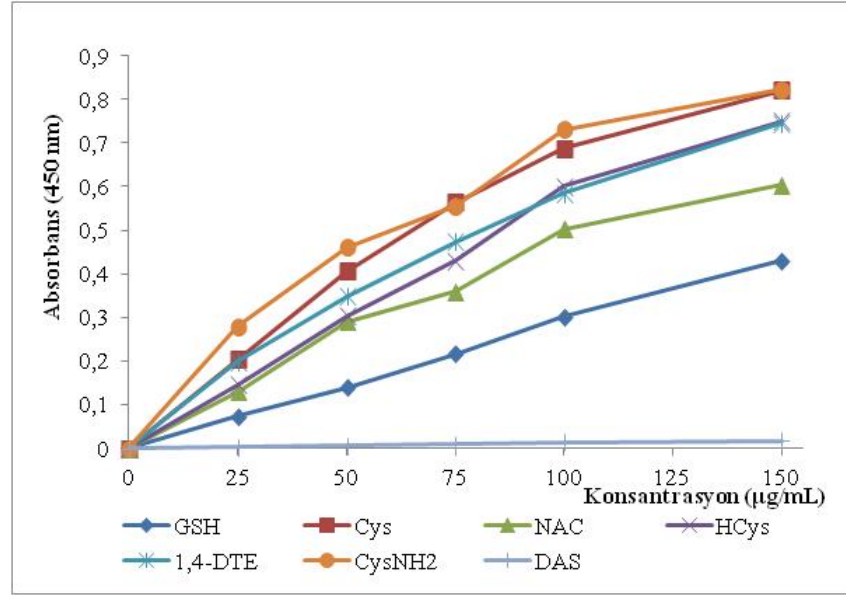
Çalışmamızda sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin CUPRAC değerleri Şekil 4.5'te verildi.



Şekil 4.5. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve askorbik asit, BHA ve Troloks'un bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri

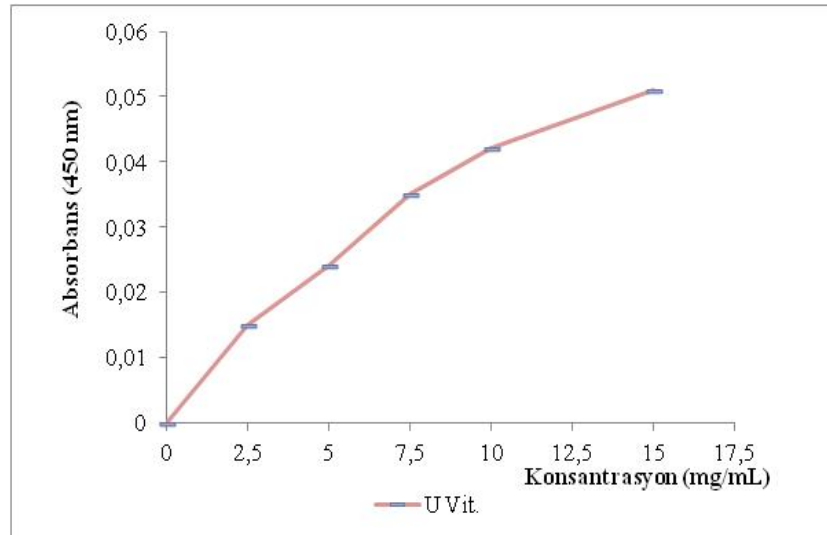
Ekstreler içinde etil asetatlı ekstrenin en yüksek CUPRAC değerine sahip olduğu bulundu.

Standartların değerlerinin ekstrele göre daha yüksek bir değerde olduğu bulundu (Şekil 4.5). Ekstrelerin ve standartların bakır iyonlarını indirgeme gücü BHA>askorbik asit>Troloks>etil asetat>etil alkol>sulu ekstre şeklinde azalmaktadır (Şekil 4.5). Kükürtlü bileşiklerin CUPRAC değerleri ise Şekil 4.6-4.8'de verildi.

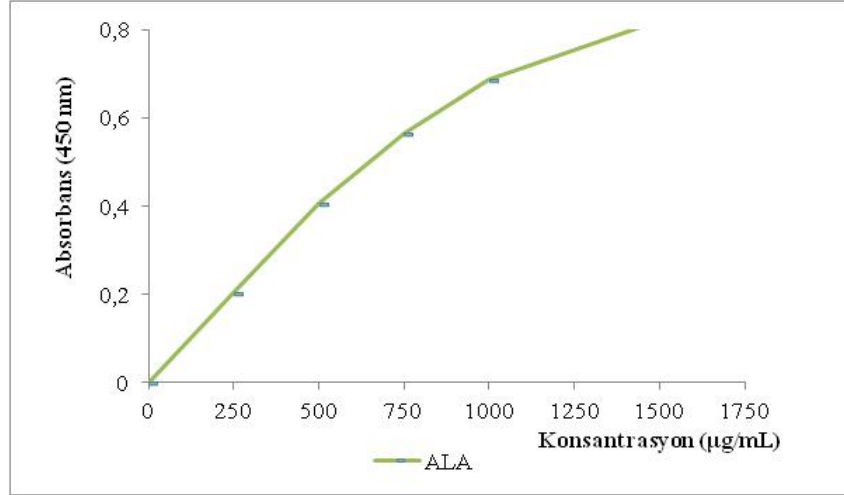


Şekil 4.6. GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE, CysNH₂ ve DAS'nin bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri

Kükürtlü bileşiklerin CUPRAC değerleri ise CysNH₂>Cys>HCys=1,4-DTE>NAC>GSH>DAS>ALA>U vitamini şeklinde azalmaktadır (Şekil 4.6-4.8).



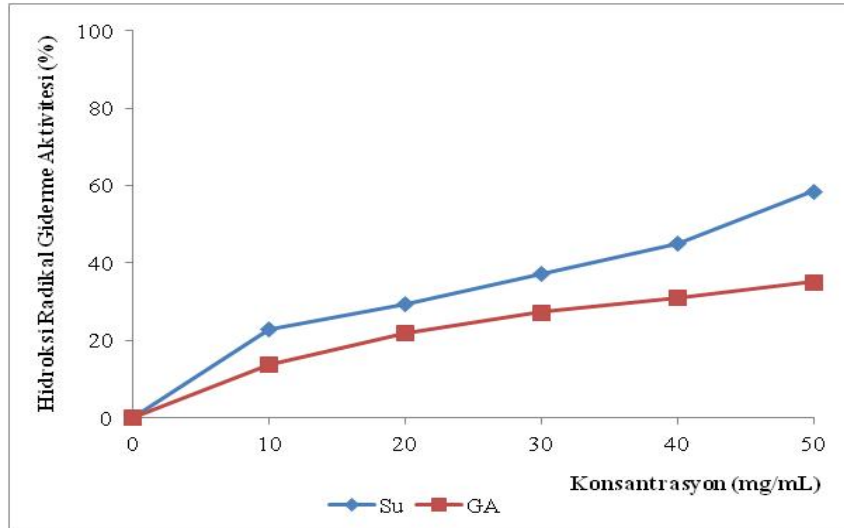
Şekil 4.7. U Vit.'in bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi



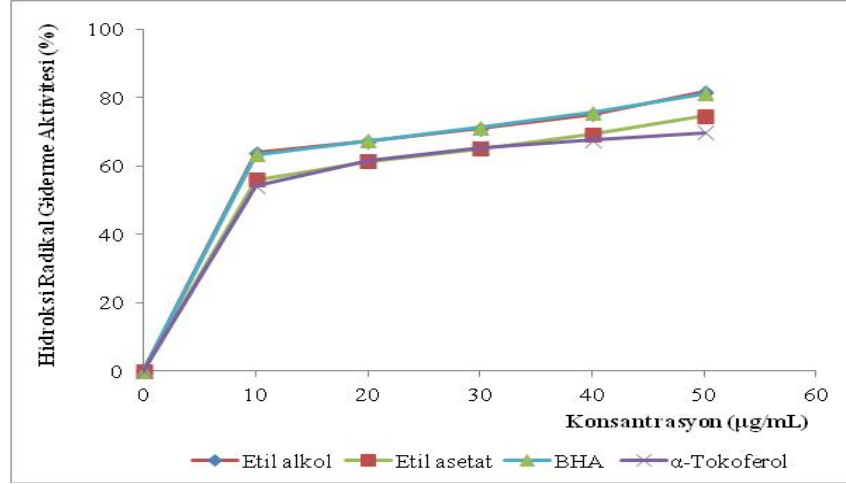
Şekil 4.8. ALA'nın bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi

4.6. HİDROKSİ RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

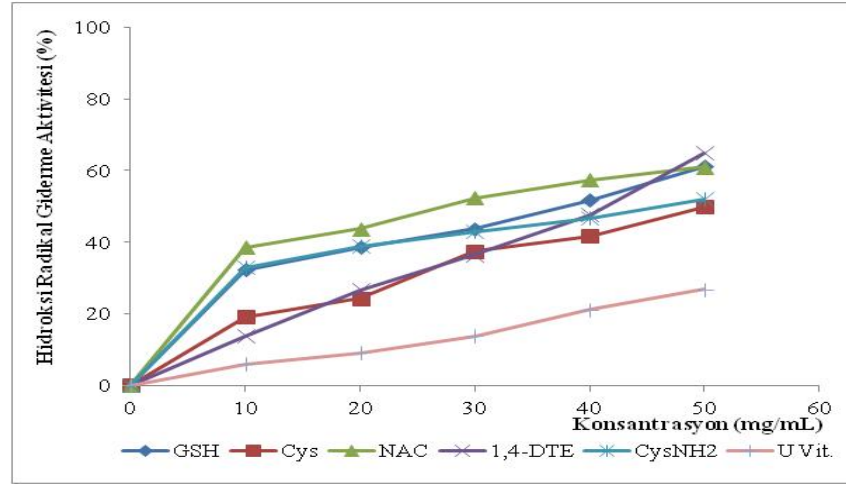
Standart, ekstre ve kükürtlü bileşiklerin hidroksi radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.9-4.12'de görülmektedir.



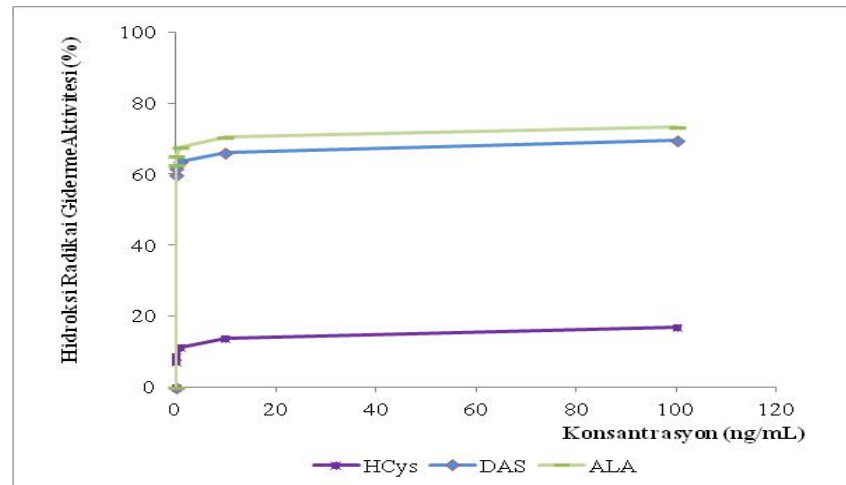
Şekil 4.9. Çirişin sulu ekstresinin ve gallik asidin hidroksi radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.10. Çirişin etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve BHA ve α -tokoferol'ün hidroksi radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.11. GSH, Cys, NAC, 1,4-DTE, CysNH₂ ve U Vit.'nin hidroksi radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.12. HCys, DAS ve ALA'nın hidroksi radikal giderme aktiviteleri

Çiriş sulu ekstresinin, hidroksi radikal giderme aktivitesi standart olarak kullanılan gallik aside göre daha yüksek bir değerde olduğu saptandı (Şekil 4.9).

Çalışmamızda standart ve ekstrelerin antioksidan aktivitelerini kıyaslayabilmek için IC_{50} değerleri hesaplandı. Düşük IC_{50} değeri yüksek antioksidan aktivitenin göstergesidir. Sulu çiriş ekstresinin IC_{50} değeri 44.41 ± 0.93 mg/mL'dir. GA'nın ki ise 77.13 ± 5.56 mg/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çirişin sulu ekstresinin ve gallik asidin hidroksi radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri

Ekstre ve Standart	IC_{50} değerleri (mg/mL)*
Sulu Ekstre	44.41 ± 0.93
Gallik Asit	77.13 ± 5.56

*Ortalama \pm SD

Çirişin etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve standartların hidroksi radikal giderme aktivitesi Şekil 4.10'da görülmektedir. Etil alkollü ekstrenin IC_{50} değeri etil asetatlı ekstre ve standartlardan daha yüksek bir aktivite göstermektedir. IC_{50} değerlerine göre hidroksi radikal giderme aktivitesi ekstre ve standartlarda etil alkol=BHA>etil asetat> α -tokoferol>sulu ekstre>gallik asit şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.4-4.5).

Tablo 4.5. Çirişin etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve BHA'nın ve α -tokoferol'ün hidroksi radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri

Ekstre ve Standartlar	IC_{50} değerleri (μ g/mL)*
Etil Alkollü Ekstre	7.82 ± 0.09
Etil Asetatlı Ekstre	8.93 ± 0.33
BHA	7.90 ± 0.13
α -Tokoferol	9.24 ± 0.14

*Ortalama \pm SD

Kükürtlü bileşiklerin hidroksi radikal giderme aktiviteleri ise Şekil 4.11-4.12'de verildi. En yüksek hidroksi radikal giderme aktivitesinin ALA'da (7.99 ± 1.25 pg/mL), en

düşük radikal giderme aktivitesinin ise U vitamininde (92.00 ± 2.16 mg/mL) olduğu hesaplandı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Kükürtlü bileşiklerin hidroksi radikal giderme aktivitelere ait IC₅₀ değerleri

Kükürtlü Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (mg/mL)*
L-Glutatyon	36.42 ± 0.76
L-Sistein	50.05 ± 1.26
N-Asetil L-sistein	29.07 ± 1.04
DL-Homosistein	$549.17 \pm 18,45$ (ng/mL)
U Vitamini	92.00 ± 2.16
1,4-Ditiyoeritritol	42.16 ± 1.08
Sisteamin	48.14 ± 0.99
Diallil Sülfid	8.39 ± 0.05 (pg/mL)
α -Lipoik Asit	7.99 ± 1.25 (pg/mL)

*Ortalama \pm SD

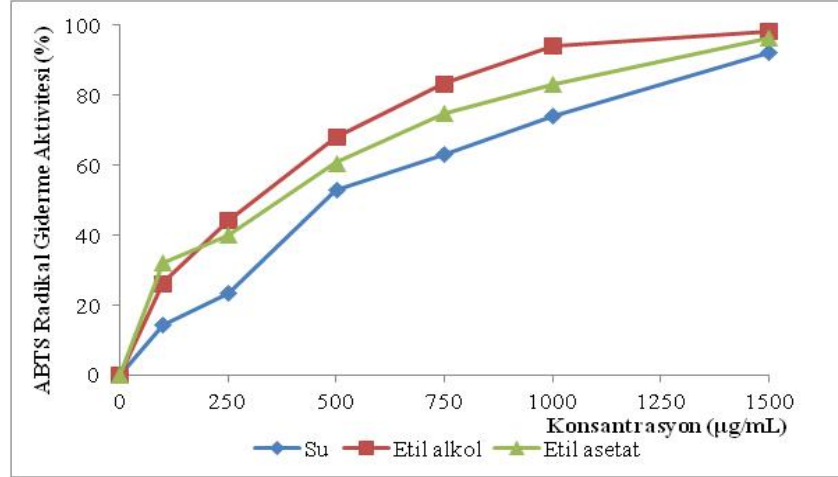
Kükürtlü bileşiklerin hidroksi radikal giderme aktiviteleri ALA>DAS>HCys >NAC>GSH>1,4-DTE>CysNH₂>Cys>U vitamini şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.6).

Hidroksi radikal giderme aktivitesinin DAS, ALA ve HCys'de bitki ekstralarına göre daha yüksek bir değerde olduğu görüldü (Tablo 4.4-4.6).

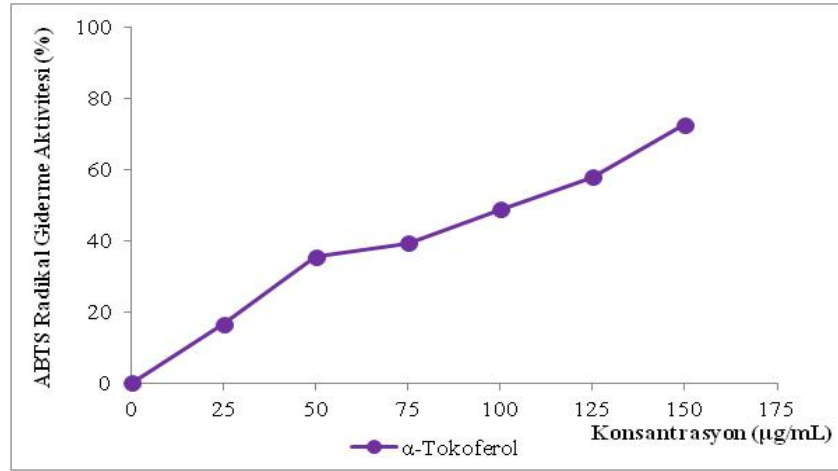
4.7. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

ABTS metodu 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenotiyazolin-6-sülfonik asid) diamonyum tuzu gibi bir bileşiğin ortamdan yok edilmesine, bir başka deyişle inhibisyonuna dayalı bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir.

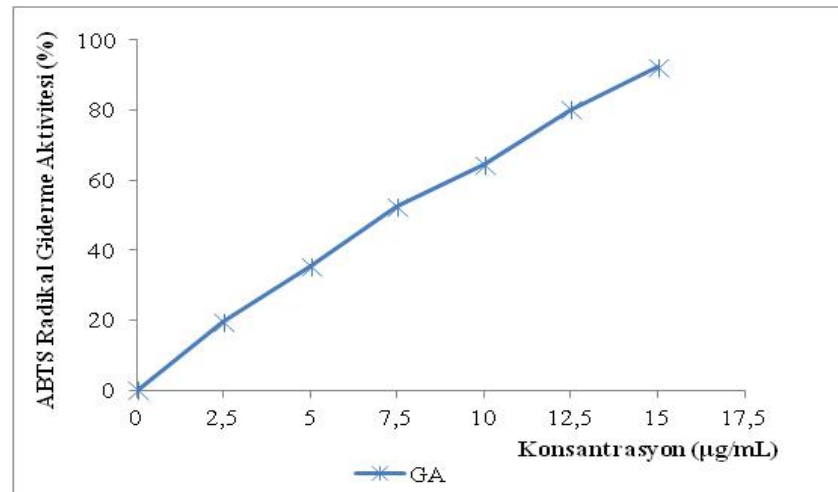
Çalışmamızda ekstraların, standartların ve kükürtlü bileşiklerin ABTS radikal giderme aktivitesi Şekil 4.13-4.16'da verildi.



Şekil 4.13. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ABTS radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.14. α-Tokoferol'ün ABTS radikal giderme aktivitesi



Şekil 4.15. Gallik asidin ABTS radikal giderme aktivitesi

IC₅₀ değerlerine bakıldığında en düşük IC₅₀ değerinin gallik asitte (7.13 ± 0.10 $\mu\text{g/mL}$), en yüksek IC₅₀ değerinin ise 469.43 ± 13.24 $\mu\text{g/mL}$ olarak sulu ekstrede olduğu bulundu (Tablo 4.7).

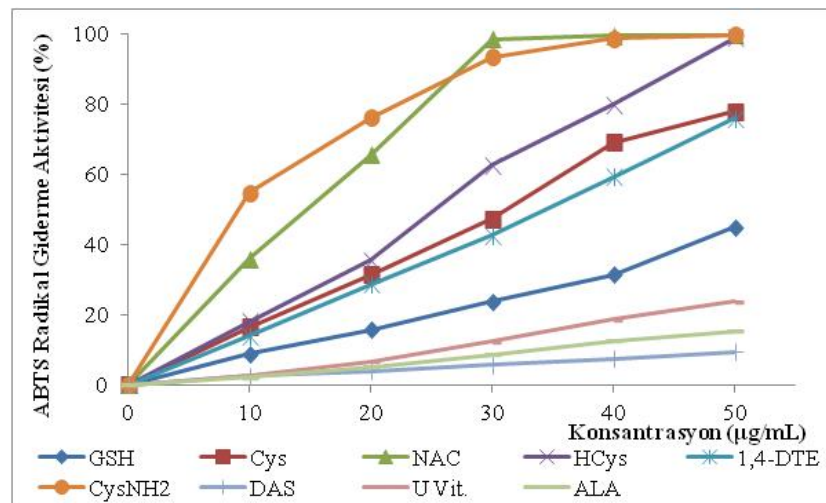
Tablo 4.7. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve α -tokoferol ve gallik asidin ABTS radikal giderme aktivitelerine ait IC₅₀ değerleri

Ekstre ve Standartlar	IC ₅₀ değerleri ($\mu\text{g/mL}$)*
Sulu Ekstre	469.43 ± 13.24
Etil Alkollü Ekstre	312.71 ± 19.94
Etil Asetatlı Ekstre	375.01 ± 6.74
Gallik Asit	7.13 ± 0.10
α -Tokoferol	102.45 ± 1.90

*Ortalama \pm SD

ABTS radikal giderme aktiviteleri gallik asit > α -tokoferol > etil alkol > etil asetat > sulu ekstre şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.7).

