



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TÜRKİYE İÇİN ENDEMİK BİR TÜR OLAN
NEPETA CONGESTA VAR. *CONGESTA*'NIN
(LAMIACEAE) ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN VE ENZİM İNHİBİTÖR
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ZAHİDE TEKİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

HAZİRAN-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Zahide TEKİN tarafından hazırlanan “Türkiye İçin Endemik Bir Tür Olan *Nepeta congesta* var. *congesta*’nın (Lamiaceae) Antioksidan Özelliklerinin ve Enzim İnhibitör Etkisinin Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 20/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

Danışman

Prof. Dr. Gökalp Özmen GÜLER

Üye

Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet KARALI
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

ZAHİDE TEKİN

20.06.2018

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE İÇİN ENDEMİK BİR TÜR OLAN *NEPETA CONGESTA* VAR. *CONGESTA*'NIN (LAMIACEAE) ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN VE ENZİM İNHİBİTÖR ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ZAHİDE TEKİN

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. GÖKALP ÖZMEN GÜLER

2018, 84 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Gökalp Özmen GÜLER
Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM

Bu çalışmada Türkiye için endemik bir tür olan *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın (Lamiaceae) antioksidan özellikleri ve enzim inhibitör etkisi değerlendirilmiştir. Bitkisel materyallerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde sadece bir metot ile çalışılması yeterli olmadığı için birden fazla sayıda metot kullanılmaktadır. Bu çalışmada; total antioksidan kapasite (fosfomolibdat), DPPH (2,2 -difenil-1-pikrilhidrazil) metodu, ABTS metodu, demir ve bakır indirgeme gücü metotları (FRAP, CUPRAC) ve metal şelatlama testleri uygulanmıştır. Ayrıca bu metotlara ilave olarak özütlerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri de çalışılmıştır. Bu çalışmada, *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın (Lamiaceae) metanolik ekstraktının enzim inhibitör özellikleri de araştırılmıştır. Bu amaçla, bu ekstraktın anti-kolinesteraz, anti-tirozinaz, anti-amilaz ve anti-glukozidaz etkisi incelenmiştir. Ekstraktın asetilkolinesteraz ve butrilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri sırasıyla 2.69 ve 2.99 mgGALAE / g olarak bulunmuştur. Ekstraktın antitirozinaz etkisi 30.29 mgKAE / g olarak bulunmuştur. Metanolik ekstraktın a-amilaz ve a-glukozidaz inhibitör aktiviteleri sırasıyla 0.36 ve 0.67 mmolACAE / g özüt olarak belirlenmiştir. Sonuçlara göre *Nepeta congesta* var. *congesta*, antioksidanların ve doğal enzim inhibitörlerinin değerli bir kaynağı olarak düşünülebilir. Tüm bunlar dikkate alındığında bu çalışma bu tür üzerine yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Enzim İnhibisyonu, Lamiaceae, *Nepeta congesta*

ABSTRACT

MS THESIS

EVALUATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES AND ENZYME INHIBITORY EFFECT OF *NEPETA CONGESTA* VAR *CONGESTA* (LAMIACEAE), A SPECIES ENDEMIC TO TURKEY

ZAHIDE TEKIN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

Advisor: Prof. Dr. Gokalp Ozmen GULER

2018, 84 Pages

Jury

Prof. Dr. Gokalp Ozmen GULER
Prof. Dr. Abdurrahman AKTUMSEK
Doç. Dr. Mustafa YONTEM

In this study, antioxidant properties and enzyme inhibitory effect of *Nepeta congesta* var. *congesta* (Lamiaceae), a species endemic to Turkey were evaluated. In determining the antioxidant capacity of plant materials, it is not sufficient to study only one method, so more than one method is used. In this study; total antioxidant capacity (fosfomolibdat), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, ABTS method, iron and copper reduction potency methods (FRAP, CUPRAC) and metal chelating were applied. In addition to these methods, the total phenolic and flavonoid contents of the extracts were also studied. In this study, enzyme inhibitory properties of methanolic extract from *Nepeta congesta* var. *congesta* (Lamiaceae) were also investigated. For this purpose, anti-cholinesterases, anti-tyrosinase, anti-amylase and anti-glucosidase effect of this extracts were studied. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities of the extracts were found to be 2.69 and 2.99 mgGALAE/g extract, respectively. Anti-tyrosinase effect of the extract was 30.29 mgKAE/g extract. α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of the metanolic extract were determined as 0.36 and 0.67 mmolACAE/g extract, respectively. *Nepeta congesta* var. *congesta* can be considered as a valuable source of antioxidants and natural enzyme inhibitors according to the results. When all this is taken into account, this work will shed light on other work on this species.