Kükürtlü bileşiklerin ABTS radikal giderme aktiviteleri ise Şekil 4.16'da gösterilmektedir. En yüksek ABTS radikal giderme aktivitesi sisteaminde (9.12 ± 0.06 $\mu\text{g/mL}$) en düşük ABTS radikal giderme aktivitesinin ise diallil sülfidde (290.92 ± 31.94 $\mu\text{g/mL}$) olduğu bulundu (Tablo 4.7).



Şekil 4.16. GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE, CysNH₂, DAS, U Vit. ve ALA'nın ABTS radikal giderme aktiviteleri

Tablo 4.8. Kükürtlü bileşiklerin ABTS radikal giderme aktivitelere ait IC₅₀ değerleri

Kükürtlü Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)*
L-Glutatyon	58.65 ± 0.92
L-Sistein	31.74 ± 0.53
N-Asetil L-Sistein	13.96 ± 0.68
DL-Homosistein	25.66 ± 0.21
U Vitamini	153.11 ± 4.12
1,4-Ditiyoeritrol	35.30 ± 1.13
Sisteamin	9.12 ± 0.06
Diallil Sülfid	290.92 ± 31.94
α-Lipoik Asit	98.18 ± 0.15

*Ortalama ± SD

Kükürtlü bileşiklerin ABTS radikal giderme aktivitesi CysNH₂>NAC>1,4-DTE>Cys>ALA>U vitamini>DAS şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.8).

Ekstreler ile kükürtlü bileşikler karşılaştırıldığında kükürtlü bileşiklerin diallil sülfid ve U vitamini hariç diğerlerinde yüksek bir ABTS radikal giderme aktivitesine sahip olduğu görüldü.

4.8. DPPH RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

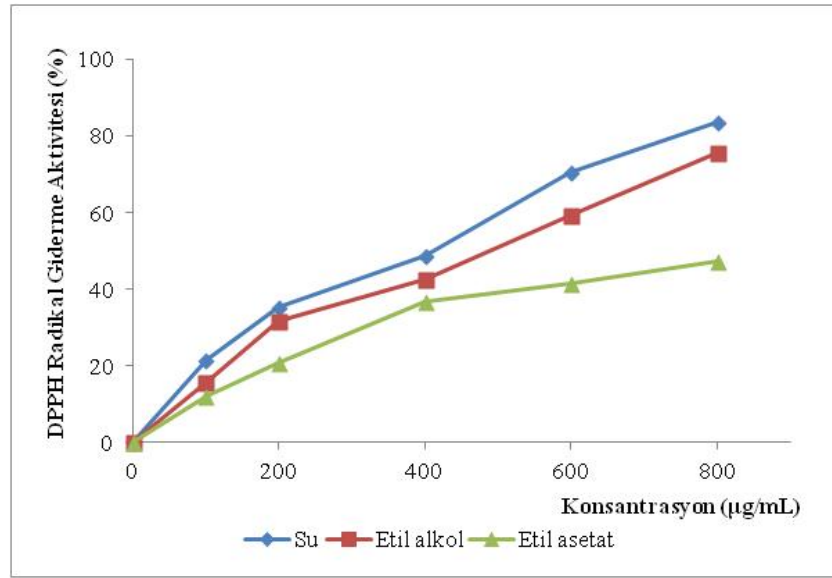
Genel olarak kimyasal maddelerin elektron verme yetenekleri lipid peroksidasyonuna karşı gösterdikleri antioksidan aktivitenin sonucudur. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi hidrojen verme potansiyelinin araştırılması için en kısa ve en ucuz yöntemlerden biridir (Chen ve Ho, 1995).

Vücuttan zararlı ve hastalık yapıcı serbest radikallerin uzaklaştırılması insan organizması için çok önemlidir. Bu amaçla çalışmamızda azot merkezli stabil radikal olan DPPH radikali, serbest radikalleri giderme aktivitesi için kullanılmıştır (Kikuzaki ve diğ., 2002).

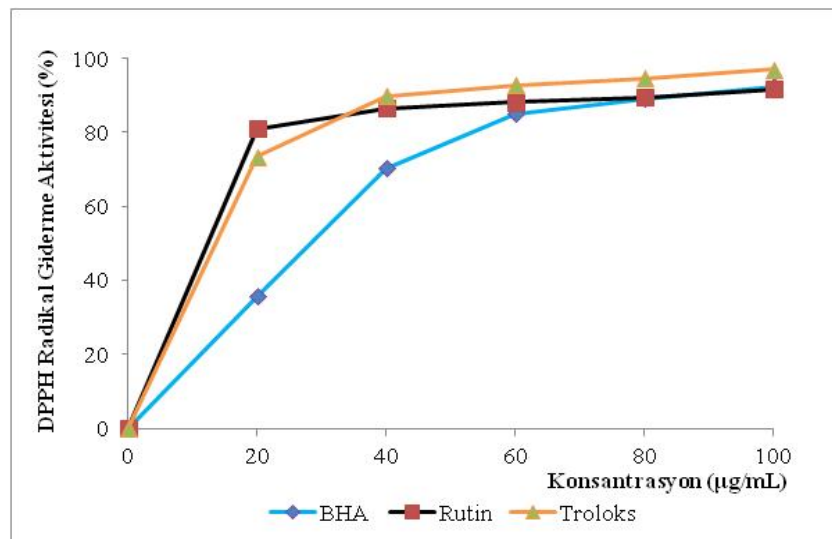
Çalışmamızda ekstrelerin ve standartların DPPH radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.17 ve 4.18'de görülmektedir. Ekstre, standart ve kükürtlü bileşiklerde DPPH radikal

giderme aktivitesi konsantrasyon artışı ile artmaktadır. Test edilen maddelerin konsantrasyonları ile antioksidan aktivitenin doğru orantılı bir şekilde arttığı görülmektedir.

Çalışmada ekstreler içinde en yüksek DPPH radikal giderme aktivitesinin sulu ekstrede, en düşük DPPH radikal giderme aktivitesi ise etil asetatlı ekstrede olduğu görüldü (Tablo 4.9).



Şekil 4.17. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin DPPH radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.18. BHA, rutin ve Troloks'un DPPH radikal giderme aktiviteleri

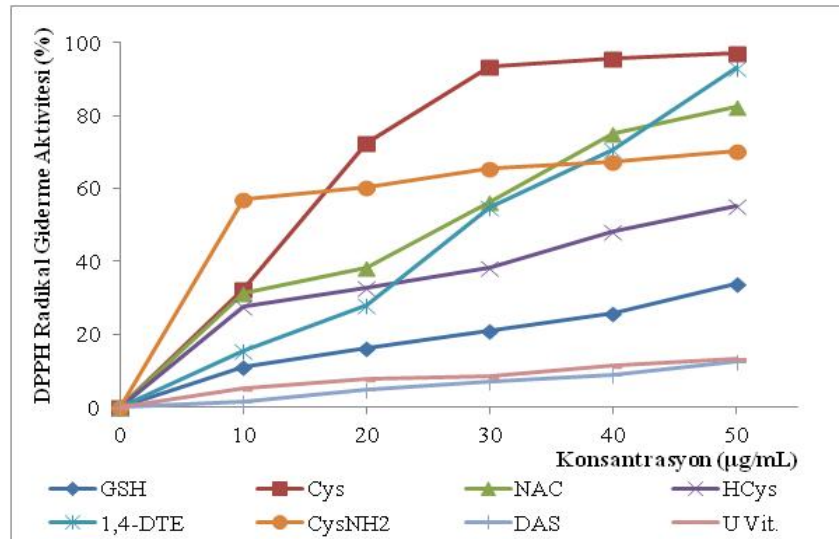
Tablo 4.9. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve BHA, rutin ve Troloks'un DPPH radikal giderme aktivitelere ait IC₅₀ değerleri

Ekstre ve Standartlar	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)*
Sulu Ekstre	408.88 ± 4.13
Etil Alkollü Ekstre	481.62 ± 2.64
Etil Asetatlı Ekstre	842.88 ± 19.43
BHA	28.21 ± 1.73
Rutin	13.62 ± 0.12
Troloks	12.34 ± 0.16

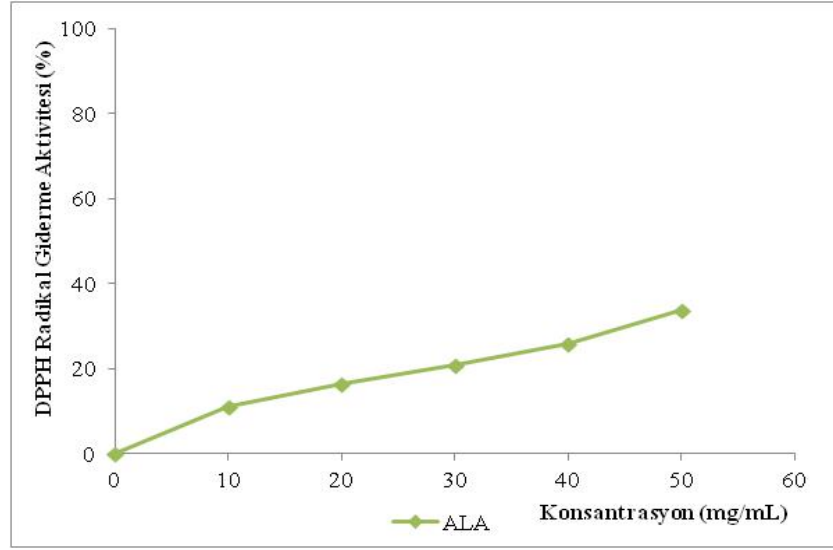
*Ortalama ± SD

IC₅₀ değerlerine göre, standartların IC₅₀ değerlerinin ekstrele göre daha düşük değerde olduğu saptandı (Tablo 4.9). DPPH radikal giderme aktivitesi ekstre ve standartlarda Troloks>rutin>BHA>sulu >etil alkol>etil asetat şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.9).

Kükürtlü bileşiklerin DPPH radikal giderme aktivitele Şekil 4.19'da verildi. Kükürtlü bileşiklerin içinde en düşük IC₅₀ değerine sisteaminin (8.80 ± 0.16 µg/mL), en yüksek IC₅₀ değerine ise U vitamininin (232.02 ± 15.32 µg/mL) sahip olduğu bulundu (Tablo 4.10).



Şekil 4.19. GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE, CysNH₂, DAS ve U Vit.'nin DPPH radikal giderme aktivitelele



Şekil 4.20. ALA'nın DPPH radikal giderme aktivitesi

Tablo 4.10. Kükürtlü bileşiklerin DPPH radikal giderme aktivitesine ait IC₅₀ değerleri

Kükürtlü Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)*
L-Glutatyon	81.37 ± 2.76
L-Sistein	15.40 ± 0.17
N-Asetil L-Sistein	25.20 ± 0.23
DL-Homosistein	41.32 ± 1.84
U Vitamini	232.02 ± 15.32
1,4-Ditiyoteritritol	28.80 ± 0.16
Sisteamin	8.80 ± 0.16
Diallil Sülfid	198.41 ± 15.55
α-Lipoik Asit	126.33 ± 12.83 (mg/mL)

*Ortalama ± SD

Kükürtlü bileşiklerden α-lipoik asit hariç diğerlerinin tümünün bitki ekstrallerinden yüksek bir DPPH radikal giderme aktivitesine sahip olduğu görüldü (Tablo 4.10).

4.9. DMPD RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

Çalışmamızda, çirışın sulu ekstresinin ve askorbik asidin DMPD radikal giderme aktiviteleri Tablo 4.11’de verildi.

Etil alkol ve etil asetat ekstrlerinin ve Troloks’un DMPD radikal giderme aktiviteleri Tablo 4.12’de verildi. Etil alkol ve etil asetat ekstrlerinin sulu ekstreten daha yüksek bir DMPD radikal giderme aktivitesine sahip olduğu Tablo 4.12’de görölmektedir.

Tablo 4.11. Çirışın sulu ekstresinin ve askorbik asidin DMPD radikal giderme aktiviteleri*

Ekstre Miktarı (µg/mL)	Sulu Ekstre	Madde Miktarı (µg/mL)	L-Askorbik Asit
100	49.92 ± 0.28	1	37.51 ± 0.77
250	63.78 ± 0.56	5	54.24 ± 0.61
500	73.75 ± 0.06	10	72.77 ± 0.17
750	79.59 ± 0.26	50	96.11 ± 0.51
1000	82.47 ± 0.30	100	98.85 ± 0.35

*Ortalama ± SD

IC₅₀ değerlerine göre standart ve etil alkol ve etil asetat ekstrlerinin DMPD radikal giderme aktivitelerine bakıldığında (Tablo 4.12), en düşük IC₅₀ değerine etil alkollü ekstreten sahip olduğu (75.43 ± 1.62 pg/mL) bulundu (Tablo 4.13).

Tablo 4.12. Çirışın etil alkollü ve etil asetatlı ekstrlerinin ve Troloks'un DMPD radikal giderme aktiviteleri*

Ekstre Miktarı (ng/mL)	Etil Alkollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre
0.01	63.65 ± 0.55	59.69 ± 0.28
0.1	66.32 ± 1.42	62.29 ± 0.92
Madde Miktarı (µg/mL)	Troloks	
1	48.73 ± 0.83	
5	55.53 ± 0.39	
10	59.64 ± 0.64	
50	66.07 ± 0.82	
100	71.99 ± 1.01	

*Ortalama ± SD

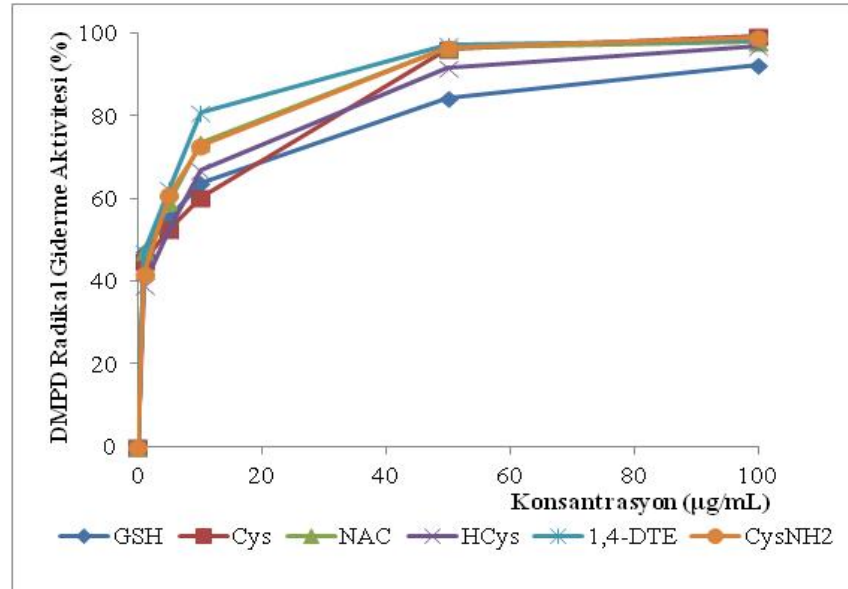
Tablo 4.13. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve askorbik asit ve Troloks'un DMPD radikal giderme aktivitelere ait IC₅₀ değerleri

Ekstre ve Standartlar	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)*
Sulu Ekstre	100.15 ± 0.56
Etil Alkollü Ekstre	75.43 ± 1.61 (pg/mL)
Etil Asetatlı Ekstre	80.20 ± 1.31 (pg/mL)
L-Askorbik Asit	4.61 ± 0.05
Troloks	1.02 ± 0.01

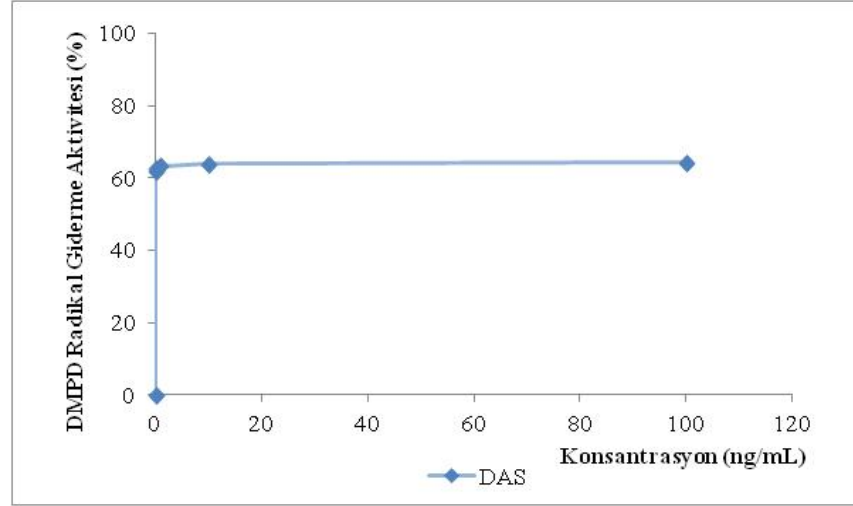
*Ortalama ± SD

DMPD radikal giderme aktiviteleri standart ve ekstralarda etil alkol>etil asetat>Troloks>askorbik asit>sulu ekstre şeklinde azalma göstermektedir (Tablo 4.13).

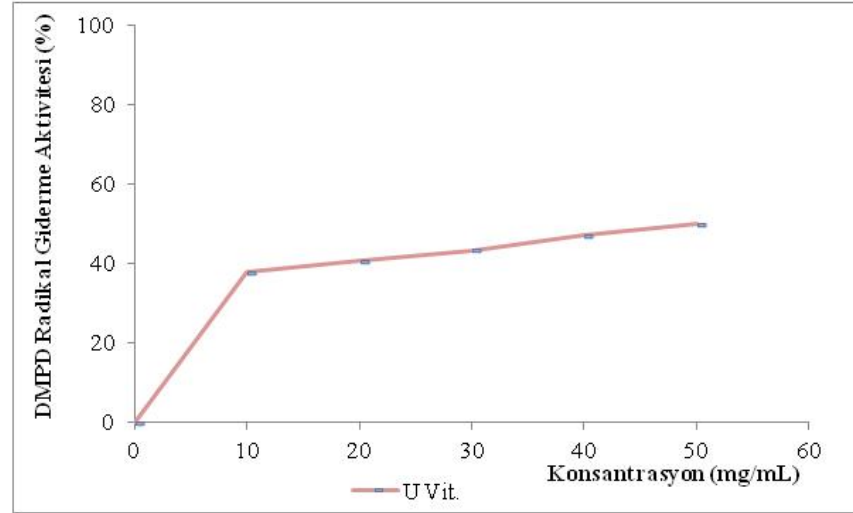
Kükürtlü bileşiklerin DMPD radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.20-4.23'te verildi.



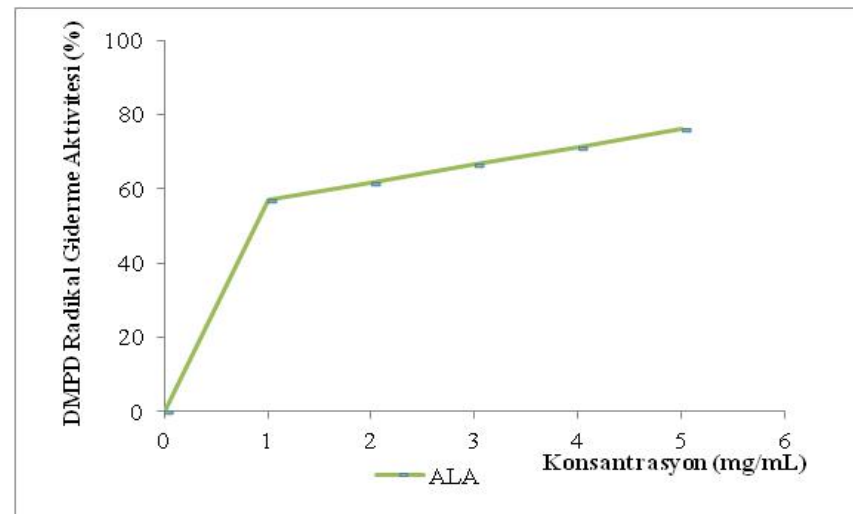
Şekil 4.21. GSH, Cys, NAC, HCys, 1,4-DTE ve CysNH₂'nin DMPD radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.22. DAS'nin DMPD radikal giderme aktivitesi



Şekil 4.23. U Vit.'nin DMPD radikal giderme aktivitesi



Şekil 4.24. ALA'nın DMPD radikal giderme aktivitesi

Kükürtlü bileşiklerin DMPD radikal giderme aktiviteleri, IC₅₀ değerlerine göre mukayese edildiğinde, DAS>GSH=NAC>1,4-DTE>CysNH₂>Cys=HCys>ALA>U vitamini şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. Kükürtlü bileşiklerin DMPD radikal giderme aktivitelerine ait IC₅₀ değerleri

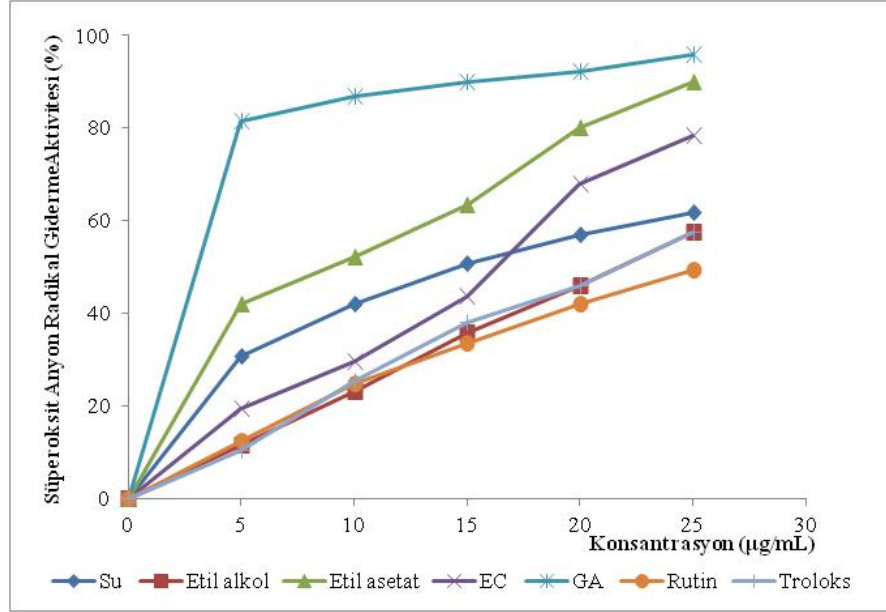
Kükürtlü Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)*
L-Glutatyon	1.06 ± 0.02
L-Sistein	4.76 ± 0.06
N-Asetil L-Sistein	1.06 ± 0.01
DL-Homosistein	4.76 ± 0.02
U Vitamini	50.04 ± 1.48 (mg/mL)
1,4-Ditiyoeritrol	1.07 ± 0.01
Sisteamin	4.12 ± 0.06
Diallil Sülfid	7.96 ± 0.82 (pg/mL)
α-Lipoik Asit	879.24 ± 14.40

*Ortalama ± SD

Etil alkollü ve etil asetatlı bitki ekstralarının DMPD radikal giderme aktiviteleri kükürtlü bileşiklerden daha yüksek bir değer gösterdi. Kükürtlü bileşikler içinde diallil sülfidin yüksek bir DMPD aktivitesine sahip olduğu bulundu (Tablo 4.14).

4.10. SÜPEROKSİT ANYON RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

Ekstre ve standartların süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.24'te görülmektedir. Şekil 4.24'e göre ekstraların ve standartların süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri GA>etil asetat>EC>su>etil alkol=Troloks>rutin şeklinde azalma göstermektedir (Şekil 4.24).



Şekil 4.25. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve epikateşin, gallik asit, rutin ve Troloks'un süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri

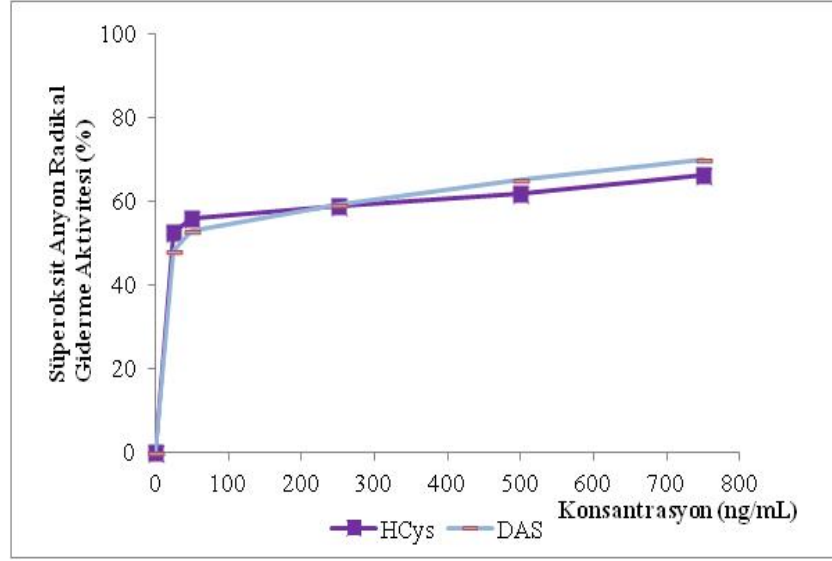
En düşük IC_{50} değeri gallik asidde ($3.07 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$), en yüksek IC_{50} değeri ise rutinde ($25.34 \pm 1.07 \mu\text{g/mL}$) saptanmıştır.

Tablo 4.15. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve epikateşin, gallik asit, rutin ve Troloks'un süperoksit anyon radikal giderme aktivitesine ait IC_{50} değerleri

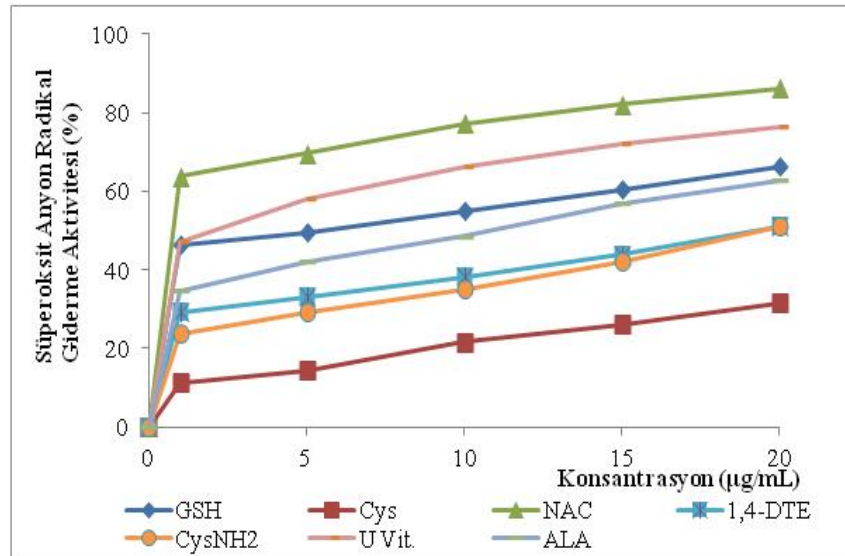
Ekstre ve Standartlar	IC_{50} değerleri ($\mu\text{g/mL}$)*
Sulu Ekstre	17.62 ± 0.65
Etil Alkollü Ekstre	21.77 ± 0.64
Etil Asetatlı Ekstre	8.83 ± 1.64
Epikateşin	17.41 ± 2.27
Gallik Asit	3.07 ± 0.02
Troloks	21.77 ± 0.91
Rutin	25.34 ± 1.07

*Ortalama \pm SD

Kükürtlü bileşiklerde ise en yüksek radikal giderme aktivitesi DAS'de görüldü (Şekil 4.25).



Şekil 4.26. HCys ve DAS'nin süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.27. GSH, Cys, NAC, 1,4-DTE, CysNH₂, U Vit. ve ALA'nın süperoksit anyon radikal giderme aktiviteleri

IC₅₀ değerlerine göre sıralandığında DAS>HCys>NAC>GSH>1,4-DTE>CysNH₂>Cys>U vitamini>ALA şeklinde radikal giderme aktiviteleri sıralanmaktadır (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Kükürtlü bileşiklerin süperoksit anyon radikal giderme aktivitesine ait IC₅₀ değerleri

Kükürtlü Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)*
L-Glutasyon	5.11 ± 0.28
L-Sistein	37.10 ± 2.32
N-Asetil L-Sistein	0.78 ± 0.01
DL-Homosistein	27.34 ± 0.42 (ng/mL)
U Vitamini	52.16 ± 1.73
1,4-Ditiyoeritritol	19.81 ± 0.91
Sisteamin	20.09 ± 1.57
Diallil Sülfid	26.21 ± 0.31 (ng/mL)
α-Lipoik Asit	157.25 ± 4.71

*Ortalama ± SD

4.11. FERRİ İYONU REDÜKLEYİCİ ANTIOKSİDAN PARAMETRE DENEYİ

Ekstre, standart ve kükürtlü bileşiklerin ferri iyonu redükleyici antioksidan aktivite (FRAP) değerleri Tablo 4.17-4.19'da verildi.

Tablo 4.17'ye göre sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin FRAP değerlerinin alınan ekstre miktarına bağlı olarak arttığı görüldü. En yüksek FRAP değeri etil asetatlı ekstrede bulundu. Daha sonra bunu sulu ve etil alkollü ekstrelerin takip ettiği görüldü (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin ve askorbik asit ve α-tokoferol'ün ferri iyonu indirgeme antioksidan güçleri (FRAP)

Ekstre Miktarı (µg/mL)	Sulu Ekstre (µM Fe ²⁺)*	L-Askorbik Asit (µM Fe ²⁺)*
50	-	93.94 ± 0.91
100	-	186.54 ± 1.23
150	-	275.87 ± 2.11
200	-	330.14 ± 0.92
250	15.92 ± 0.76	350.21 ± 1.12
500	23.89 ± 0.43	-
750	32.99 ± 0.60	-
1000	44.09 ± 1.49	-
1250	55.99 ± 0.70	-

Ekstre Miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	Etil Alkollü Ekstre ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	Etil Asetatlı Ekstre ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	α -Tokoferol ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*
50	-	-	31.12 \pm 1.24
100	-	-	56.38 \pm 1.66
150	-	-	78.33 \pm 1.65
200	-	-	108.97 \pm 0.99
250	13.33 \pm 0.90	17.94 \pm 0.49	146.77 \pm 1.59
500	18.95 \pm 0.79	28.96 \pm 0.76	-
750	26.22 \pm 0.85	41.22 \pm 0.84	-
1000	31.99 \pm 0.52	50.43 \pm 1.05	-
1250	38.83 \pm 0.76	63.90 \pm 1.60	-

*Ortalama \pm SD

Kükürtlü bileşiklerde ise, Cys, NAC ve 1,4-DTE'de FRAP değerleri 25-150 $\mu\text{g/mL}$ arasında değer verirken, HCys, GSH, CysNH₂, DAS'de 250-1500 $\mu\text{g/mL}$ arasında, ALA ve U vitamini ise 2.5-15 mg/mL konsantrasyon aralığında FRAP değerleri hesaplanabildi (Tablo 4.17-4.19). Tüm ekstrelerde, standart ve kükürtlü bileşiklerde FRAP değerleri ekstre miktarlarının artışı ile orantılı bir şekilde arttı.

Tablo 4.18. Cys, NAC, 1,4-DTE, HCys, GSH ve CysNH₂'nin ferri iyonu indirgeme antioksidan güçleri (FRAP)

Madde Miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	L-Sistein ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	N-Asetil L-Sistein ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	1,4-Ditiyoeritritol ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*
25	9.23 \pm 0.29	31.22 \pm 0.72	61.38 \pm 0.86
50	12.01 \pm 0.32	60.03 \pm 0.72	122.47 \pm 1.75
75	14.89 \pm 0.44	75.21 \pm 1.52	170.97 \pm 0.44
100	18.73 \pm 0.58	114.28 \pm 1.45	225.63 \pm 1.44
150	22.67 \pm 1.42	158.39 \pm 1.45	298.34 \pm 2.89
Madde Miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	DL-Homosistein ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	L-Glutatyon ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	Sisteamin ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*
250	34.67 \pm 1.76	23.34 \pm 1.15	9.22 \pm 0.29
500	64.45 \pm 1.92	41.40 \pm 1.16	11.33 \pm 0.44
750	91.35 \pm 1.44	60.70 \pm 2.40	15.46 \pm 0.83
1000	122.66 \pm 2.04	77.03 \pm 1.01	18.73 \pm 0.58
1500	183.07 \pm 3.02	116.61 \pm 1.85	23.63 \pm 3.77

*Ortalama \pm SD

Tablo 4.19. DAS, ALA ve U Vit.'nin ferri iyonu indirgeme antioksidan güçleri (FRAP)

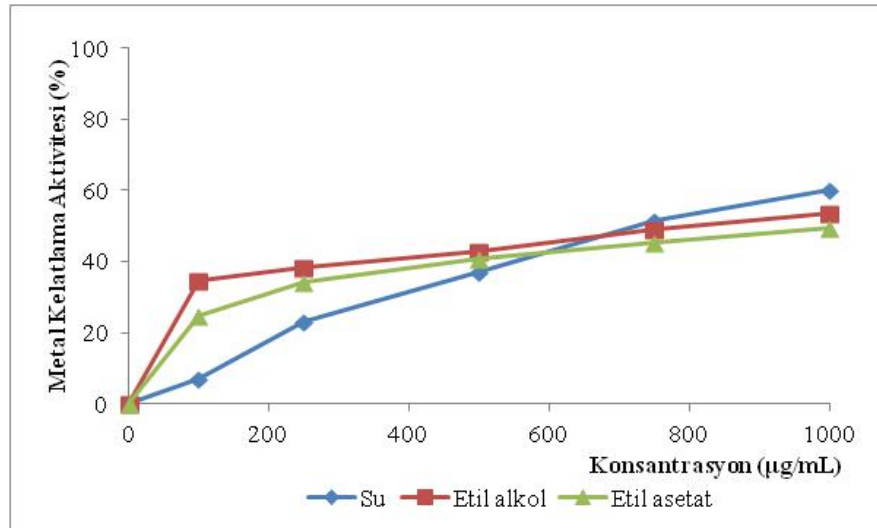
Madde Miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	Diallil Sülfid ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	
250	12.77 \pm 0.17	
500	14.31 \pm 0.44	
750	15.56 \pm 0.29	
1000	17.00 \pm 0.58	
1500	19.98 \pm 0.33	

Madde Miktarı (mg/mL)	α -Lipoik Asit ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*	U Vitamini ($\mu\text{M Fe}^{2+}$)*
2.5	35.73 \pm 0.58	6.79 \pm 0.03
5.0	65.60 \pm 0.88	7.00 \pm 0.03
7.5	97.11 \pm 1.15	7.17 \pm 0.07
10.0	127.65 \pm 0.58	7.38 \pm 0.05
15.0	153.59 \pm 0.58	7.66 \pm 0.06

*Ortalama \pm

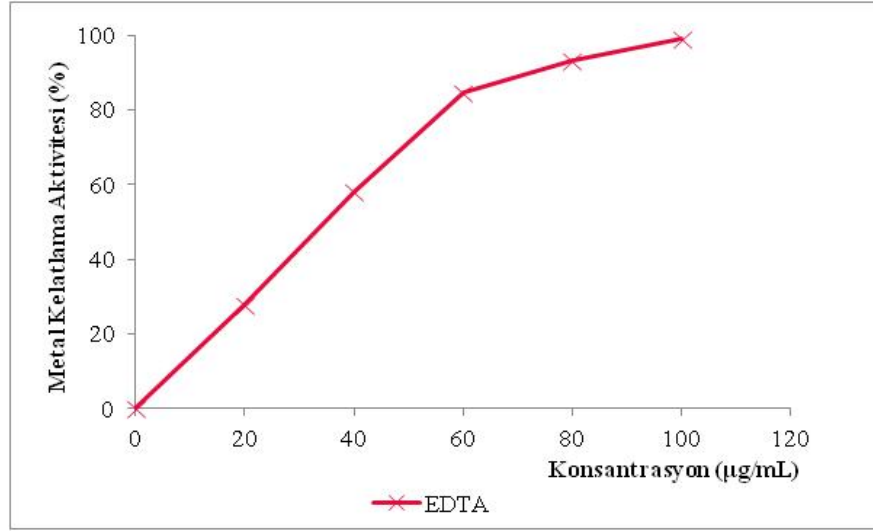
4.12. METAL KELATLAMA AKTİVİTESİ

Çalışmamızda çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının ve standart madde olarak kullanılan EDTA ile gallik asidin metal kelatlama aktiviteleri Şekil 4.27-4.29'da verildi.

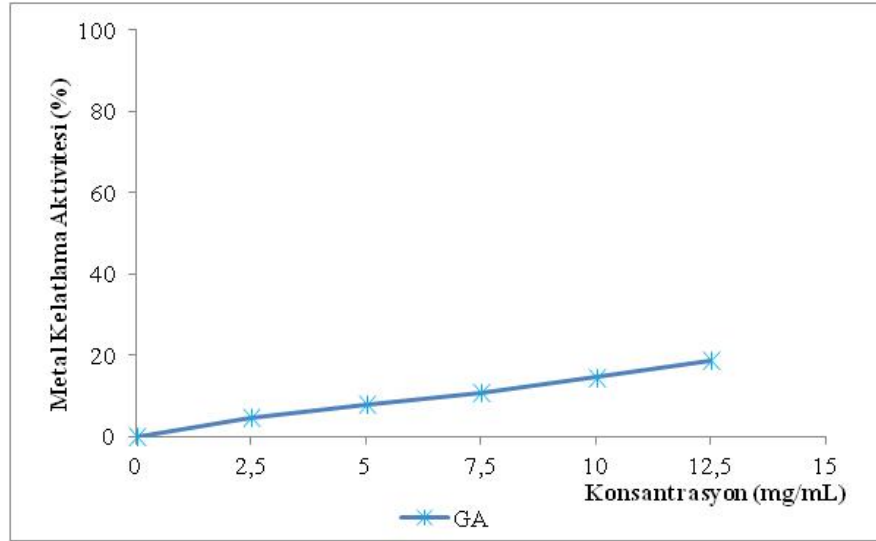


Şekil 4.28. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının metal kelatlama aktiviteleri

Şekil 4.27'ye göre metal kelatlama aktivitesinin en yüksek sulu, en düşük etil asetatlı ekstrede olduğu görüldü (Tablo 4.20).



Şekil 4.29. EDTA'nın metal kelatlama aktivitesi



Şekil 4.30. Gallik asidin metal kelatlama aktivitesi

Standartların metal kelatlama aktivitelerinin ise EDTA>gallik asit şeklinde olduğu bulundu (Şekil 4.28 ve 4.29).

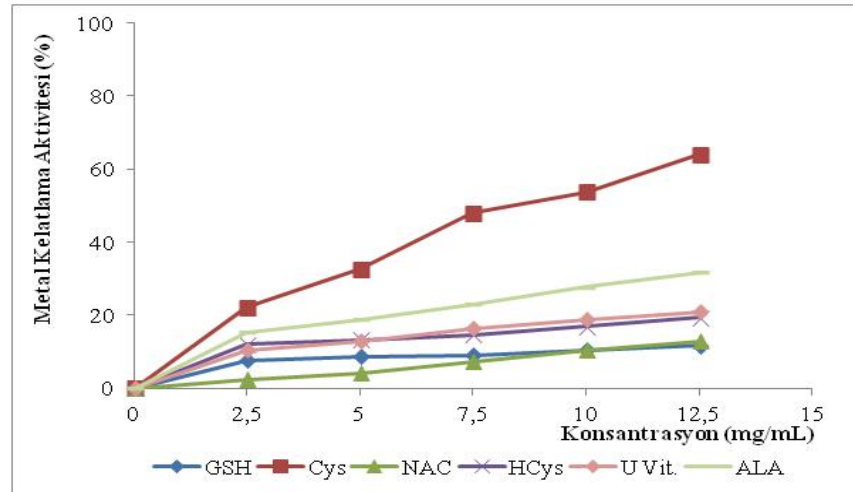
Ekstre ve standartların IC₅₀ değerleri Tablo 4.20'de verildi. Buna göre, ekstrelerin ve standartların IC₅₀ değerleri EDTA>sulu>etil alkollü>etil asetatlı>gallik asit şeklinde sıralanmaktadır (Tablo 4.20).

Tablo 4.20. Çirişin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrlerinin ve EDTA ve gallik asidin metal kelatlama aktivitelere ait IC₅₀ değerleri

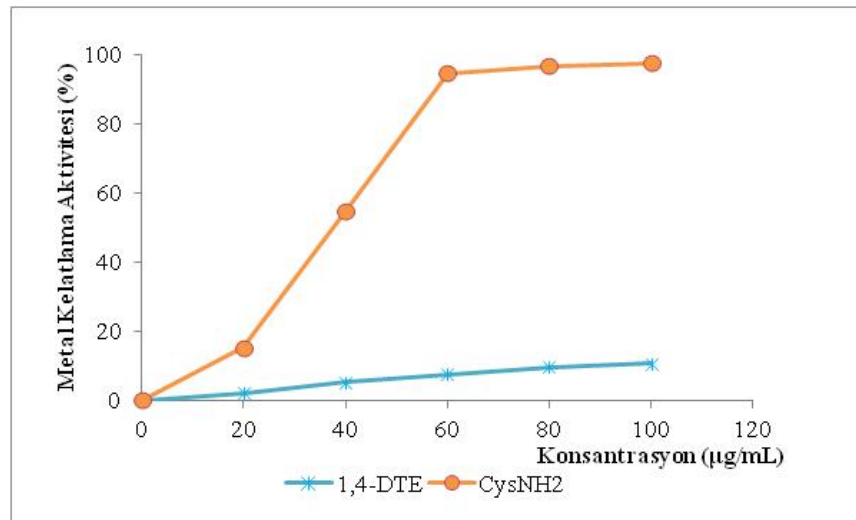
Ekstre ve Standartlar	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)*
Sulu Ekstre	727.48 ± 12.87
Etil Alkollü Ekstre	817.42 ± 26.21
Etil Asetatlı Ekstre	1010.24 ± 10.29
EDTA	34.67 ± 0.35
Gallik Asit	35.57 ± 0.87 (mg/mL)

*Ortalama ± SD

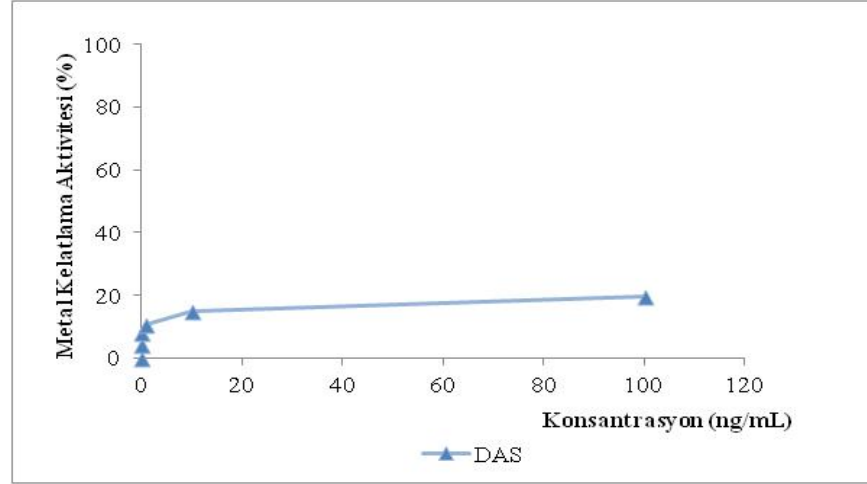
Kükürtlü bileşiklerin metal kelatlama aktivitelere Şekil 4.30-4.32'de verildi.