Keywords: Antioxidant, Enzyme inhibition, Lamiaceae, *Nepeta congesta*

ÖNSÖZ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarı ve Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda yürütölmüş olan bu tez çalışmasında, Türkiye için endemik bir tür olan *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın (Lamiaceae) antioksidan özelliklerinin ve enzim inhibitör etkisinin değerlendirilmesi yapılmıştır.

Bu tez çalışmamın tüm safhalarında bana her konuda yardımcı olan, yol gösteren, yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gökalp Özmen GÜLER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Analizlerin gerçekleştirilmesi ve yorumlanmasında yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e, Dr. Şengöl UYSAL'a ve doktora öğrencisi Ramazan CEYLAN'a çok teşekkür ederim. Yardımlarını ve bilgisini esirgemeyen Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK'e de çok teşekkür ederim.

ZAHİDE TEKİN
KONYA-2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Serbest Radikaller	4
2.2. Reaktif oksijen türleri (ROS)	4
2.2.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	6
2.2.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	6
2.2.3. Hidroksil radikali (OH^{\cdot})	6
2.2.4. Singlet oksijen (O_2^1)	6
2.2.5. Nitrik oksit radikali	7
2.3. Serbest Radikal Oluşumu ve Kaynakları	7
2.4. Serbest radikallerin organizma üzerine etkileri	8
2.4.1. Serbest radikallerin fizyolojik rolleri	8
2.4.2. Serbest radikallerinin patolojik rolleri	8
2.5. Oksidatif stres	9
2.6. Antioksidanlar	9
2.6.1. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	10
2.7. Antioksidanların sınıflandırılması	11
2.7.1. Endojen Doğal Antioksidanlar	12
2.7.1.1. Enzim Olan Antioksidanlar	12
2.7.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	13
2.7.1.1.2. Katalaz (CAT)	13
2.7.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px), Transferaz ve Redüktaz	14
2.7.1.1.4. Sitokrom oksidaz	14
2.7.1.1.5. Ksantin oksidaz	15
2.7.1.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	15
2.7.1.2.1. E Vitamini (Tokoferol)	15
2.7.1.2.2. C vitamini (Askorbik asit)	15

2.7.1.2.3. Retinoid ve Karotenoidler.....	16
2.7.1.2.4. Glutasyon (GSH).....	16
2.7.1.2.5. Melatonin (MLT).....	16
2.7.2. Sentetik Antioksidanlar.....	16
2.8. Fenolik Bileşikler.....	18
2.8.1. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması.....	20
2.8.1.1. Fenolik Asitler	20
2.8.1.2. Flavonoidler	21
2.8.1.2.1. Antosiyaninler.....	21
2.8.1.2.2. Flavonlar ve Flavonollar	22
2.8.1.2.3. Flavanonlar	22
2.8.1.2.4. Kateşin ve Löykoantosiyandinler	22
2.8.1.2.5. Proantosiyandinler	22
2.8.2. Bitkilerde Bulunan Diğer Polifenolik Bileşikler	22
2.8.2.1. İzoflavonlar	22
2.8.2.2. Tanenler	23
2.8.2.3. Stilbenler.....	23
2.8.2.4. Lignanlar.....	23
2.9. Enzimler.....	23
2.9.1. Asetilkolinesteraz Enzimi	24
2.9.2. Butirilkolinesteraz Enzimi	25
2.9.3. Tirozinaz Enzimi.....	26
2.9.4. Amilaz Enzimi	26
2.9.5. Glukozidaz Enzimi	27
2.10. Lamiaceae Familyası ve <i>Nepeta</i> Cinsi.....	27
2.10.1. Lamiaceae familyası hakkında genel bilgiler	27
2.10.2. <i>Nepeta</i> Cinsi Hakkında Genel Bilgiler	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1. Çalışmada Kullanılan <i>N. congesta</i> var. <i>congesta</i> . Taksonları ve Özellikleri	31
3.2. Bitkisel Ekstraktların Hazırlanması	32
3.3. Antioksidan Kapasite Tayin Testleri	33
3.3.1. Toplam Antioksidan Komponentlerin Belirlenmesi.....	33
3.3.1.1. Toplam Fenolik Madde Analizi (Folin Ciocalteu Yöntemi)	33
3.3.1.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini	33
3.3.2. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi.....	33
3.3.3. İndirgeme Gücünün Belirlenmesine Yönelik Testler	34
3.3.3.1. Bakır İndirgeme Gücü (CUPRAC testi)	34
3.3.3.2. FRAP Testi	34
3.3.4. Serbest Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	35
3.3.4.1. DPPH Radikal Süpürme Etkinliği	35
3.3.4.2. ABTS Katyon Radikal Süpürme Aktivitesi.....	35
3.3.5. Metal şelatlama aktivitesi	35
3.4. Enzim İnhibisyonuna Yönelik Testler	36