Şekil 4.31. GSH, Cys, NAC, HCys, U Vit. ve ALA'nın metal kelatlama aktivitelere



Şekil 4.32. 1,4-DTE ve CysNH₂'nin metal kelatlama aktivitelere



Şekil 4.33. DAS'nin metal kelatlama aktivitesi

Kükürtlü bileşiklerin metal kelatlama aktiviteleri $\text{DAS} > \text{CysNH}_2 > 1,4\text{-DTE} > \text{Cys} > \text{ALA} > \text{U vitamini} > \text{HCys} > \text{NAC} > \text{GSH}$ şeklinde sıralanabilir (Şekil 4.30-4.32).

Çalışmamızda kullanılan kükürtlü bileşiklerin metal kelatlama aktivitelerine ait IC_{50} değerleri Tablo 4.21'de gösterilmiştir.

Tablo 4.21. Kükürtlü bileşiklerin metal kelatlama aktivitelerine ait IC_{50} değerleri

Kükürtlü Bileşikler	IC_{50} değerleri (mg/mL)*
L-Glutatyon	110.37 ± 5.38
L-Sistein	8.71 ± 0.09
N-Asetil L-Sistein	46.65 ± 2.47
L-Homosistein	55.61 ± 6.51
U Vitamini	39.50 ± 0.06
1,4-Ditiyoeritritol	465.52 ± 11.68 ($\mu\text{g/mL}$)
Sisteamin	38.95 ± 0.23 ($\mu\text{g/mL}$)
Diallil Sülfid	379.73 ± 39.45 (ng/mL)
α -Lipoik Asit	23.38 ± 0.79

*Ortalama \pm SD

Tablo 4.21'e göre, kükürtlü bileşikler arasında en düşük IC_{50} değerinin DAS'de (379.73 ± 39.45 ng/mL), en yüksek IC_{50} değerinin ise GSH'ta (110.37 ± 5.38 mg/mL) olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.20 ve 4.21 karşılaştırıldığında kükürtlü bileşiklerin tümünün metal kelatlama aktivitelerinin bitki ekstraktlarından daha yüksek değerde olduğu görüldü.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dışarıdan besin yolu ile aldığımız gıdaların besleyici olması, kaliteli bir yaşam sürdürebilmemiz için gereklidir. Besin kalitesinin yüksek olması, yaşam kalitesinin de yüksek olmasının bir nevi ön şartıdır.

Beslenmenin çeşitli hastalıkların önlenmesinde etkili olduğu bilinmekte olup, bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda diyetel faktörlerin çeşitli mekanizmalarla oksidatif stresi azalttıkları tespit edilmiştir (Serafini ve Del Rio, 2004). Antioksidanlar lipid oksidasyonunu engeller veya geciktirirler. Böylece hem gıdaların kalitesi korunmakta hem de bu gıdaların raf ömrü uzamaktadır. Oksidasyonu önlemek için gıdalara antioksidanlar ilave edilmekte ve bu amaçla antioksidan olarak BHT, BHA, TBHQ gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Literatürde son yıllarda bu sentetik antioksidanların toksik olduğu ileri sürülmektedir ve BHA ve BHT'nin karaciğer hasarı ve kansere neden olduğu belirtilmektedir (Wichi, 1988; Sherwin, 1990). BHT düşük konsantrasyonda düşük mutajeniteye sahiptir, fakat yüksek konsantrasyonda mutajenitesi önemli oranda artmaktadır (Shahidi ve Wanasundura, 1992). BHT'nin yüksek dozlarda fare ve gine domuzlarında ölümle sonuçlanabilecek iç ve dış kanamaya neden olabileceği rapor edilmiştir (Chen ve diğ., 1992). Son yıllarda sentetik antioksidanların mutajenik ve kanserojen olduğuna dair yapılan çalışmalardan dolayı doğal ve güvenli antioksidanlara olan ilgi artmaktadır (Moure ve diğ., 2001; Oktay ve diğ., 2003; Gülçin, 2006).

Meyve ve sebzeler, hem yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmaları hem de iyi bir antioksidan karışımı ve kombinasyonunu temsil etmeleri açısından çok önemli doğal antioksidan kaynakları arasında sayılmaktadır. Meyve ve sebzeler E vitamini, C vitamini, karotenoit gibi bileşiklere ilaveten güçlü antioksidan aktiviteye sahip flavonoit, kateşin, antosiyanin, izoflavon gibi fenolik bileşikler de içermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda insanlarda koroner kalp hastalıkları ile alınan flavonoit

miktarlarının ilişkili olduğu tespit edilmiştir (How ve diğ., 2012). Ayrıca bazı çalışmalarda da kardiovasküler kalp hastalıklarına bağlı ölüm oranının azalmasının C vitamini alımı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Gordon, 1996). Bu ve buna benzer yapılan çalışmalarda kardiovasküler kalp hastalıkları ile diyetel antioksidanların tüketimi arasında bir ilişki olduğu belirlenmiş ve antioksidan alımının kardiovasküler hastalıkların azalmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür (Gaziano ve Hennekens, 1993). Beslenme ile alınan antioksidanların rolü sadece kalp hastalıkları ile sınırlı değildir. Antioksidan kanser ilişkisi ile ilgili yapılan çalışmalar, antioksidanlarca zengin sebze ve meyvelerin alımının azalmasının karaciğer, akciğer, pankreas ve daha birçok organda kanserin gelişmesinde önemli bir risk olduğunu göstermiştir (Tribble ve Frank, 1994).

Fenolik bileşikler bitkiler aleminin önemli doğal bileşenleridir ve son yıllarda gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin incelenmesi giderek önem kazanmaktadır (Nehir El ve diğ., 1999). Geniş bir aile olan fenolik bileşiklerin spesifik bir grubunun ayrı ayrı analizleri mümkün olsa da gıdalardaki toplam fenolik bileşiklerin tayini her zaman gereksinim duyulan bir analizdir.

Fenolik bileşikler ve flavonoidler yaygın olarak bitkilerde bulunan ve biyolojik membrandaki lipit peroksidasyonunu inhibe eden doğal antioksidan yapılardır. Fenolik bileşikler ve flavonoidlerin antioksidan aktivitesinin serbest radikalleri giderme, metal iyonlarla bileşik oluşturma ve singlet oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma gibi özelliklerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Cook ve Samman, 1996). Antioksidanlar hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürürler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikali, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki çiftleşmemiş elektronun yer değiştirmesi ile stabilize olur. Bu nedenle antioksidanlar moleküler yapılarında genellikle fenolik fonksiyon taşırlar.

Bitkiler fazla miktarda fenolik bileşik içerdiklerinden, antioksidanların iyi birer kaynaklarıdır (Sacan ve Yanardag, 2010). Fenolik bileşikler, *in vitro* koşullarda tokoferoller ve askorbattan daha etkili antioksidan özellik gösterirler. Polifenollerin antioksidan özellikleri, hidrojen ya da elektron donörü olma, geçiş metallerini

kelatlama, radikalleri kararlı hale getirme, zincir kırıcı etki göstermelerinden kaynaklanır. Polifenollerin, bitki hücrelerinde H₂O₂ radikal giderme mekanizmasında da yer aldığı gösterilmiştir (Takama ve Oniki, 1997; Peksel ve diğ., 2010).

Polifenolik bileşiklerin antioksidan (Dziri ve diğ., 2012), antibakteriyel (Xiong ve diğ., 2013), antiallerjik, antimutajenik, antidiyabetik, nöroprotektif ve kalp krizini önlediği literatürde çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Ikken ve diğ., 1999; Noguchi ve diğ., 1999; Saito ve Ishihara, 1997; Basli ve diğ., 2012; Habauzit ve Morand, 2012; Kesarwani ve diğ., 2012; Škrovánková ve diğ., 2012).

Diyet ile alınan flavonoidlerin kanseri (Romaglono ve Selmin, 2012), kardiyovasküler hastalıkları (Habauzit ve Morand, 2012) ve tip-2 diyabeti önlediği (van Dam ve diğ., 2012) literatürdeki çalışmalarla belirtilmiştir. Flavonoidlerin antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, kalp hastalığını koruyucu, antitrombotik, parazit önleyici, antiviral ve antikanserojenik özelliklere sahip olduğu, deri tümörlerini önlediği literatürde çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Assini ve diğ., 2012; Korkina ve diğ., 2012; Marčetić ve diğ., 2012). Bitkilerin antioksidan aktiviteleri ile flavonoit miktarları arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir (Peksel ve diğ., 2006; Peksel ve diğ., 2010).

Doğal bir antioksidan özellik gösteren fenolik ve flavonoit bileşikleri, çiriş bitki ekstrelerinde yüksek miktarda bulunmuştur. Fenolik ve flavonoit bileşiklerin fazla miktarda olması çirişin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu bize göstermektedir.

İndirgeme gücü, bitkilerdeki antioksidan özelliğın önemli bir belirteçdir. (Peksel ve diğ., 2006). Bu yöntemde, Fe³⁺/ferri siyanür kompleksinin ferro formuna dönüşmesi ile Prusya mavisi renk oluşur ve 700 nm'de bu rengin absorbansı ölçülür (Chung ve diğ., 2005). Ferri demirin indirgenmesi ile oluşan ferro demir miktarı ile diğeri antioksidan özellikler arasında güçlü bir korelasyon bulunduğu bildirilmiştir (Dorman ve diğ., 2003). Bitkinin potansiyel indirgeme gücü ekstrelerin antioksidan aktivitesinin bir göstergesidir. Fe³⁺'ün Fe²⁺'ya indirgendiği bir yöntemdir. İndirgeme kapasitesi radikal zincir reaksiyonlarının başlangıç safhasında oldukça önemlidir (Yıldırım ve diğ., 2001). Çalışmamızda ekstrelerde ve standartlarda indirgeme güçleri konsantrasyon artışı ile artmaktadır. Çalışmamızda sulu, etil alkollü ve etil asetatlı çiriş ekstrelerinin yüksek bir

indirgeme gücüne sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.1). Ekstreler içinde etil asetatlı ekstrenin diğerlerine göre daha yüksek bir indirgeme gücüne sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda, etil asetatlı ekstrede total flavonoit miktarı da diğer ekstrele göre en yüksek değerdedir. Yine bizim çalışmamızla paralel olarak, başka bitkilerle yapılan çalışmalarda da en yüksek fenolik bileşik içeriği tayin edilen etil asetatlı ekstrenin en yüksek indirgeyici güce sahip olduğu bulunmuştur (Kahraman, 2009).

Çalışmamızda, kükürtlü bileşiklerde çiriş ekstrelerine göre daha düşük bir indirgeme gücü aktivitesi saptanmıştır. Ekstrelerin yüksek bir indirgeme gücü aktivitesine sahip olması, ekstrelerin içindeki farklı bileşikler (kükürtlü bileşikler, vitaminler, flavonoidler, fenolikler) nedeni ile olabilir. Bu bileşiklerin hepsi indirgeme gücü gösterebilirler, bu nedenle indirgeme gücü kapasitesi ekstrelerde kükürtlü bileşiklere göre daha yüksektir.

İndirgeme gücü tayininde kullanılan diğer bir yöntem de (CUPRAC yöntemi) Cu^{2+} 'nın Cu^+ şeklinde indirgendiği yöntemdir. Bu yöntem kolay, hızlı bir yöntemdir. Hidrofilik ve hidrofobik bileşikler için bir antioksidan aktivite tayin yöntemidir (Apak ve diğ., 2009). Çalışmamızda çiriş ekstrelerinin antioksidan aktivitesi CUPRAC yöntemi ile tayin edilmiştir. Demir iyonlarının indirgenme gücünde olduğu gibi bu yöntemde de ekstreler içinde en yüksek indirgeme gücüne sahip olan ekstrenin etil asetatlı ekstre olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda kükürtlü bileşiklerin de aynı demir iyonlarında olduğu gibi Cu^{2+} iyonlarını daha düşük değerlerde indirgediği belirlenmiştir.

Bilinen en zararlı ve en reaktif serbest radikal olan ve biyolojik sistemlerde meydana gelen hidroksi radikali, canlı hücrelerdeki hemen hemen her moleküle etki ederek (Hochstein ve Atallah, 1988), DNA'da nükleotidlerin yapılarına katılır ve zincir kırılması sonucu mutajenez, karsinojeneze neden olur. Bundan başka proteinlere ve lipidlere de etki ederek oksidatif hasar meydana getirir (Shukla ve diğ., 2009). Hidroksi radikali en reaktif ROT olup, oldukça kısa yarı ömre sahiptir. (Sacan ve Yanardag, 2010). Bu radikaller biyomolekülleri, örneğin DNA moleküllerini de etkileyerek önemli hasar oluştururlar (Rollet-Labelle ve diğ., 1998). Çalışmamızda etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerde IC_{50} değerleri (7.82 ± 0.09 ve $8.93 \pm 0.33 \mu g/mL$) bulunmuştur. Sulu ekstrenin ise IC_{50} değeri $44.41 \pm 0.93 mg/mL$ olarak saptanmıştır. Çalışmamızda çiriş

bitkisinin hidroksi radikal giderme aktivitesinin, yabani çiriş bitkisi ile yapılan çalışmadan ($6.20 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$) daha düşük değerde olduğu bulunmuştur (Peksel ve diğ., 2012). Kükürtlü bileşiklerde ise en yüksek hidroksi radikal giderme aktivitesine ALA'nın sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 4.6). HCys, DAS ve ALA'nın hidroksi radikal giderme aktivitesi ekstrelerden daha yüksektir. Diğer kükürtlü bileşikler ise ekstrelerden daha düşük hidroksi radikal giderme aktivitesine sahiptir (Tablo 4.6).

ABTS radikal giderme aktivitesi de antioksidan aktivitenin belirlenmesinde en fazla kullanılan yöntemlerden biridir (Zhang ve diğ., 2009). Bu metod uzun ömürlü bir radikal katyonu olan ABTS kromoforunun oluşumu ve bunun antioksidan tarafından giderilmesine dayanır. Bu değer yüksek olması antioksidan aktivitenin yüksek olduğunu gösterir. Kompleks karışımlar ve saf bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin tayininde en yaygın kullanılan organik radikallerden biri ABTS radikal katyonudur. Bu radikal katyonu enzimatik, kimyasal veya elektrokimyasal olarak oluşturulabilir. Polifenollerin, ABTS radikalini giderme aktiviteleri bu polifenollerin antioksidan kapasitelerini belirlemede bir kriterdir (Osman ve diğ., 2006).

Çalışmamızda ekstreler içinde en yüksek ABTS radikal giderme aktivitesi etil alkollü ekstrede bulundu. Kükürtlü bileşiklerden DAS hariç diğerleri ekstrelerden daha yüksek bir ABTS radikal giderme aktivitesine sahiptir. Yapısında serbest -SH grubu olan bileşiklerin daha yüksek bir ABTS radikal yakalama gücüne sahip olduğu görülmektedir.

Biyolojik sistemlerde ve gıdalarda, serbest radikallerin neden olduğu zararlı etkileri gidermeleri bakımından antioksidanlar oldukça önemlidir. Serbest radikallerin fazla miktarda oluşumu LPO'yu hızlandırmakta ve gıdalarda kaliteyi azaltmaktadır (Min, 1998; Sacan ve Yanardag, 2010). DPPH radikali kararlı bir radikal olup, antioksidanların serbest radikal giderme aktivitelerinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Sánchez-Moreno, 2002; Ozsoy ve diğ., 2008).

DPPH molekülü, oda sıcaklığında kararlı olup, antioksidandan elektron veya hidrojen alarak, kararlı diyamanyetik molekül oluşturur. Antioksidanların DPPH ile reaksiyonunda, indirgenen DPPH molekülü sayısı, antioksidan moleküldeki hidroksil

grubu sayısına eşittir (Xu ve diğ., 2005). Çalışmamızda ekstreler içinde en yüksek DPPH radikal yakalama aktivitesini sulu ekstre göstermiştir (Tablo 4.8). Karaman ve diğ. (2011), çiriş bitkisi ile yaptıkları çalışmada etil alkol ekstresinin DPPH radikal yakalama aktivitesini IC_{50} ; 35.14 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulmuşlardır. Bir başka çalışmada, yabani çiriş bitkisinin DPPH radikal yakalama aktivitesinin 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda % 50 civarında olduğu bulunmuştur (Peksel ve diğ., 2012). Bizim değerlerimiz, bu değerlerden daha düşük değerdedir. Değerlerin farklı olması bitkinin yetiştiği toprak ve iklime göredir. Kükürtlü bileşikler ise ekstrelerden daha yüksek bir DPPH radikal yakalama aktivitesine sahiptir (Tablo 4.10). Bu da kükürtlü bileşiklerin yapısındaki serbest -SH grupları nedeni ile olabilir.

DMPD radikal giderme aktivitesi asidik pH ve uygun bir oksidan çözeltinin varlığında DMPD'nin mor renkli ve kararlı bir radikal olan DMPD katyon radikali oluşturması esasına dayanır. Oluşan mor renkli katyon radikali antioksidan bir molekül ile etkileştiğinde çözeltinin rengi açılır. Yöntem, düşük maliyetli olup, tekrarlanabilirliği yüksek olan bir yöntemdir (Fogliano ve diğ., 1999). Bu yöntem antioksidan kapasitenin bir ölçüsü olarak kabul edilir. Çalışmamızda etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin DMPD aktiviteleri sulu ekstreye göre daha yüksek bir değerdedir. (Tablo 4.13). Pazı bitkisinin sulu ekstrelerinin de DMPD radikal giderme aktivitesinin 10 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda % 34.05; 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda ise % 47.51 olduğu bulunmuştur (Sacan ve Yanardag, 2010). Peksel ve diğ. (2012) yabani çiriş bitkisinin DMPD radikal giderme aktivitelerini 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda % 20 civarında bulmuştur. Sulu çiriş bitkisinin % DMPD radikal yakalama aktivitesi yabani çiriş bitkisinden daha yüksek değerde bulunmuştur. Etil alkol ve etil asetat ekstrelerinin ise % DMPD radikal yakalama aktivitesi sulu ekstrelerden daha yüksek değerdedir. Çalışmamızda kükürtlü bileşiklerin ise, ekstrelerden çok daha yüksek DMPD radikal yakalama aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Bu da yine kükürtlü bileşiklerin yapısındaki SH grupları nedeniyledir.

Süperoksit anyon radikali, hücrelerin mikrozomal ve mitokondriyal elektron transfer sistemlerinde sürekli olarak üretilir. Süperoksit radikali, diğer daha reaktif ROT'ların öncülü olup, hücrenin diğer kısımlarına zarar vererek doku hasarına ve çeşitli hastalıklara neden olur. (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Süperoksit anyon radikalının

bu toksik etkileri, biyolojik sistemlerde SOD tarafından ortadan kaldırılır (Chung ve diğ., 2005; Onar-Celik ve diğ., 2012). Süperoksit anyon radikali diğer radikallerle karşılaştırıldığında süperoksit anyonu uzun ömürlüdür, hücre içinde uzun yol katedebilir ve bunun sonucunda zararlı etkisi görülür (Sun ve diğ., 2004). Çalışmamızda etil asetatlı ekstre en yüksek süperoksit radikal giderme aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda kükürtlü bileşiklerde ALA hariç diğerleri yüksek süperoksit yakalama aktivitesine sahiptirler (Tablo 4.15). Bu sonuçlara göre kükürtlü bileşiklerin endojen olanlarının *in vivo* olarak insan organizmasından süperoksit radikalleri yakalamada ve hücrede oluşan hasarları önlemede rolleri olduğunu göstermektedir.

FRAP deneyi, oldukça hassas, hızlı ve ucuz bir yöntem olduğu için antioksidan aktivite tayininde yaygın olarak kullanılır. Düşük pH değerinde (pH:3.6) ve antioksidan varlığında Fe^{3+} -TPTZ kompleksi, 593 nm dalga boyunda maksimum absorbans değerine sahip yoğun mavi renkli (Prusya mavisini) Fe^{2+} -TPTZ kompleksine indirgenir (Santas ve diğ., 2008). FRAP deneyi, bir örnekteki antioksidan aktivitenin doğrudan ölçülmesinde kullanılan tek yöntemdir. Antioksidan aktivite tayininde kullanılan diğer yöntemler, reaksiyon ortamında oluşturulan reaktif türlerin (serbest radikallerin) inhibisyonlarını dolaylı olarak ölçen metotlardır (Bernaert ve diğ., 2012). Çalışmamızda, çirişin tüm ekstrelerinin, standartların ve kükürtlü bileşiklerin konsantrasyonları ile FRAP değerlerinin orantılı olarak arttığı görüldü (Tablo 4.17-4.19). Bitki ekstrelerinin kükürtlü bileşiklere benzer bir aktivite gösterdiği saptanmıştır. Çalışmamızda L-sistein, N-asetil-L-sistein ve ditiyoeritritolün ise düşük konsantrasyonlarda ferri iyonlarını indirgediği görülmektedir (Tablo 4.18).

Metal kelatlama aktivitesinde kelatlayıcı olarak kullanılan ferrozin sadece serbest Fe^{2+} ile kompleks oluşturur. Oluşan kompleks sonucunda meydana gelen kırmızı rengin açılması, antioksidanın Fe^{2+} 'yi kelatlaması ile orantılıdır (Yamaguchi ve diğ., 2000). Çalışmamızda ekstreler içinde sulu ekstrenin en yüksek kelatlama aktivitesi gösterdiği bulundu. (Tablo 4.20). Kükürtlü bileşiklerden ise sisteaminin en yüksek kelatlama aktivitesine sahip olduğu saptandı (Tablo 4.21). Yabani çiriş ile yapılan antioksidan aktivite deneylerinde metal kelatlama aktivitesinin sulu ekstrede 1 μ g/mL konsantrasyonda % 62.83 olduğu, IC_{50} değerinin ise 2.97 mg/mL olduğu saptanmıştır

(Peksel ve diğ., 2012). Çalışmamızda ekstraler için elde ettiğimiz metal kelatlama aktiviteleri yabancı çiriş için bulunan değerlerden daha yüksek değerdedir.

Çiriş ülkemizde doğu bölgelerinde halk arasında şifalı ot olarak tanınır. Her hastalığa çare olduğunu inanılır. Çiriş otunun kadınlardaki beyaz akıntıyı azaltıcı, idrar söktürücü, süt arttırıcı olduğu, adet düzensizliklerine iyi geldiği, romatizmal hastalıklarda, saçkıran, egzama, sivilce, çıban gibi durumlarda tedavi edici etkilerinin olduğu belirtilmektedir. Çiriş otu sanayide ispirto imalatında, ayakkabı yapıştırıcısı (tutkal) olarak kullanılmaktadır. Hayvanlara süt arttırıcı olarak verilmektedir. Ayrıca çiriş otunun maya endüstrisinde, ciltçilikte, kumaşa sertlik ve parlaklık vermek amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Baytop, 1999; Güngör, 2002).

Çiriş otunun GSH, C vitamini, B₁, B₂, B₃, B₆ ve B₉ vitaminlerini içerdiği Karataş ve diğ., (2011) tarafından belirtilmiştir. Çiriş otunun antioksidan aktivite göstermesinin nedeni, yapısında GSH ve bu vitaminleri içermesi nedeniyledir.

Çalışmamızda gıda olarak Doğu Anadolu bölgesinde tüketilen çirişin antioksidan özelliği detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Çiriş kokulu ve soğanlı bir bitki olduğundan *Allium* türlerine benzemektedir. *Allium* türleri ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak, çiriş otu ile ilgili yapılan çalışma sayısı çok azdır.

Allium türlerinin sitotoksik, antioksidan ve α -glukozidaz aktiviteye (Kesavanarayanan ve diğ., 2012), radyoprotektif (Batcıoğlu ve diğ., 2012) etkiye sahip olduğu da saptanmıştır.

Çin'de bulunan *Allium* türlerinden soğan ve sarımsağın içerisinde uçucu kükürtlü bileşiklerin bulunduğu Yabuki ve diğ. (2010) tarafından belirtilmektedir. Kırmızı soğanın, yapısındaki kimyasal bileşikler, kükürtlü bileşikler ve kükürt içeren amino asitler ve sistein türevi bileşiklerin olduğu Dini ve diğ. (2008) tarafından rapor edilmiştir. Sarımsağın yapısındaki kükürtlü bileşiklerden olan diallil sülfid, diallil disülfid, N-asetil sistein ve S-etil sisteinin varlığı Yin ve diğ. (2002) tarafından

belirlenmiştir. Kusterer ve Keusgen (2010), *Allium tripedale* türlerinde sistein sülfoksit ve uçucu kükürt bileşiklerinin (methiin, allisin v.b) olduğunu tayin etmişlerdir.

Çiriş *Liliaceae* familyasındandır. Bu familyadan olan bitkilerle çok sayıda çalışma yapılmıştır. *Liliaceae* türlerinin yaprakları besin değeri açısından incelenmiş, yüksek bir protein değerine sahip olduğu Zengin ve diğ. (2012) tarafından bulunmuştur. *Liliaceae* türlerinin antimikrobiyal (Liang ve diğ., 2012), sitotoksik (Yokosuka ve diğ., 2012), diyabetik sıçanlarda hepatoprotektif etki gösterdiği (Javad ve diğ., 2012) çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir. *Liliaceae* familyasından izole edilen bazı bileşiklerin insan kanser hücrelerinin büyümelerini inhibe ettiği, yani antikanserojen özelliğe sahip olduğu Wang ve diğ., (2013) tarafından belirtilmektedir.

Çirişin diğer bir türü olan *Asphodelus* türlerinden izole edilen terpen sınıfı bileşiklerin lipooksijenaz enzimini inhibe ettiği (Safder ve diğ., 2009), oksidatif DNA hasarını önlediği (Kalim ve diğ., 2010) belirtilmektedir. Ancak çalışmamızın konusu olan çiriş (*Eremurus spectabilis* Bieb.) bitkisi ile yapılan çalışma konusu çok azdır.

Kükürtlü bileşiklerle yapılan çalışma sayısı literatürde fazla miktarda bulunmaktadır. Ancak, kükürtlü bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktiviteleri ile ilgili çalışmalara rastlanılmamaktadır.

Bir tripeptit olan GSH, DNA sentezinde ve hasarlı DNA parçalarının onarılmasında, amino asitlerin hücre içine taşınmasında, zehirli maddelerin inaktif hale dönüştürülmesinde ve serbest radikallerin hasarlarının önlenmesinde görev yapmaktadır (Esterbauer ve diğ., 1992; Chavan ve diğ., 2005). Hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, besinlerle alınan proteinlerin GSH dengesinin sağlanmasında son derece önemli olduğu gözlenilmiştir. Besinlere ek olarak alınan sistein ve NAC doku glutasyon sentezi için L-sistein öncülleri olduğu Wu ve diğ. (2004) tarafından bildirilmiştir. Çeşitli hastalıklarda doku ve kanda glutasyon miktarında azalma meydana geldiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Arda-Pirincci ve diğ., 2012; Turk ve diğ., 2012). Kokulu bir bitki olan çirişin yapısında bir tripeptit olan GSH miktarı Karataş ve diğ. (2011) tarafından belirlenmiştir. Çalışmamızda çiriş bitki ekstreleri ile birlikte glutasyonun da antioksidan aktivitesi tayin edilmiştir. Ancak, GSH'nin antioksidan aktivitesinin çiriş bitki ekstrelerinden daha yüksek değerde olduğu saptanmıştır.

Yapısında serbest –SH grubu bulunan bir kükürtlü amino asit de sisteindir. Hücre içerisine alınan sisteinin, oksidatif stres ve çeşitli toksik ajanlara karşı hücreleri koruduğu, GSH'nin sentez hızını belirlediği, hücre içi antioksidan olarak karsinojenlerin detoksifikasyonunda da görev aldığı, daha çok aktif sitotoksik T hücreleri ve T hücre klonlarının DNA sentezini stimüle ettiği, vücuttaki toksik maddeleri temizlediği, hücreleri radyasyonun zararlı etkilerinden koruduğu, beyin ve karaciğeri sigara ve alkolün zararlarından koruduğu. bronşit, amfizem ve tüberküloz tedavisinde faydalı olduğu ile ilgili çalışmalar literatürde bulunmaktadır (Arık, 2008). Çalışmamızda çiriş ekstreleri ile birlikte Cys'nin de *in vitro* antioksidan özelliği çeşitli yöntemlerle tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan Cys'nin de antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Reaktif oksijen metabolitlerine karşı korunmada serbest radikal reaksiyonlarını inhibe etmede antioksidanlar denilen bileşikler rol oynarlar. Bu antioksidanlar arasında yer alan N-asetil sistein (NAC), *in vivo* ve *in vitro* deneylerde antioksidan olarak geniş bir şekilde kullanılmıştır (Zhu ve diğ., 2012). Aynı zamanda glutatyon sentezinde görevli bir substrattır. Hücrelerde sülfhidril gruplarının bir kaynağı olan NAC, hidroksi radikali gibi ROT'ları etkisiz hale getirmekte, indirgeyici özelliğinden dolayı bazı proteinlerin aktivitelerini düzenleyerek hücrelerin yaşam süreleri uzatabilmekte ve apoptozu önleyebilmektedir. NAC'nin kullanıldığı çeşitli hastalıklar arasında kanser, kardiyovasküler hastalıklar, metal toksisitesi ve karaciğerin parasetamol toksisitesi sayılabilir (Zafarullah ve diğ., 2003; Tehrani ve diğ., 2012). Bunlardan başka, NAC endotelial fonksiyon bozukluğunu azaltmakta, enflamasyon, invazyon, kartilaj erozyonu, asetaminofen detoksifikasyonu ve transplantasyon ihtiyacının geciktirilmesini sağlamaktadır (Foresti ve diğ., 1999). Literatürde NAC'nin Cd toksisitesi (Shaikh ve diğ., 1999) ve kokain ile gelişen karaciğer hasarını önlediği (Zaragoza ve diğ., 2001), insanlarda alüminyum fosfit ile oluşturulan oksidatif stresi önlediği (Tehrani ve diğ., 2012), diyabetik sıçanlarda oksidatif stresi indirgediği (Odetti ve diğ., 2003) bildirilmiştir. NAC akciğer hastalıklarında mukolitik ajan olarak kullanılmaktadır (Zhu ve diğ., 2012). Ayrıca, çeşitli çalışmalarda akciğer fibrizosisi oluşturulan sıçanlarda NAC'nin azalan GSH düzeyini yükselttiği öne sürülmektedir (Meyer ve diğ., 1994; Behr ve diğ., 1997). Gadolinium ile oluşturulan nefrotoksisiteli

sıçanlarda NAC'nin böbrek hasarını önlediği Pereira ve diğ. (2012) tarafından bildirilmiştir. Çeşitli dokularda oluşturulan iskemi-reperfüzyon deneylerinde NAC'nin koruyucu özelliği olduğu belirtilmektedir (Takthfooladi ve diğ., 2012; Turkmen ve diğ., 2012). Gümüş nanopartiküller antimikrobiyal özelliğe olup, tıbbi amaçlı olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ancak bu partiküller kullanıldığında organizmada bazı toksik durumlar oluşabilmektedir. Bu toksik özellikleri koruyucu olarak NAC'nin kullanıldığı Ávalos ve diğ. (2013) tarafından belirtilmektedir. NAC metabolik aktivitesinden –SH grubu sorumlu iken, asetillenmiş amino grubu molekülü oksidasyona karşı daha dayanıklı hale getirmektedir. (Öcal, 2007). Çalışmamızda NAC ile sistein karşılaştırıldığında NAC'nin antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu da molekülün asetillenmesi ile antioksidan aktivitesinin arttığını bize göstermektedir.

Homosistein nonproteinojen ve endojen bir amino asittir. Metiyonin metabolizmasında oluşur ve sülfür içeren bir amino asittir. Plazma homosistein düzeyi metabolizmadaki genetik bozukluklar, kronik hastalıklar, vitamin ve beslenme eksiklikleri, yaş, cinsiyet ve bazı ilaçlardan etkilenmektedir (Dikmen, 2004). Plazma homosistein düzeyinin artması demans bozukluğu ve Alzheimer hastalığı (Garcia ve Zanibbi, 2004; Humpel, 2011), kardiyovasküler hastalıklar (Zhang ve diğ., 2012; Meng ve diğ., 2013) için risk faktörüdür. Çalışmamızda yapısında –SH grubu bulunması nedeni ile homosistein de antioksidan aktivitesi tayin edilmiştir ve homosistein yüksek bir antioksidan aktivite göstermiştir.

Yapısında –SH grubu bulunan diğer bir bileşik 1,4-ditiyoeritritoldür (DTE). Kuvvetli bir indirgeyici ajandır. *In vitro* koşullarda insan cinsiyet hormonu biyosentezindeki anahtar enzimlerin inhibitörü olarak kullanılan trifeniltin isimli maddenin etkilerine karşı, DTE'nin koruyucu özellikte olduğunu bildirilmiştir. (Lo ve diğ., 2003). DTE, antioksidan özellik gösterdiğinden, kriyobiyoloji alanında insanlar da dahil olmak üzere sığır, koç v.b memeli spermlerinin dondurulduktan sonra yeniden kullanılması esnasında sperm hareketliliği ve bu hücrelerin antioksidan enzimleri üzerine koruyucu etki göstereceği bildirilmiştir (Barmatz ve diğ., 1994; Başpınar ve diğ., 2011). Çalışmamızda DTE'nin de diğer kükürtlü bileşikler gibi yüksek bir antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Biyojen aminler amino asidlerin dekarboksilasyonu ile oluşan maddelerdir. Biyojen aminler insan, hayvan, bitki ve mikroorganizmalar tarafından sentez edilmektedir (Vatansever, 2004). Bu nedenle vücuda bitki ve hayvansal besin yardımı ile alınırlar. Biyojen aminler vücutta hormon, vitamin ve koenzim A'nın yapısına girerler, hücrelerin çoğalması, farklılaşması, üremesi ve metabolizması için gereklidirler (Wang ve diğ., 2010). Yüksek dozda insan organizmasına alındıklarında biyojen aminler toksik etki yaparlar (Vatansever, 2004).

Sisteamin de bir biyojen amindir. Sisteaminin enerji metabolizmasına katıldığı Miller ve Schlesinger tarafından bildirilmiştir (Miller ve Schlesinger, 1993). Sisteaminin antiantibakteriyel aktivite gösterdiği Doğan ve diğerleri tarafından bulunmuştur (Dogan ve diğ., 2012). Parasetamol zehirlenmesinde koruyucu rolü olduğu (Strubelt ve diğ., 1974), somatostatin sentezini azalttığından büyümeyi teşvik ettiği ileri sürülmektedir (Wenner ve Murphy, 1997; Basouw ve Levtchenko, 2011; Wilmer ve diğ., 2011). Literatürde sisteaminin, Huntington ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkları önlediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Dedeoğlu ve diğ., 2002; Tremblay ve diğ., 2006; Gibrat ve diğ., 2010; Sun ve diğ., 2010; Gibrat ve Cicchetti, 2011). Sisteaminin, selenit ile oluşturulan kataraktı önlediği de Lee ve diğerleri tarafından bildirilmektedir (Lee ve diğ., 2012b). Çalışmamızda *in vitro* olarak yapılan antioksidan deneylerinde biyojen amin olan sisteaminin de iyi bir antioksidan aktivite göstermesi yapısındaki -SH grubundan ileri gelebilir. Bu maddenin antioksidan özelliği olması nedeni ile nörodejeneratif hastalıklar dışında diğer çeşitli hastalıklarda da kullanılabileceğini göstermektedir.

U vitamini *Brassicaceae* familyasına ait bitkilerde fazla miktarda bulunmaktadır (Sokmen ve diğ., 2012). U vitamini, (S-metil metiyonin sülfonyum klorür) ismini Latince'de ülser anlamına gelen *ulcus* kelimesinden alır. Antiülser özelliği sebebiyle yaygın bir biçimde ülser önleyici olarak birçok peptik ülser tedavisi çalışmalarında kullanılmıştır. U vitamininin antiülser özelliğinin yanı sıra antiinflamatuvar, antidepresan, hücre koruyucu, yara iyileştirici, sitoprotektif etki ve lipit düşürücü özellikleri de mevcuttur (Urazaeva, 1976; Salim, 1992; Kim ve diğ., 2010; Lee ve diğ., 2012a). Valproik asit ile toksisite oluşturulan sıçanlarda U vitamininin karaciğer

hasarını önlediği Sokmen ve diğ. (2012) tarafından bulunmuştur. Çalışmamızda yapısında kükürt bulunması nedeni ile U vitamininin de antioksidan aktivitesi tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre de U vitamininin diğer kükürtlü bileşiklerden daha düşük bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

α -Lipoik asit (ALA) gıdalarda bulunan nötral bir bileşiktir. Piruvat dehidrojenaz ve α -ketoglutarat dehidrojenaz enzimlerinin kofaktörüdür (Ghibu ve diğ., 2009a). ALA kuvvetli bir antioksidan bileşik olup, kardiyovasküler hastalıkları önlediği belirtilmektedir (Ghibu ve diğ., 2009b). ALA'nın doymamış yağ asitleri tarafından oluşturulan karaciğer hasarını önlediği Kaya-Dağistanlı ve diğ. (2013) tarafından belirtilmektedir. Ozbal ve diğ. (2012) testis dokusundaki iskemi-reperfüzyona karşı ALA'nın koruyucu olduğunu öne sürmüşlerdir. Çeşitli çalışmalarda farklı dokularda ALA'nın iskemi-reperfüzyon hasarını önlediği belirtilmektedir (Dulundu ve diğ., 2007; Guven ve diğ., 2008; Connel ve diğ., 2011). Çalışmamızda gıdalarda bulunan nötral bir bileşik olan ALA'nın *in vitro* antioksidan aktivitesi incelenmiştir. ALA'nın diğer kükürtlü bileşiklere göre daha düşük bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Diyet çeşitli insan hastalıklarının önlenmesi için önemlidir. Epidemiyolojik çalışmalar meyve, sebze ve baharatların çeşitli hastalıkların önlenmesi için önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Diyetle bulunan çeşitli bileşikler olan flavonoidlerin, fenolik bileşiklerin, vitaminlerin, amino asitlerin, kükürtlü bileşiklerin alınması hastalıkların önlenmesi için gereklidir (Vazquez-Prieto ve Miatello, 2010). İnsanlar kükürt ve kükürtlü bileşik ihtiyaçlarını sarımsak, soğan (kuru soğan, yeşil soğan, Frenk soğanı), pırasa ve turpgiller gibi bitkilerden ve süt, yumurta, peynir gibi hayvansal gıdalardan karşılarlar (Ip ve Ganther, 1992; Fleishauer ve Arab, 2001; Atmaca, 2003). Kükürtlü bileşiklerden olan ve sarımsakta bulunan allil sülfidin ve diallil sülfidin CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarını önlediği Hosono-Fukao ve diğ. (2004, 2009) tarafından ileri sürülmüştür. Kükürtlü bileşikler sarımsak yağında bulunmaktadırlar ve bu bileşikler detoksifikasyon sistemi için gerekli olan maddelerdir (Melino ve diğ., 2011). Ayrıca N-nitrosodietilamin ile oluşturulan karaciğer tümörünü diallil sülfidin önlediği İbrahim ve Nassar (2008) tarafından ortaya atılmıştır. Kükürt içeren bileşiklerin DNA hasarını önlediği (Battin ve Brumaghim, 2008) ve kardiyovasküler hastalıklar için koruyucu bileşen oldukları ortaya

atılmıştır (Vazquez-Prieto ve Miatello, 2010). Kan sulandırıcı, immün sistemi güçlendirici, antidiyabetik, viral, fungal, paraziter fonksiyonlara karşı etkileri bulunmaktadır. Sarımsak antioksidan olarak da etki yapar. Antioksidan özelliği olan tiyol bileşikleri sarımsakta bol miktarda bulunmaktadır (Ayvaz ve Alpsoy, 2007). Kükürtlü organik bileşikler antiinflamatuvar, kan basıncını düşürücü, lipit ve kolesterol seviyelerini düşürücü, tromboz oluşumunu önleyici ve antibiyotik etki gösterirler (Rose ve diğ., 2005). Uçucu organik kükürtlü bileşiklerin kokusu ve tadı ile ilişkilidir (Corzo-Martínez ve diğ., 2007).

Sarımsağın içindeki kükürtlü bileşiklerin renal, hepatik, kardiyovasküler, serebral, pulmoner ve iskemi-reperfüzyon hasarlarını önleyebildiği Sener ve diğ. (2007) tarafından ileri sürülmüştür. Sarımsakta bulunan S-allil sistein bileşiğinin oksidatif hasarı önlediği (Pérez-Severiano ve diğ., 2004), tansiyon düşürücü ve kalbi koruyucu etkisi olduğu (Asdaq ve Inamdar, 2010), diyabetik sıçanlarda demir metabolizması üzerine etki ettiği (Saravanan ve diğ., 2012) açıklanmıştır. Sarımsağın yapısında bulunan kükürtlü bileşiklerden olan S-allil sistein'in Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkları önleyebildiği Rojas ve diğ. (2011) tarafından ileri sürülmektedir. Yine sarımsağın kanseri önlediği (Shukla ve Kalra, 2007) ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu Hadji ve diğ. (2007) tarafından bulunmuştur.