3.4.1. Anti-kolinesteraz aktivitesi	36
3.4.2. Anti-tirozinaz Aktivitesi	36
3.4.3. Anti-amilaz aktivitesi.....	36
3.4.4. Anti-glukozidaz aktivitesi.....	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	38
4.1. Antioksidan Aktivite Tayin Testleri	38
4.1.1. Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriği	38
4.1.2. Toplam Antioksidan Kapasite (Fosfomolibdat testi).....	38
4.1.3. Serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi	42
4.1.3.1. DPPH	42
4.1.3.2. ABTS	42
4.1.4. İndirgeme Gücünün Belirlenmesine Yönelik Testler	44
4.1.4.1. Bakır İndirgeme Gücü (CUPRAC testi)	44
4.1.4.2. FRAP Testi	45
4.1.5. Metal Şelatlama aktivitesi.....	45
4.2. Enzim İnhibisyonuna Yönelik Testler	47
4.2.1. Asetilkolinesteraz ve Butirikolinesteraz inhibisyon aktivitesi	47
4.2.2. Tirozinaz	49
4.2.3. α -amilaz ve α -glukozidaz.....	50
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	53
5.1. Sonuçlar	53
5.2. Öneriler	53
KAYNAKÇA	55
ÖZGEÇMİŞ	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Serbest oksijen radikalleri ve oluşumları	5
Şekil 2. Radikallerin meydana getirdiği zarar ve etkisiz hale getirilmesi	11
Şekil 3. Sentetik antioksidanlar	17
Şekil 4. Fenol halkası.....	19
Şekil 5. <i>N. congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı.....	30
Şekil 6. <i>N. Congesta</i> var. <i>congesta</i> 'ya ait fotoğraflar	32
Şekil 7. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile toplam antioksidan kapasitesi	39
Şekil 8. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın DPPH ve ABTS radikali süpürme etkinliği	43
Şekil 9. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın CUPRAC ve FRAP aktiviteleri.....	46
Şekil 10. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın Asetikolinesteraz ve Butirilkolinesteraz İnhibisyonu	48
Şekil 11. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın Tirozinaz İnhibisyonu	50
Şekil 12. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın amilaz ve glukozidaz İnhibisyonu.....	51

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Bazı önemli reaktif oksijen ve azot türleri	5
Tablo 2. Serbest radikal ve reaktiflerin kaynakları	7
Tablo 3. Endojen ve eksojen antioksidanlar	12
Tablo 4. <i>N. congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın lokalite ve taksonomik bilgileri	31
Tablo 5. <i>N. congesta</i> var <i>congesta</i> hakkında bilgiler.....	32
Tablo 6. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile toplam antioksidan kapasitesi	39
Tablo 7. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın DPPH ve ABTS radikali süpürme etkinliği	43
Tablo 8. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın CUPRAC, FRAP ve metal şelatlama aktiviteleri	45
Tablo 9. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın Asetikolinesteraz ve Butirikolinesteraz İnhibisyonu	47
Tablo 10. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın Tirozinaz İnhibisyonu	49
Tablo 11. <i>Nepeta congesta</i> var. <i>congesta</i> 'nın amilaz ve glukozidaz İnhibisyonu.....	51