Sadece sarımsak değil, diğer kükürt içeren gıdaların da çeşitli hastalıkların korunmasında etkili olduğu literatürde belirtilmektedir. Roka da yapısında kükürtlü bileşik içeren sebzelerden biridir. Rokanın antioksidan özellik gösterdiği Sacan ve diğ. (2008) tarafından saptanmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda rokanın dermatolojik bir hastalık olan sedef hastalığını inhibe ettiği (Yehuda ve diğ., 2012), çeşitli biyolojik aktiviteye sahip olduğu (Villatoro-Pulido ve diğ., 2012), antikolinesteraz aktiviteye sahip olduğu (Boga ve diğ., 2011), CCl₄ ile oluşturulan karaciğer toksisitesini önlediği (Alqasoumi, 2010), Hg ile oluşturulan renal toksisiteyi de (Sarwar-Alam ve diğ., 2007) önlediği belirtilmiştir.

Soğan da antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteye sahip kükürt içeren gıda maddelerinden biridir (Takashi ve Shibamoto, 2008). Çalışmamızda kullandığımız çiriş bitkisinin de yapısında kükürtlü bileşikler bulunması nedeni ile birçok biyolojik

aktivitesi olduğu açıktır. Ancak bu konu ile ilgili çalışmalar literatürde bulunmamaktadır.

Günümüzde gıda sanayiinde kullanılan, ancak son yıllarda toksik etkisi olduğu belirtilen sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanlarla ilgili çalışmalar hızla devam etmektedir. Yapılan bu çalışmalarda bitki ekstraları ve çeşitli kimyasalların antioksidan aktiviteleri belirlenmektedir. Antioksidan aktiviteye sahip bitki ekstralarının gıda sanayiinde antioksidan etkilerinin incelenmesi ile bu çalışmaların endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılığının sağlanması düşünülmektedir.

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir bileşiğin antioksidan aktivitesini tayin etmek için standart bir metod yoktur. Bu yüzden antioksidan aktivite tayini birçok metod kullanılarak yapılır. Tez kapsamında çeşitli metodlarla bitki ekstralarının ve kükürtlü bileşiklerin antioksidan aktiviteleri tayin edilmiştir. Literatür araştırması sonucu, çiriş ve kükürtlü bileşiklerin antioksidan aktivitesi ile çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle elde edilen veriler bu alana daha fazla veri ile katkı sağlayacaktır.

Çiriş (*Eremurus spectabilis* Bieb.) ve bazı kükürtlü bileşikler ile yapılan antioksidan aktivite deneyleri sonuçlarına göre;

- Çirişin antioksidan aktivitesi en yüksek değerde etil asetatlı ekstrede bulunmuştur.
- Kükürtlü bileşiklerin yüksek oranda antioksidan aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır.
- Soğanlı bir bitki olan çirişin de yapısında kükürtlü bileşikler bulunmaktadır.
- Çirişin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmasının nedeni, yapısında kükürtlü, fenolik ve flavonoid bileşikler içermesi nedeni ile olabilir.
- Çirişin halk arasında gıda maddesi ve alternatif tedavide kullanılması, çirişin antioksidan aktiviteye sahip olması nedeni ile olabilir.

KAYNAKLAR

AKKUŞ, İ., 1995, *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya.

ALQASOUMI, S., 2010, Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: Protective effect of 'Rocket' *Eruca sativa* L. in rats, *The American Journal of Chinese Medicine*, 37, 75-88.

ALTUNDAG, E., OZTURK, M., 2011, Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey, *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777.

APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., KARADEMİR, S. E., 2004, Novel antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.

APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., KARADEMİR, S. E., ERÇAG, E., 2006, The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 292-304.

APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., BEKTAŞOĞLU, B., ÇELİK, S. E., 2009, A new method for determination of antioxidant capacity of foods: CUPRAC method, *Flora Final Meeting*, Istanbul Technical University, Maçka, Istanbul, 25-26 Mayıs.

ARDA-PIRINCCI, P., OZTAY, F., BAYRAK, B. B., YANARDAG, R., BOLKENT, S., 2012, Teduglutide, a glucagon-like peptide 2 analogue: A novel protective agent with anti-apoptotic and anti-oxidant properties in mice with lung injury, *Peptides*, 38, 238-247.

ARIK, M., 2008, *Eritrositlerde L-sistein ne N-asetil-L-sistein transportunun karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

ARNAO, M. B., CANO, A., ACOSTA, M., 2001, The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, *Food Chemistry*, 73, 239-244.

- ASDAQ, S. M., INAMDAR, M. N., 2010, Potential of garlic and its active constituent, S-allyl cysteine, as antihypertensive and cardioprotective in the presence of captopril, *Phytomedicine*, 17, 1016-1026.
- ASSINI, J. M., MULVIHILL, E. E., HUFF, M. W., 2012, Citrus flavonoids and lipid metabolism, *Current Opinion and Lipidology*, 24, 34-40.
- ATMACA, G., 2004, Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids, *Yonsei Medical Journal*, 45, 776-788.
- ATMACA, G., 2003, Sarmısağın ve tiol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 20, 54-60.
- ÁVALOS, A., HAZA, A. I., MATEO, D., MORALES, P., 2013, *In vitro* evaluation of silver nanoparticles on human tumoral and normal cells, *Toxicology Mechanisms and Methods*, doi: 10.3109/15376516.2012.762081.
- AYDIN, S. S., ÜSTÜN, F., 2007, Tanenler 1: Kimyasal yapıları, farmakolojik etkileri, analiz yöntemleri, *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 33, 21-31.
- AYVAZ, E., ALPSOY, H. C., 2007, Sarımsak (*Allium sativum*) ve geleneksel tedavide kullanımı, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31, 145-149.
- BAKER, D. H., CZARNECKI-MAULDEN, G. L., 1987, Pharmacological role of cysteine in ameliorating or exacerbating mineral toxicities, *The Journal of Nutrition*, 117, 1003-1010.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S., 2006, Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- BARMATZ, M. J., KARABINUS, D. S., DALKIN, M. L., 1994, Dithiothreitol effects on human sperm quality, *Journal of Urology*, 152, 2287-2290.
- BASLI, A., SOULET, S., CHAHER, N., MÉRILLON, J. M., CHIBANE, M., MONTI, J. P., RICHARD, T., 2012, Wine polyphenols: potential agents in neuroprotection, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi: 10.1155/2012/805762.
- BASOUW, M., LEVTCHENKO, E., 2011, Pharmacokinetics of cysteamine in cystinosis patient with hemodialysis, *Pediatric Nephrology*, 26, 639-640.
- BAŞPINAR, N., ÇOYAN, K., BUCAK, M. N., TUNCER, P. B., 2011, Effects of dithioerythritol on ram semen after the freeze-thawing process, *Cryobiology*, 63, 152-156.
- BATCIOGLU, K., YILMAZ, Z., SATILMIS, B., UYUMLU A. B., ERKAL, H. S., YUCEL, N., GUNAL, S., SERIN, M., DEMIRTAS, H., 2012, Investigation of in vivo

radioprotective and in vitro antioxidant and antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*), *European Review of Medical and Pharmacological Science*, 16, 47-57.

BATTIN, E. E., BRUMAGHIM, J. L., 2008, Metal specificity in DNA damage prevention by sulfur antioxidants, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102, 2036-2042.

BATTIN, E. E., BRUMAGHIM, J. L., 2009, Antioxidant activity of sulfur and selenium: A review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidases, and metal-binding antioxidant mechanisms, *Cell Biochemistry and Biophysics*, 55, 1-23.

BAYTOP, T., 1984, *Türkiye'de bitkiler ile tedavi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3255, Eczacılık Fakültesi No:40.

BAYTOP, T., 1999, *Türkiye'de bitkilerle tedavi*, Nobel Tıp Kitapevleri Yayını, 2. Baskı, İstanbul, 9754200211.

BECKER, E. M., NISSEN, L. S., SKIBSTED, L. H., 2004, Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects, *European Food Research and Technology*, 219, 561-571.

BEECHER, G. R., 2004, Proanthocyanidins: Biological activities associated with human health, *Pharmaceutical Biology*, 42, 2-20.

BEEH, K. M., BEIER, J., HAAS, I. C., KORNMAN, O., MICKE, P., BUHL, P., 2002, Glutathione deficiency of the lower respiratory tract in patients with idiopathic pulmonary fibrosis, *European Respiratory Journal*, 19, 1119-1123.

BEHR, J. K. M., DEGENKOLB, B., KROMBACH, F., VOGELMEIER, C., 1997, Antioxidative and clinical effects of high-dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis. Adjunctive therapy to maintenance immunosuppression, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165, 1897-1901.

BENOV, L., 2001, How superoxide radical damages the cell?, *Protoplasma*, 217, 33-36.

BENZIE, I. F. F., STRAIN, J. J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

BENZIE, I. F. F., 2000, Evaluation of antioxidant defense mechanisms, *European Journal of Nutrition*, 39, 53-61.

BERNAERT, N., DE PEAPE, D., BOUTEN, BOUTEN, C., DE CLERCQ, H., STEWART, D., BOCKSTAELE, E. V., DE LOOSE, M., DROOGENBROECK, B. V., 2012, Antioxidant capacity, total phenolic and ascorbate content as a function of the genetic diversity of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*), *Food Chemistry*, 134, 669-677.

BIRNBOIM, H. C., KANABUS-KAMINSKA, M., 1985, The production of DNA strand breaks in human leukocytes by superoxide anion may involve a metabolic process, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82, 6820-6824.

BOGA, M., HACIBEKIROGLU, I., KOLAK, U., 2011, Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven edible plants, *Pharmaceutical Biology*, 49, 290-295.

BOLKENT, S., YANARDAG, R., TABAKOGLU-OGUZ, A., OZSOY-SACAN, O., 2000, Effects of chard (*Beta vulgaris* L. var cicla) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats: A morphological and biochemical study, *Journal Ethnopharmacology*, 73, 251- 259.

BOLKENT, S., YANARDAG, R., KARABULUT-BULAN, O., 2001, The effects of *Melissa officinalis* on liver of hyperlipidaemic rats: A morphological and biochemical study, *Proceedings 10th Scientific Conference Electron Microscopy Society of Malaysia*, 8-10th November, Kuala Lumpur.

BOOYSE, F. M., PAN, W., GRENETT, H. E., PARKS, D. A., DARLEY-USMAR, V. M., BRADLEY, K. M., TABENGWA, E. M., 2007, Mechanism by which alcohol and wine polyphenols affect coronary heart disease risk, *Annals of Epidemiology*, 17, S24-S31.

BOUAZIZ, M., FEKI, I., AYADI, M., JEMAI, H., SAYADI, S., 2010, Stability of refined olive oil and olive-pomace oil added by phenolic compounds from olive leaves, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 894-905.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 28, 25-30.

BRANNAN, R. G., 2011, Effect of N-acetyl-cysteine on liposomal and muscle model oxidation induced by reactive oxygen, nitrogen, and sulfur, *Meat Science*, 88, 733-739.

BROSNAN, J. T., BROSNAN, M. E., 2006, The sulfur-containing amino acids: an overview, *The Journal of Nutrition*, 136, 1636-1640.

CADENAS, E., PACKER, L., 2002, *Handbook of Antioxidants*, Revised and Expanded, 2nd Ed., Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.

CAKILCIOGLU, U., KHATUN, S., TURKOGLU, I., HAYTA, S., 2011, Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazığ-Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 469-486.

CAROCHO, M., FERREIRA, I. C. F. R., 2013, A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

- CASELLA, S., LEONARDI, M., MELAI, B., FRATINI, F., PISTELLI, L., 2012, The role of diallyl sulfides and dipropyl sulfides in the *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of garlic, *Allium sativum* L., and leek, *Allium porrum* L., *Phytotherapy Research*, doi:10.1002/ptr.4725.
- CHAVAN, S., SAVA, L., SAXENA, V., PILLAI, S., SONTAKKE, A., INGOLE, D., 2005, Reduced glutathione: Importance of specimen collection, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 20, 150-152.
- CHEN, C. H., PEARSON, A. M., GRAY, J. I., 1992, Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds, *Food Chemistry*, 43, 177-183.
- CHEN, C. W., HO, C. T., 1995, Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black tea, *Journal of Food Lipids*, 2, 35-46.
- CHUNG, Y. C., CHEN, S. J., HSU, C. K., CHANG, C. T., CHOU, S. T., 2005, Studies on the antioxidative activity of *Graptopetalum paraguayense* E. Walter, *Food Chemistry*, 91, 419-424.
- CLELAND, W. W., 1964, Dithiothreitol, a new protective reagent for SH groups, *Biochemistry*, 3, 480-482.
- CONNEL, B. J., SALEH, M., KHAN, B. V., SALEH, T. M., 2011, Lipoic acid protects against reperfusion injury in the early stages of cerebral ischemia, *Brain Research*, 1375, 128-136.
- COOK, N. C., SAMMAN, S., 1996, Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.
- CORZO-MARTÍNEZ, M., CORZO, N., VILLAMIEL, M., 2007, Biological properties of onions and garlic, *Trends in Food Science and Technology*, 18, 609-625.
- ÇOLAK, Ö., SORAN, H., 1983, Çirişotu (*Asphodelus* sp.) ve sığır gübresinin biyogaz verimi yönünden karşılaştırılması, *Doğa Bilim Dergisi*, seri A, 7, 469.
- DEAN, O., GIORLANDO, F., BERK, M., 2011, N-acetylcysteine in psychiatry: current therapeutic evidence and potential mechanisms of action, *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 36, 78-86.
- DECKER, E. A., WELCH, B., 1990, Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 674-677.
- DEDEOĞLU, A., KUBILUS, J. K., JEITNER, T. M., MATSON, S. A., BOGDANOV, M., KOWALL, N. W., MATSON, W. R., COOPER, A. J., RATAN, R. R., BEAL, M. F., HERSCH, S. M., FERRANTE, R. J., 2002, Therapeutic effects of cystamine in a murine model of Huntington's disease, *The Journal of Neuroscience*, 22, 8942-8950.

de MELLO, F. A. C., MENEGHINI, R., 1985, Protection of mammalian cells by o-phenanthroline from lethal and DNA-damaging effects produced by active oxygen species, *Biochimica et Biophysica Acta*, 847, 82-89.

DHAR, S. K., St. CLAIR, D. K., 2012, Manganese superoxide dismutase regulation and cancer, *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 2209-2222.

DIKMEN, M., 2004, Homocysteine metabolism and association with diseases: A review, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 24, 645-652.

DINI, I., TENORE, G. C., DINI, A., 2008, Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium caepa* L. var. *tropeana* (red onion) seeds, *Food Chemistry*, 107, 613-621.

DIPLOCK, A. T., 1997, Will the good fairies please prove us that vitamin E lessens human degenerative disease?, *Free Radical Research*, 27, 511-532.

DOGAN, Y., BASLAR, S., AY, G., MERT, H. H., 2004, The use of wild edible plants in western and central Anatolia (Turkey), *Economic Botany*, 58, 684-690.

DOGAN, A., OTLU, S., BUYUK, F., AKSU, P., TAZEGUL, E., ERDAG, D., 2012, Sisteamin, putresin ve sisteamin-putresin kombinasyonunun bazı bakteriler üzerine etkileri, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18, 1015-1019.

DORMAN, H. D., PELTOKETO, A., HILTUNEN, R., TIKKANEN, M. J., 2003, Characterization of the antioxidant properties of de-odorised aqueous extracts from selected *Lamaiceae* herbs, *Food Chemistry*, 83, 255-262.

DU, J., CULLEN, J. J., BUETTNER, G. R., 2012, Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of the cancer, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1826, 443-457.

DUARTE, T. L., LUNEC, J., 2005, Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C, *Free Radical Research*, 39, 671-686.

DULUNDU, E., OZEL, Y., TOPALOGLU, U., SEHIRLIOGLU, O., ERCAN, F., GEDIK, N., SENNER, G., 2007, Alpha-lipoic acid protects against hepatic ischemia-reperfusion injury in rats, *Pharmacology*, 79, 163-170.

DUTTA, D., CHAUDHURI, U. R., CHAKRABORTY, R., 2005, Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids, *African Journal of Biotechnology*, 4, 1510-1520.

DULGER, H., DURMUS, A., SEZGI, C., UZUN, K., OZBAY, B., 2002, KOAH akut atak tedavisinde antioksidan olarak N-asetilsistein'in etkinliği, *Van Tıp Dergisi*, 9, 91-94.

DZIRI, S., HASSEN, I., FATNASSI, S., MRABET, Y., CASABIANCA, H., HANCHI, B., HOSNI, K., 2012, Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of

rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*), *Journal of Functional Foods*, 4, 423-432.

EFSA, 2004, Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to tertiary-butylhydroquinone (TBHQ), *European Food Safety Authority Journal*, 84, 1-50.

EFSA, 2011, Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific Opinion on the re-evaluation of butylated hydroxyanisole – BHA (E 320) as a food additive, *European Food Safety Authority Journal*, 9, 2392. doi: 10.2903/j.efsa.2011.2392.

EFSA, 2012, Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the re-evaluation of butylated hydroxytoluene – BHT (E 321) as a food additive, *European Food Safety Authority Journal*, 10, 2588. doi: 10.2903/j.efsa.2012.2588.

EL-QUDAH, J. M., 2009, Identification and quantification of major carotenoids in some vegetables, *American Journal of Applied Sciences*, 6, 492-497.

ESTERBAUER, H., GEBICKI, J., PUHL, H., JURGENS, G., 1992, The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Radical Biology and Medicine*, 13, 341-390.

FERRERI, C., KRATZSCH, S., LANDI, L., BREDE, O., 2005, Thiyl radicals in biosystems: effects on lipid structures and metabolisms, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 834-847.

FLEISCHAUER, A. T., ARAB, L., 2001, Garlic and cancer: A critical review of the epidemiologic literature, *Journal of Nutrition*, 131, 1032S–1040S.

FOGLIANO, V., VERDE, V., RANDAZZO, G., RITIENI, A., 1999, Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1035-1040.

FORESTI, R., SARATHCHANDRA, P., CLARK, J. E., GREEN, C. J., MOTTERLINI, R., 1999, Peroxynitrite induced haem oxygenase-1 in vascular endothelial cells: a link to apoptosis, *Biochemical Journal*, 339, 729-736.

FRIDOVICH, I., 1983, Superoxide radical: An endogenous toxicant, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 23, 239–257.

FRIEDLI, G. L., 2011, *Flavonoids* [online], <http://www.friedli.com/herbs/phytochem/flavonoids.html> [Ziyaret Tarihi: 18 Kasım 2012].

GARCIA, A., ZANIBBI, K., 2004, Homocysteine and cognitive function in elderly people, *Canadian Medical Association Journal*, 171, 897-904.

GAZIANO, M. J., HENNEKENS, C. H., 1993, The role of beta carotene in the prevention of cardiovascular disease. *Annals of New York Academy of Science*, 691,148-155.

GHIBU, S., LAUZER, B., DELEMASURE, S., AMOUREUX, S., SICARD, P., VERGELY, C., MURESAN, A., MOGOSAN, C., ROCHETTE, L., 2009a, Antioxidant properties of alpha-lipoic acid: effects on red blood membrane permeability and adaptation of isolated rat heart to reversible ischemia, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 320, 141-148.

GHIBU, S., RICHARD, C., VERGELY, C., ZELLER, M., COTTIN, Y., ROCHETTE, L., 2009b, Antioxidant properties of an endogenous thiol: Alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 54, 391-398.

GIBRAT, C., BOUSQUET, M., SAINT-PIERRE, M., LÉVESQUE, D., CALON, F., ROUILLARD, C., CICCETTI, F., 2010, Cystamine prevents MPTP-induced toxicity in young adult mice via the up-regulation of the brain-derived neurotrophic factor, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34, 193-203.

GIBRAT, C., CICCETTI, F., 2011, Potential of cystamine and cysteamine in the treatment of neurodegenerative diseases, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35, 380-389.

GORDON, M. H., 1996, Dietary antioxidants in disease prevention, *Natural Product Research*, 13, 265-273.

GRUHLKE, M. C. H., SLUSARENKO, A. J., 2012, The biology of reactive sulfur species (RSS), *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 98-107.

GURBUZ, I., USTUN, O., YESILADA, E., SEZİK, E., AKYUREK, N., 2002, In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions, *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 241-244.

GUTTERIDGE, J. M. C., 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinical Chemistry*, 41, 1819-1858.

GUVEN, A., TUNC, T., TOPAL, T., KUL, M., KORKMAZ, A., GUNDOGDU, G., ONGURU, A., OZTURK, H., 2008, Alpha-lipoic acid and ebselen prevent ischemia/reperfusion injury in the rat intestine, *Surgery Today*, 38, 1029-1035.

GÜLÇİN, İ., 2006, Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid), *Toxicology*, 217, 213-220.

GÜLÇİN, İ., 2012, Antioxidant activity of food constituents: an overview, *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.

GÜNGÖR, F., 2002, *Yabani olarak yetişen çiriş (Eremurus spectabilis (Bieb.) Fedtsch.), çarşır (Prangos ferulacea indl.) ve sarı çarşır (Hippomarathrum microcarpum*

Bieb.) bitkilerinin morfolojik ve biyolojik özellikleri ile kültüre alınabilme imkanları üzerine araştırmalar, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

GÜRDÖL, F., ADEMOĞLU, E., 2006, *Biyokimya*, Birinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 975-420-462-4.

HABAUZIT, V., MORAND, C., 2012, Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians, *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 3, 87-106.

HADJI, I., MARZOUKI, M. N., FERRARO, D., FASANO, E., MAJDOUB, H., PANI, G., LIMAM, F., 2007, Purification and characterization of a Cu,Zn-SOD from garlic (*Allium sativum* L.). Antioxidant effect on tumoral cell lines, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 143, 129-141.

HALLIWELL, B., GROOTVELD, M., 1987, The measurement of free radical reactions in humans, some thoughts for future experimentation, *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 213, 9-14.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C., 1990, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C., 1995, The definition and measurement of antioxidants in biological systems, *Free Radical Biology and Medicine*, 18, 125-126.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C., 1999, *Free radicals in biology and medicine*, Oxford, Oxford University Press.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C., 2001, *Free radicals in biology and medicine*, 3rd ed., Oxford Science Publications, Oxford, 978-0198500452.

HALLIWELL, B., 2006, Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *Plant Physiology*, 141, 312-322.

HALLIWELL, B., 2007, Biochemistry of oxidative stress, *Biochemical Society Transactions*, 35, 1147-1150.

HALVORSEN, B. L., HOLTE, K., MYHRSTAD, M. C. W., BARIKMO, I., HYATTUM, E., REMBERG, S. F., WOLD, A. B., HAFFNER, K., BAUGERØD, H., ANDERSEN, L. F., MOSKAUG, Ø., JACOBS, D. R., BLOMHOFF, R., 2002, A systematic screening of total antioxidants in dietary plants, *Journal of Nutrition*, 132, 461-471.

HARBORNE, J. B., 1986, In: CODY, V., MIDDLETON, E., HARBORNE, J. B., ALAN, R.,(eds) *Plant flavonoids in biology and medicine*, Liss, New York.

HEIM, K. E., TAGLIAFERRO, A. R., BOBILYA, D. J., 2002, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.

HOCHSTEIN, P., ATALLAH, A. S., 1988, The nature of oxidants and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer, *Mutation Research*, 2002, 363-375.

HOSONO-FUKAO, T., HOSONO, T., MISAWA, S., SEKI, T., ARIGA, T., 2004, The effects of allyl sulfides on the induction of phase II detoxification enzymes and liver injury by carbon tetrachloride, *Food and Chemical Toxicology*, 42, 743-749.

HOSONO-FUKAO, T., HOSONO, T., SEKI, T., ARIGA, T., 2009, Diallyl trisulfide protects rats from carbon tetrachloride-induced liver injury, *Journal of Nutrition*, 139, 2252-2256.

HOU, Y. C., JANCZUK, A., WANG, P. G., 1999, Current trends in the development of nitric oxide donors, *Current Pharmaceutical Design*, 5, 417-441.

HU, C., KONG, Q., YANG, D., PAN, Y., 2011, Isolation and structural characterization of a novel galactomannan from *Eremurus anisopterus* (Ker. et Kir) regel roots, *Carbohydrate Polymers*, 84, 402-406.

HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

HUANG, X., SONG, C., ZHONG, C., WANG, F., 2012, Research progress in radioprotective effect of superoxide dismutase, *Drug Discoveries and Therapeutics*, 6, 169-177.

HUMPEL, C., 2011, Chronic mild cerebrovascular dysfunction as a cause for Alzheimer's disease? *Experimental Gerontology*, 46, 225-232.

HURST, R., BAO, Y., JEMTH, P., MANNERVI, B., WILLIAMSON, G., 1997, Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase activity of rat class theta glutathione transferase T2-2, *Biochemical Society Transactions*, 25, S559.

IBRAHIM, S. S., NASSAR, N. N., 2008, Diallyl sulfide protects against N-nitrosoethylamine-induced liver tumorigenesis: Role of aldose reductase, *World Journal of Gastroenterology*, 14, 6145-6153.

ILOW, R., REGULSKA-ILOW, B., RÓZAŃSKA, D., MISIEWICZ, D., GRAJETA, H., KOWALISKO, A., BIERNAT, J., 2012, Assessment of dietary flavonoid intake among 50-year-old inhabitants of Wroclaw in 2008, *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 21, 353-362.

IKKEN, Y., MORALES, P., MARTINEZ, A., MARIN, M. L., HAZA, A. I., CAMBERO, M. I., 1999, Antimutagenic effect of fruit and vegetable ethanolic extracts against N-nitrosamines evaluated by the Ames test, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3257-3264.

IP, C., GANTHER, H. E., 1992, Comparisons of selenium and sulfur analogs in cancer prevention, *Carcinogenesis*, 13, 1167-1170.

JAVAD, H., SEYED-MOSTAFA, H. Z., FARHAD, O., MEHDI, M., EBRAHIM, A. O., NADER, R. G., RAMIN, G. S., BEHROOZ, H., 2012, Hepatoprotective effects of hydroalcoholic extract of *Allium hirtifolium* (Persian shallot) in diabetic rats, *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 23, 83-87.

JENSEN, S. J. K., 2003, Oxidative stress and free radicals, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 666–667, 387–392.

KAHRAMAN, A., SERTESER, M., KÖKEN, T., 2002, Flavonoidler, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3, 1-8.

KAHRAMAN, S., 2009, *Labada (Rumex cristatus DC)'nin antioksidan aktivitesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

KALIM, M. D., BHATTACHARYYA, D., BANERJEE, A., CHATTOPADHYAY, S., 2010, Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of plants used in Unani system of medicine, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10, 77.

KANG, S. S., WONG, P. W. K., MALINOW, M. R., 1992, Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease, *Annual Reviews of Nutrition*, 12, 279–289.

KARABULUT, A. B., 2001, *Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan enzimler, nitrik oksit aktiviteleri ile plazma sitokinleri*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

KARAMAN, K., POLAT, B., OZTURK, I., SAGDIC, O., OZDEMIR, C., 2011, Volatile compounds and bioactivity of *Eremurus spectabilis* (Ciris), a Turkish wild edible vegetable, *Journal of Medicinal Food*, 14, 1238-1243.

KARATAŞ, F., BEKTAŞ, İ., BİRİŞİK, A., AYDIN, Z., KURTUL, A., 2011, Çiriş otu'nda (*Asphodelus aestivus* L.) suda çözünen bazı bileşiklerin araştırılması, *Suleyman Demirel University Journal of Science*, 6, 35-39.

KAYA-DAGISTANLI, F., TANRIVERDI, G., ALTINOK, A., OZYAZGAN, S., OZTURK, M., 2013, The effects of alpha lipoic acid on liver cells damages and apoptosis induced polyunsaturated fatty acids, *Food and Chemical Toxicology*, 53, 84-93.

KESAVANARAYANAN, K. S., SATHIYA, S., RANJU, V., SUNIL, A. G., ILAVARASAN, R., SARAVANA, B. C., KAVIMANI, S., PRATHIBA, D., 2012, In vitro cytotoxic, antioxidative and alpha-glucosidase inhibitory potential of a herbal mixture comprised of *Allium sativum* and *Lagerstroemia speciosa*, *European Review of Medical and Pharmacological Science*, 16, 58-68.

KESARWANI, P., MURALI, A. K., AL-KHAMI, A. A., MEHROTRA, S., 2012, Redox regulation of T-cell function: From molecular mechanisms to significance in

human health and disease, *Antioxidants and Redox Signaling*, doi:10.1089/ars.2011.4073.

KESKİN, H., ERKMEN, G., 1987, *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, Beşinci basım, İstanbul.

KHLEBNIKOV, A. I., SCHEPETKIN, I. A., DOMINA, N. G., KIRPOTINA, L. N., QUINN, M. T., 2007, Improved quantitative structure–activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15, 1749–1770.

KIDD, P. M., 1997, Glutathione: Systemic protectant against oxidative and free radical damage, *Alternative Medicine Review*, 2, 155-176.

KIKUZAKI, H., HISAMOTO, M., HIROSE, K., AKIYAMA, K., TANIGUCHI, H., 2002, Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2161-2168.

KIM, D., LEE, J. T., LEE, I. K., HA, J., 2008, Comperative anticancer effects of flavonoids and diazepam in cultured cancer cells, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31, 255-259.

KIM, W. S., YANG, Y. J., MIN, H. G., SONG, M. G., LEE, J. S., PARK, K. Y., KIM, J. J., SUNG, J. H., CHOI, J. S., CHA, H. J., 2010, Accelerated wound healing by S-methylmethionine sulfonium: Evidence of dermal fibroblast activation via the ERK1/2 pathway, *Pharmacology*, 85, 68-76.

KOMARNISKY, L. A., CHRISTOPHERSON, R. J., BASU, T. K., 2003, Sulfur: Its clinical and toxicological aspects, *Nutrition*, 19, 54-61.

KOMAROV, V. L., 1968, *Flora of the U. S. S. R., IV*, (English Translation, Russian ed., 1935), Jerusalem.

KORKINA, L. G., PASTORE, S., DELLAMBRA, E., DE LUCA C., 2012, New molecular and cellular targets for chemoprevention and treatment of skin tumours by plant polyphenols: A critical review, *Current Medicinal Chemistry*, Baskıda.

KOYUNCU, M., ARSLAN, N., 2009, Munzur vadisinin biyolojik çeşitliliğinin korunması, Ulaşılabilir Yaşam Derneği, Ankara, s.5.

KRIMMEL, B., SWOBODA, F., SOLAR, S., REZNICEK, G., 2010, OH-radical induced degradation of hydroxybenzoic- and hydroxycinnamic acids and formation of aromatic products – A gamma radiolysis study, *Radiation Physics and Chemistry*, 79, 1247–1254.

KUSTERER, J., KEUSGEN, M., 2010, Cysteine sulfoxides and volatile sulfur compounds from *Allium tripedale*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 1129-1137.

- KWON, M. J., KIM, B., LEE, Y. S., KIM, T. Y., 2012, Role of superoxide dismutase 3 in skin inflammation, *Journal of Dermatological Science*, 67, 81-87.
- LAUGHTON, M. J., HALLIWELL, B., EVANS, P. J., HOULT, J. R. S., 1989, Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin, *Biochemical Pharmacology*, 38, 2859-2865.
- LANCASTER, J. E., SHAW, M. E., JOYCE, M. D. P., McCALLUM, J. A., McMANUS, M. T., 2000, A novel alliinase from onion roots. Biochemical characterization and cDNA cloning, *Plant Physiology*, 122, 1269-1279.
- LEE, N. Y., PARK, K. Y., MIN, H. J., SONG, K. Y., LIM, Y. Y., PARK, J., KIM, B. J., KIM, M. N., 2012a, Inhibitory effect of vitamin U (S-methylmethionine sulfonium chloride) on differentiation in 3T3-L1 pre-adipocyte cell lines, *Annals of Dermatology*, 24, 39-44.
- LEE, S. M., JEONG, E. M., JEONG, J., SHIN, D. M., LEE, H. J., KIM, H. J., LIM, J., LEE, J. H., CHO, S. Y., KIM, M. K., WEE, W. R., LEE, J. H., KIM, I. G., 2012b, Cysteamine prevents the development of lens opacity in a rat model of selenite-induced cataract, *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 53, 1452-1459.
- LERAY, C., 2011, *Free oxygen and thiyl radicals* [online], <http://www.cyberlipid.org/peerox/oxid0003.htm> [Ziyaret Tarihi: 27 Ekim 2012].
- LI, C., SHI, J. G., ZHANG, Y. P., ZHANG, C. Z., 2000, Constituents of *Eremurus chinensis*, *Journal of Natural Products*, 63, 653-656.
- LIANG, H., XING, Y., CHEN, J., ZHANG, D., GUO, S., WANG, C., 2012, Antimicrobial activities of endophytic fungi isolated from *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae), *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 238.
- LIU, F., OOI, V. E. C., CHANG, S. T., 1997, Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts, *Life Sciences*, 60, 763-771.
- LLOYD, D. R., PHILIPS, D. H., CARMICHAEL, P. L., 1997, Generation of putative intrastrand cross-links and strand breaks in DNA by transition metal ion-mediated oxygen radical attack, *Chemical Research in Toxicology*, 10, 393-400.
- LO, S., ALLÉRA, A., ALBERS, P., HEIMBRECHT, J., JANTZEN, E., KLINGMULLER, D., STECKELBROECK, S., 2003, Dithioerythritol (DTE) prevents inhibitory effects of triphenyltin (TPT) on the key enzymes of the human sex steroid hormone metabolism, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 84, 569-576.
- LU, S. C., 2009, Regulation of glutathione synthesis, *Molecular Aspects of Medicine*, 30, 42-59.

LU, J., LIN, P. H., YAO, Q., CHEN, C., 2010, Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14, 840-860.

MA, L., LIN, X. M., 2010, Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 2-12.

MAGALHÃES, L. M., SEGUNDO, M. A., REIS, S., LIMA, J. L. F. C., 2008, Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chimica Acta*, 613, 1-19.

MALINOWSKA, J., KOŁODZIEJCZYK, J., OLAS, B., 2012, The disturbance of hemostasis induced by hyperhomocysteinemia; the role of antioxidants, *Acta Biochimica Polonica*, 185-194.

MARČETIĆ, M., BOŽIĆ, D., MILENKOVIĆ, M., MALEŠEVIĆ, N., RADULOVIĆ, S., KOVAČEVIĆ, N., 2012, Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activity of young shoots of the smoke tree, *Cotinus coggygria* Scop., *Phytotherapy Research*, doi: 10.1002/ptr.4919.

MARGIS, R., DUNAND, C., TEIXEIRA, F. K., MARGIS-PINHEIRO, M., 2008, Glutathione peroxidase family-an evolutionary overview, *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 275, 3959-3970.

McKNAUGHT, A. D., WILKINSON, A., 1997, *IUPAC. Compendium of chemical terminology*, 2nd ed. ("The Gold Book"), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 0-9678550-9-8.

MELINO, S., SABELLI, R., PACI, M., 2011, Allyl sulfur compounds and cellular detoxification system: effects and perspectives in cancer therapy, *Amino Acids*, 41, 103-112.

MENG, S., CIMENT, S., JAN, M., TRAN, T., PHAM, P., CUETO, R., YANG, X. F., WANG, H., 2013, Homocysteine induces inflammatory transcriptional signaling in monocytes, *Frontiers in Biomedicine*, 18, 685-695.

MEYER, A., BUHL, R., MAGNUSSEN, H., 1994, The oral effect of *N*-acetylcysteine on lung glutathione levels in idiopathic pulmonary fibrosis, *European Respiratory Journal*, 7, 431-436.

MILLER, S. L., SCHLESINGER, G., 1993, Prebiotic syntheses of vitamin coenzymes: I. Cysteamine and 2-mercaptoethanesulphonic acid (Coenzyme M), *Journal of Molecular Evolution*, 36, 302-307.

MIN, D. B., 1998, *Lipid oxidation of edible oil in food lipids, chemistry, nutrition and biotechnology*, In: AKOH, C. C., MIN, D. B. (Eds), Marcel Dekker, New York, pp.283-296.

MORRIS, D., KHURASANY, M., NGUYEN, T., KIM, J., GUILFORM, F., MEHTA, R., GRAY, D., SAVIOLA, B., VENKETARAMAN, V., 2012, Glutathione and infection, *Biochimica et Biophysica Acta*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.10.012>

MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMINGUEZ, J. M., SINEIRO, J., DOMINGUEZ, H., NUNEZ, M. J., PARAJO, J. C., 2001, Natural antioxidants from residual sources, *Food Chemistry*, 72, 145-171.

MURRAY, R. K., GRANNER, D. K., MAYES, P. A., RODWELL, V. W., 1996, *Harper'in Biyokimyası*, 24. baskı, Dikmen, N., Özgünen, T. (çev.), Barış Kitabevi, İstanbul.

NAUSER, T., SCHONEICH, C., 2003, Thiyl radicals abstract hydrogen atoms from the a C-H bonds in model peptides: absolute rate constants and effect of amino acid structure, *Journal of the American Chemical Society*, 125, 2042–2043.

NEAL, R., MATTHEWS, R. H., LUTZ, P., ERCAL, N., 2003, Antioxidant role of N-acetyl cysteine isomers following high dose irradiation, *Free Radical Biology and Medicine*, 34, 689-695.

NEHİR EL, S., KARAKAYA, S., TAŞ, A. A., 1999, Bazı gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin *in vitro* koşullarda saptanması, *TÜBİTAK Projesi* No: TOGTAG-1698, İzmir.

NELSON, D. L., COX, M. M., 2004, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th Ed., W.H. Freeman and Company, New York, 978-0716743392.

NICHOLLS, P., 2012, Classical catalase: Ancient and modern, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 525, 95-101.

NOGUCHI, Y., FUKUDA, K., MATSUSHIMA, A., HAISHI, D., HIROTO, M., KODERA, Y., NISHIMURA, H., INADA, Y., 1999, Inhibition of Df-protease associated with allergic diseases by polyphenol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2969-2972.

ODETTI, P., PESCE, C., TRAVERSO, N., 2003, Comparative trial of N-acetyl-cysteine, taurin and oxerutin on skin and kidney damage in long-term experimental diabetes, *Diabetes*, 52, 500-502.

OKTAY, M., GÜLÇİN, İ., KÜFREVİOĞLU, O. İ., 2003, Determination of *in vitro* antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 36, 263-271.

OMONI, A. O., ALUKO, R. E., 2005, The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review, *Trends in Food Science and Technology*, 16, 344-350.

ONAR-CELIK, H., YUSUFOGLU, A., TURKER, G., YANARDAG, R., 2012, Elastase, tyrosinase and lipoxgenase inhibition and antioxidant activity of an aqueous

extract from *Epilobium angustifolium* L. leaves, *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 716-726.

OSKAY, M., AKTAŞ, K., SARI, D., AZERİ, K., 2007, *Asphodelus aestivus* (Liliaceae)'un antimikrobiyal etkisinin çukur ve disk diffüzyon yöntemiyle karşılaştırmalı olarak belirlenmesi, *Ekoloji*, 16, 62-65.

OSMAN, A. M., WONG, K. K. Y., FERNYHOUGH, A., 2006, ABTS radical driven-oxidation of polyphenols: Isolation and elucidation of covalent adducts, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346, 321-329.

OYAIZU, M., 1986, Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

OZBAL, S., ERGUR, B. U., ERBİL, G., TEKMEK, I., BAGRIYANIK, A., CAVDAR, Z., 2012, The effects of α -lipic acid against testicular ischemia-reperfusion injury in rats, *The Scientific World Journal*, doi:10.1100/2012/489248.

OZSOY, N., CAN, A., YANARDAG, R., AKEV, N., 2008, Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts, *Food Chemistry*, 110, 571-583.

ÖCAL, R., 2007, *Deneyisel kronik pankreatitte N-asetil sistein uygulamasının pankreatik fibroz üzerine etkisi*, Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Bilim Dalı, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi, Ankara.

ÖZÇELİK, H., 1989, Van ve yöresinde süt mamüllerinin hazırlanmasında yararlanılan bitkilerin kullanılışları üzerine bir araştırma, *TÜBİTAK, DOĞA, Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 13, 356-360.

PAOLINI, M., POZETTI, L., PEDULLI, G. F., MARCHESI, E., 1999, The nature of prooxidant activity of vitamin C, *Life Sciences*, 64, 273-278.

PARCELL, S., 2002, Sulfur in human nutrition and applications in medicine, *Alternative Medicine Review*, 7, 22-44.

PEKSEL, A., ARISAN-ATAC, I., YANARDAG, R., 2006, Antioxidant activities of aqueous extracts of purslane (*Portulaca oleracea* subsativa L.), *Italian Journal of Food Science*, 18, 295-308.

PEKSEL, A., ARISAN-ATAC, I., YANARDAG, R., 2010, Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of *Pistacia atlantica* Desf. leaves, *Journal of Food Biochemistry*, 34, 451-476.

PEKSEL, A., ALTAS-KIYMAZ, N., IMAMOĞLU, S., 2012, Evaluation of antioxidant and antifungal potential of *Asphodelus aestivus* Brot. growing in Turkey, *Journal of Medicinal Plants Research*, 62, 253-265.

PEREIRA, L. V. B., SHIMIZU, M. H. M., RODRIGUEZ, L. P. M. R., LEITE, C. C., ANDRADE, L., SEGURO, A. C., 2012, N-Acetylcysteine protects rats with chronic renal failure from gadolinium-chelate nephrotoxicity, *Public Library of Science*, 7, 1-5.

PÉREZ-SEVERIANO, F., RODRÍQUEZ- PÉREZ, M., PEDRAZA-CHAVERRÍ, J., MALDONADO, P. D., MEDINA-CAMPOS, O. N., ORTÍZ-PLATA, A., SÁNCHEZ-GARCÍA, A., VILLEDA-HERNÁNDEZ, J., GALVÁN-ARZATE, S., AGUILERA, P., SANTAMARÍA, A., 2004, S-Allylcysteine, a garlic-derived antioxidant, ameliorates, quinolinic acid-induced neurotoxicity and oxidative damage in rats, *Neurochemistry International*, 45, 1175-1183.

PFANZAGL, B., TRIBL, F., KOLLER, E., MOSLINGER, T., 2003, Homocysteine strongly enhances metal-catalysed LDL oxidation in the presence of cystine and cysteine, *Atherosclerosis*, 168, 39-48.

POGOCKI, D., SCHONEICH, C., 2001, Thiyl radicals abstract hydrogen atoms from carbohydrates: reactivity and selectivity, *Free Radical Biology and Medicine*, 31, 98-107.

PROCHÁZKOVÁ, D., BOUŠOVÁ, I., WILHELMOVÁ, N., 2011, Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids, *Fitoterapia*, 82, 513-523.

PUGLIA, C. D., POWELL, S. R., 1984, Inhibition of cellular antioxidants: a possible mechanism of toxic cell injury, *Environmental Health Perspectives*, 57, 307-11.

RAO, A. V., RAO, L. G., 2007, Carotenoids and human health, *Pharmacological Research*, 55, 207-216.

RAVISHANKARA, M. N., SHRIVASTAVA, N., PADH, H., RAJANI, M., 2002, Evaluation of antioxidant properties of root bark of *Hemidesmus indicus* R. Br. (Ananthmul), *Phytomedicine*, 9, 153-160.

REDDY, S. V., SUCHITRA, M. M., REDDY, Y. M., REDDY, P. E., 2010, Beneficial and detrimental actions of free radicals: a review, *Journal of Global Pharma Technology*, 2, 3-11.

RIVERA, S. M., CANELA-GARAYOA, R., 2012, Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials, *Journal of Chromatography A*, 1224, 1-10.

ROJAS, P., GARCÍA-SERRANO, N., MEDINA-CAMPOS, A. N. M., PEDRAZA-CHAVERRI, J., MALDONADO, P. D., RUIZ-SACNHÉZ, E., 2011, S-allylcysteine, a garlic compound, protects against oxidative stress in 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced parkinsonism in mice, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22, 937-944.

ROLLET-LABELLE, E., GRANGE, M. J., ELBIM, C., MARQUETTY, C., GOUGEROT-POCIDALO, M. A., PASQUIER, C., 1998, Hydroxyl radical as a potential intracellular mediator of polymorphonuclear neutrophil apoptosis, *Free Radical Biology and Medicine*, 24, 563-572.

- ROMAGLONO, D. F., SELMIN, O. L., 2012, Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence, *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, 31, 206-238.
- ROSE, P., WHITEMAN, M., MOON, P. K., ZHU, Y. Z., 2005, Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents, *Natural Product Reports*, 22, 351-368.
- ROSSI, R. J., 2003, Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2866-2887.
- SACAN, O., YANARDAG, R., 2010, Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*), *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1275-1280.
- SACAN, O., ORAK, H., YANARDAG, R., 2008, Antioxidant activity of water extract of *Eruca sativa* Mill., *Asian Journal of Chemistry*, 20, 3462-3474.
- SAFDER, M., IMRAN, M., MEHMOOD, R., MALIK, A., AFZA, N., IQBAL, L., LATIF, M., 2009, Asphorodin, a potent lipoxygenase inhibitory triterpene diglycoside from *Asphodelus tenuifolius*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 11, 945-950.
- SAITO, H., ISHIHARA, K., 1997, Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 74, 1531-1536.
- SALIM, A. S., 1992, Role of sulfhydryl-containing agents in the healing of erosive gastritis and chronic gastric ulceration in the rat, *Journal of Pharmaceutical Science*, 81, 70-73.
- SAKANAKA, S., TACHIBANA, Y., OKADA, Y., 2005, Preparation and antioxidant properties of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha), *Food Chemistry*, 89, 569-575.
- SÁNCHEZ-MORENO, C., 2002, Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, *Food Science and Technology International*, 8, 121-137.
- SANTAS, J., CARBÓ, R., GORDON, M. H., ALMAJANO, M. P., 2008, Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties, *Food Chemistry*, 107, 1210-1216.
- SARAVANAN, G., PONMURUGAN, P., BEGUM, M. S., 2012, Effect of S-allylcysteine, sulphur containing amino acid on iron metabolism in streptozotocin induced diabetic rats, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb2012.07.009>.

SARWAR-ALAM, M., KAUR, G., JABBAR, Z., JAVED, K., ATHAR, M., 2007, *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicit, *Food and Chemical Toxicology*, 45, 910-920.

SEN, C. K., KHANNA, S., ROY, S., 2006, Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols, *Life Science*, 78, 2088-2098.

SENER, G., SAKARCAN, A., YEGEN, B. C., 2007, Role of garlic in the prevention of ischemia-reperfusion injury, *Molecular Nutrition and Food Research*, 51, 1345-1352.

SERAFINI, M., DEL RIO, D., 2004, Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: Is the total antioxidant capacity the right tool?, *Redox Report*, 9, 145-152.

SHAHID-AKHLAQ, M., SCHUCHMANN, H. P., von SONNTAG, C., 1987, The reverse of the repair reaction of the thiols: H-abstraction at carbon by thiyl radicals, *International Journal of Radiation Biology*, 51, 91-102.

SHAHIDI, F., WANASUNDURA, P. D., 1992, Phenolic antioxidants, *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 32, 67-103.

SHAIKH, Z. A., VU, T. T., ZAMAN, K., 1999, Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 154, 256-263.

SHERWIN, E. R., 1990, *Antioxidants*, In: Food additives, Branen, A. L., Davidson P. M., Salminen, S. (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, ISBN: 0824780469.

SHUKLA, Y., KALRA, N., 2007, Cancer chemoprevention with garlic and its constituents, *Cancer Letters*, 247, 167-81.

SHUKLA, S., MEHTA, A., JOHN, J., SINGH, S., MEHTA, P., VYAS, S. P., 2009, Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of *Caesalpinia bonducella* seeds, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1848-1851.

SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

ŠKROVÁNCOVÁ, S., MIŠURCOVÁ, L., MACHŮ, L., 2012, Antioxidant activity and protecting health effects of common medicinal plants, *Advances in Food and Nutrition Research*, 67, 75-139.

SLINKARD, K., SINGLETON, V. L., 1977, Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.

SOKMEN, B. B., TUNALI, S., YANARDAG, R., 2012, Effects of vitamin U (S-methyl methionine sulphonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3562-3566.

SREEKUMAR, P., BRIAN, C., STEVEN, B., 2006, Nordihydroguaiaretic acid (NDGA): A powerful antioxidant and anti-inflammatory ingredient for skin care applications, *Flavour and Fragrance Journal*, 34, 61-64.

STAHL, W., SIES, H., 1993, Physical quenching of singlet-oxygen and cis-trans isomerization of carotenoids, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 691, 10-19.

STAHL, W., SIES, H., 2003, Antioxidant activity of carotenoids, *Molecular Aspects of Medicine*, 24, 345-351.

STOOKEY, L. L., 1970, Ferrozine-A new spectrophotometric reagent for iron, *Analytical Chemistry*, 42, 779-781.

STRONG, R., MILLER, R. A., ASTLE, C. M., FLOYD, R. A., FLURKEY, K., HENSLEY, K. L., JAVORS, M. A., LEEUWENBURGH, C., NELSON, J. F., ONGINI, E., NADON, N. L., WARNER, H. R., HARRISON, D. E., 2008, Nordihydroguaiaretic acid and aspirin increase lifespan of genetically heterogeneous male mice, *Aging Cell*, 7, 641-650.

STRUBELT, O., SIEGERS, C. P., SCHUTT, A., 1974, The curative effects of cysteamine, cysteine, dithiocarb in experimental paracetamol poisoning, *Archives of Toxicology*, 33, 55-64.

SU, Q., ROWLEY, K. G., BALAZS, N. D. H., 2002, Carotenoids: separation methods applicable to biological samples, *Journal of Chromatography B*, 781, 393-418.

SUN, T., XIE, W., XU, P., 2004, Superoxide anion scavenging activity of graft chitosan derivatives, *Carbohydrate Polymers*, 58, 379-382.

SUN, L., XU, S., ZHOU, M., WANG, C., WU, Y., CHAN, P., 2010, Effects of cysteamine on MPTP-induced dopaminergic neurodegeneration in mice, *Brain Research*, 1335, 74-82.

TAKAMA, U., ONIKI, T., 1997, A peroxidase/phenolics/ascorbate system can scavenge hydrogen peroxide in plant cells, *Physiologica Plantarum*, 101, 845-852.

TAKAHASHI, M., SHIBAMOTO, T., 2008, Chemical compositions and antioxidant/anti-inflammatory activities of steam distillate from freeze-dried onion (*Allium cepa* L.) sprout, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10462-10467.

TAKTHFOOLADI, M. A., JAHANSHAH, A., JAHANSHAH, G., SOTOUDEH, A., TAKTHFOOLADI, H. A., KHANSARI, M., 2012, Protective effect of N-acetylcysteine on kidney as a remote organ after skeletal muscle ischemia-reperfusion, *Acta Cirúrgica Brasileira*, 27, 611-615.

TANDOGAN, B., GUVENC, A., CALIS, I., ULUSU, N. N., 2011, In vitro effects of compounds isolated from *Sideritis brevibracteata* on bovine kidney cortex glutathione reductase, *Acta Biochimica Polonica*, 58, 471-475.

TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M., 1998, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitapları, No:78.

TARIMCI, N., SENER, S., KILIC, T., 1997, Topical sodium sulfacetamide/sulfur lotion, *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 22, 301.

TARPEY, M. M., WINK, D. A., GRISHAM, M. B., 2004, Methods for detection of reactive metabolites of reactive oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations, *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286, R431-R444.

TEHRANI, H., HALVAIE, Z., SHADNIA, S., SOLTANINEJAD, K., ABDOLLAHI, M., 2012, Protective effects of N-acetylcysteine on aluminium phosphine-induced oxidative stress in acute human poisoning, *Clinical Toxicology*, doi:10.3109/15563650.2012.743029.

TENNEZÉ, L., DAURAT, V., TIBI, A., CHAUMET-RIFFAUD, P., FUNCK-BRENTANO, C., 2004, A study of bioavailability of cysteamine hydrochloride, cysteamine bitartrate and phosphocysteamine in healthy adult male volunteers, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 47, 49-52.

TERPINC, P., POLAK, T., ŠEGATIN, N., HANZLOWSKY, A., ULRICH, N., P., ABRAMOVIČ, H., 2011, Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids, *Food Chemistry*, 128, 62-69.

TIMBRELL, J. A., 2009, *Principles of Biochemical Toxicology*, 4th Ed., Informa Healthcare, New York, 978-0-8493-7302-2.

TIWARI, P., KUMAR, B., KAUR, M., KAUR, G., KAUR, H., 2011, Phytochemical screening and extraction: A review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1, 98-106.

TOSUN, M., ERCISLI, S., OZER, H., TURAN, M., POLAT, T., OZTURK, E., PADEM, H., KILICGUN, H., 2012, Chemical composition and antioxidant activity of foxtail lily (*Eremurus spectabilis*), *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 11, 145-153.

TRABER, M. G., ATKINSON, J., 2007, Vitamin E, antioxidant and nothing more, *Free Radical Biology and Medicine*, 43, 4-15.

TRABER, M. G., STEVENS, J. F., 2011, Vitamin C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective, *Free Radical Biology and Medicine*, 51, 1000-1013.

TREMBLAY, M. E., SAINT-PIERRE, M., BOURHIS, E., LÉVESQUE, D., ROUILLARD, C., CICCHETTI, F., 2006, Neuroprotective effects of cystamine in aged parkinsonian mice, *Neurobiology and Aging*, 27, 862-870.

TRIBBLE, D. L., FRANK, E., 1994, Dietary antioxidants, cancer and atherosclerotic heart disease, *West Journal of Medicine*, 161, 605-613.

TSAO, R., 2010, Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, *Nutrients*, 2, 1231-1246.

TURGUT, M., BAKAN, A., 1998, Homosistein, vasküler hastalık ve tromboz, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 15, 340-349.

TURK, N., DAĞISTANLI, F. K., SACAN, O., YANARDAG, R., BOLKENT, S., 2012, Obestatin and insulin in pancreas of newborn diabetic rats treated with exogenous ghrelin, *Acta Histochemica*, 114, 349-357.

TURKMEN, S., MENTESE, A., KARAGUZEL, E., KARACA, Y., KUCUK, A., UZUN, A., YULUG, E., TUREDİ, S., 2012, A comparison of the effects of *N*-acetylcysteine and ethyl pyruvate on experimental testicular ischemia-reperfusion injury, *Fertility and Sterility*, 98, 626-631.

TUZLACI, E., 1985, Foxtail lily of Turkey, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 1, 68-89.

TÜRK GIDA KODEKSİ, 2008, *Renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki gıda katkı maddeleri tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ*, Tebliğ No:2008/69, <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2008-22.html> [Ziyaret Tarihi: 16 Kasım 2012].

UGULU, I., BASLAR, S., YOREK, N., DOGAN, Y., 2009, The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir province, Turkey, *Journal of Medicinal Plants Research*, 3, 345-367.

URAZAEVA, L. G., 1976, Anti-inflammatory effect of methylmethionine sulfonium chloride (vitamin U), *Farmakologiya i Toksikologiya*, 39, 316-319.

UTOMO, A., JIANG, X. Z., FURUTA, S., YUN, J., LEVIN, D. S., WANG, Y. C. J., DESAI, K. V., GREEN, J. E., CHEN, P. L., LEE, W. H., 2004, Identification of a novel putative nonselenocysteine containing phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (NPGPx) essential for alleviating oxidative stress generated from polyunsaturated fatty acids in breast cancer cells, *The Journal of Biological Chemistry*, 279, 43522-43529.

van DAM, R. M., NAIDOO, N., LANDBERG R., 2012, Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings, *Current Opinion in Lipidology*, 24, 25-33.

VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M. T. D., MAZUR, M., TELSER, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39, 44-84.

VATANSEVER, L., 2004, Et ve et ürünlerinde biyojenik aminler, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10, 203-208.

VAZQUEZ-PRIETO, M., MIATELLO, R. M., 2010, Organosulfur compounds and cardiovascular disease, *Molecular Aspects of Medicine*, 31, 540-545.

VILLATORO-PULIDO, M., FONT, R., SAHA, S., OBREGÓN-CANO, S., ANTER, J., MUÑOZ-SERRANO, A., DE HARO-BAILÓN, A., ALONSO-MORAGA, A., DEL RÍO-CELESTINO M., 2012, In vivo biological activity of rocket extracts (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa* (Miller) Thell) and sulforaphane, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1384-1392.

VOET, D., 1995, *Biochemistry*, 2nd Ed., Swartmore College, USA, 0-471-5861-X.

WANDELBO, P., 1982, Liliaceae, 1-Asphodeloideae: *Eremurus* in K. H. Rechinger's "Flora Iranica", No:151, Graz, Avustria p.6-30.

WANG, J., CHEN, Z., XIE, S., ZHAO J., WANG, C., 2010, Synthesis and bioevaluation of aryl-guanidino polyamine conjugates targeting the polyamine transporter, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20, 6421-6425.

WANG, G., HUANG, W., HE, H., FU, X., WANG, J., ZOU, K., CHEN, J., 2013, Growth inhibition and apoptosis-inducing effect on human cancer cells by RCE-4, a spirostanol saponin derivative from natural medicines, *International Journal of Molecular Medicine*, 31, 219-224.

WENNER, W. J., MURPHY J. L., 1997, The effects of cysteamine on the upper gastrointestinal tract of children with cystinosis, *Pediatric Nephrology*, 11, 600-603.

WICHI, H. P., 1988, Enhanced tumour development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium, *Food and Chemical Toxicology*, 26, 717-723.

WILMER, M. J., KLUIJTMANS, L. A. J., VAN DER WELDEN, T. J., WILLEMS, P. H., SCHEFFER, P. G., MASEREEUV, M., MONNENS, L. A., VAN DEN HAUVEL, L. P., LEFTCHENKO, E. N., 2011, Cysteamine restores glutathione redox status in cultured cystinotic proximal tubular epithelial cells, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1812, 643-651.

WU, G., FANG, Y. Z., YANG, Z., LUPTON, J. R., TURNER, N. D., 2004, Glutathione metabolism and its implications for health, *Journal of Nutrition*, 134, 489-192.

XIAO, H., XIANG, Q., XIAO, C., YUAN, L., LIU, Z., LIU, X., 2012, Novel physiological properties of ethanol extracts from *Eremurus chinensis* Fedtsch. roots: *in vitro* antioxidant and anticancer activities, *Food Function*, 3, 1310-1318.

XIONG, J., LI, S., WANG, W., HONG, Y., TANG, K., LUO, Q., 2013, Screening and identification of the antibacterial bioactive compounds from *Lonicera japonica* Thunb. leaves, *Food Chemistry*, 138, 327-333.

XU, J., CHEN, S., HU, Q., 2005, Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.), *Food Chemistry*, 91, 79-83.

YABUKI, Y., MUKAIDA, Y., SAITO, Y., OSHIMA, K., TAKAHASHI, T., MUROI, E., HASHIMOTO, K., UDA, Y., 2010, Characterisation of volatile sulphur-containing compounds generated in crushed leaves of Chinese chive (*Allium tuberosum* Rottler), *Food Chemistry*, 120, 343-348.

YAMAGUCHI, F., SAITO, M., ARIGA, T., YOSHIMURA, Y., NAKAZAWA, H., 2000, Free radical scavenging activity and antiulcer activity of garcinol from *Garcinia indica* fruit rind, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2320-2325.

YANG, C. S., CHABRA, S. K., HONG, J. Y., SMITH, T. J., 2001, Mechanisms of inhibition of chemical toxicity and carcinogenesis by diallyl sulfide (DAS) and related compounds from garlic, *Journal of Nutrition*, 131, 1041-1045.

YARDIM-AKAYDIN, S., OZKAN, Y., OZKAN, E., TORUN, M., SIMSEK, B., 2003, The role of plasma thiol compounds and antioxidant vitamins in patients with cardiovascular diseases, *Clinica Chimica Acta*, 338, 99-105.

YEHUDA, H., SOROKA, Y., ZLOTKIN-FRUŠIĆ, M., GILHAR, A., MILNER, Y., TAMIR, S., 2012, Isothiocyanates inhibit psoriasis-related proinflammatory factors in human skin, *Inflammatory Research*, 61, 735-742.

YILDIRIM, E., DURSUN, A., TURAN, M., 2001, Determination of the nutrition contents of the wild plants used as vegetables in upper Çoruh Valley, *Turkish Journal of Botany*, 25, 367-371.

YILDIRIM, A., MAVİ, A., KARA, A. A., 2003, Antioxidant and antimicrobial activities of *Polyganum cognatum* Meissn extracts, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 64-69.

YILDIZ, L., 2007, *Bazı bitki örneklerinde antioksidan kapasitenin spektrofotometrik ve kromatografik tayini*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

YIN, M. C., HWANG, S. W., CHAN, K. C., 2002, Nonenzymatic antioxidant activity of four organosulfur compounds derived from garlic, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6143-6447.

YOKOSUKA, A., TAKAGI, K., MIMAKI, Y., 2012, New cholestane glycosides and sterols from the underground parts of *Camaelirium luteum* and their cytotoxic activity, doi:10.1007/s11418-012-0718-z.

ZAFARULLAH, M., LI, W. Q., SYLVESTER, J., AHMAD, M., 2003, Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 60, 6-20.

ZARAGOZA, A., DIÉZ-FERNÁNDEZ, C, ALVAREZ, A. M., ANDRÉS, D., CASCALES, M., 2001, Mitochondrial involvement in cocaine-treated rat hepatocytes: effect of N-acetylcysteine and desferoxamine, *British Journal of Pharmacology*, 132, 1063-1070.

ZENGIN, G., AKTUMSEK, A., GULER, G. O., CAKMAK, Y. S., GIRÓN-CALLE, J., ALAIZ, M., VIOQUE, J., 2012, Nutritional quality of protein in the leaves of eleven *Asphodeline* species (Liliaceae) from Turkey, *Food Chemistry*, 135, 1360-1364.

ZHANG, Y. P., ZHANG, C. Z., TAO, B. Q., LI, C., 2000, Chemical constituents from *Eremurus chinensis* Fedtsch., *China Journal of Chinese Materia Medica*, 25, 355-356.

ZHANG, Q. F., ZHANG, Z. R., CHEUNG, H. Y., 2009, Antioxidant activity of *Rhizoma Smilacis Glabrae* extracts and its key constituent-astilbin, *Food Chemistry*, 115, 297-303.

ZHANG, D., XIE, X., CHEN, Y., HAMMOCK, B. D., KONG, W., ZHU, Y., 2012, Homocysteine upregulates soluble epoxide hydrolase in vascular endothelium in vitro and in vivo, *Circulation Research*, 110, 808-817.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W., 1999, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemistry*, 64, 555-559.

ZHU, Y., ZHANG, X. L., ZHU, B. F., DING, Y. N., 2012, Effect of antioxidant N-acetylcysteine on diabetic retinopathy and expression of VEGF and ICAM-1 from retinal blood vessels of diabetic rats, *Molecular Biology Reports*, 39, 3727-3735.

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı :Bertan Boran BAYRAK
Doğum Tarihi :05.06.1980
Doğum Yeri :Nevşehir

Öğrenim Durumu

İlk Okul :Köyceğiz Merkez Atatürk İlk Okulu, 1986-1991 Muğla
Orta Okul :Bahçelievler Orta Okulu, 1991-1993 Ankara
 M. Emin Günel Orta Okulu, 1993-1994 Nevşehir
Lise :Nevşehir Lisesi, 1994-1997 Nevşehir
Yüksek Öğrenim :İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Kimya
 Bölümü 1999-2004
Yüksek Lisans :İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya
 Anabilim Dalı, Biyokimya Programı 2004-2008
Yüksek Lisans Tezi Konusu:Fındıktan (*Corylus maxima Miller*) Glukoz-6-Fosfat
 Dehidrogenazın Saflaştırılması ve Bazı Özelliklerinin
 İncelenmesi
Doktora :İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya
 Anabilim Dalı, Biyokimya Programı 2008-2013
Doktora Tezi Konusu :Çiriş'in (*Eremurus spectabilis Bieb.*) ve Bazı Kükürtlü
 Bileşiklerin Antioksidan Aktiviteleri
Bildiği Yabancı Dil :İngilizce
Medeni Hali :Evli