KISALTMALAR

AA: Askorbik Asit
ABTS: 2, 2'-Azino-Bis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonik Asit
ACAE: Akarboz eşdeğeri
ACh: Asetilkolin
AChE: Asetilkolinesteraz
ADP: Adenozin difosfat
AlCl₃: Alüminyum klorür
ATCI: Asetiltiyokolin iyodür
ATP: Adenozin trifosfat
BChE: Bütirilkolinesteraz
BHA: Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT: Bütillenmiş Hidroksitoluen
CAT: Katalaz
CoA: Koenzim A
CUPRAC: Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
DHA: Dehidroaskorbik Asit
DM: Diabetes mellitus
DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil
DTNB: 5,5-Dithio-bis(2-nitrobenzoik) asit
EC₅₀: Ortalama Etkin Doz
EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit
FAD: Flavin adenin dinükleotit
FDA: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
FRAP: Demir(III) İyon Azaltıcı Antioksidan Parametre
G6PD: Glukoz-6-fosfat Dehidrojenaz
GAE: Gallik asit Eşdeğeri
GALAE: Galantamin eşdeğeri
GPx - GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz
GR: Glutasyon Redüktaz
GSH: Glutasyon
GSSG: Yükseltgenmiş Glutasyon
GST: Glutasyon-S-Transferaz
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
H₂SO₄: Sülfirik asit
HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein,
HOCl: Hipokloröz asit, hipoklorid
IC₅₀: Median Inhibition Concentration
KAE: Kojik asit eşdeğeri
LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler
MDA: Malondialdehit
MLT: Melatonin
Na₂CO₃: Sodyum karbonat
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NH₄AC: Amonyum asetat
NO: Nitrik Oksit
NOS: Nitrik Oksit Sentaz
O₂^{·-}: Süperoksit Radikali
OH[·]: Hidroksil Radikali

PG: Propil gallat
PNPG: 4-p-nitrofenil- α -D-glukopiranozid
PPH: Polifenolik Antioksidanlar
QE: Kuersetin eşdeğeri
RE: Rutin Eşdeğeri
RNS: Reaktif Nitrojen Türü
ROO•: Peroksi Radikali
ROOH: Hidroperoksit
ROS: Reaktif Oksijen Türü
ROT: Reaktif Oksijen Türü
SH: Sülfidril
SOD: Süperoksit Dismutaz
TAC: Toplam Antioksidan Kapasitesi
TBHQ: Tersiyer Bütil Hidrokinon
TE: Troloks Eşdeğeri
TEAC: Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite
TPTZ: Tripiridiltriazin
VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein
XO: Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

İnsan vücudunda, aerobik reaksiyonlar sırasında bir takım etmenlerin teşviki ile veya patolojik olgularda bir yan ürün olarak aktif oksijen formları oluşmaktadır. Oluşan bu yapılar; protein, lipit, karbohidrat ve DNA'da yapısal bozulmalara yol açarlar. Örneğin, hidroksil radikali, DNA ile etkileşime girerek pürin, pirimidin bazlarının hasarı ile deoksiriboz iskelette zararlar meydana getirir. Radikallerin aşırı üretilmesi oksidatif stres olarak tanımlanır ve oksidatif stres; kanser, kardiovasküler hastalıklar, gibi birçok dejeneratif ve kronik hastalığa ve yaşlanmaya sebep olur (Halliwell ve Gutteridge, 1995).

Serbest radikallerin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek için, biyolojik sistemlerde çeşitli antioksidan savunma sistemleri geliştirilmiştir (Yıldırım, 2003). Antioksidan maddeler, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya oluşan serbest radikalleri tutarak, oksidasyonun neden olduğu hasarları hücresel bazda önlemektedir ve bunun sonucunda da hastalıkların oluşumunu engellemektedir (Baublis ve ark., 2000; Sivritepe, 2000). Antioksidanların oluşturduğu bu sistemi katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler meydana getirmektedir. Normal koşullarda bu enzimler ve serbest radikal üretimi arasındaki denge sağlıklı bir yaşamın sürdürülmesi açısından çok büyük öneme sahiptir. Ancak dış faktörlerin örneğin; UV ışınlarına maruz kalma, kirlilik ve sigara gibi çevresel faktörler ile radikal üretimi bu savunma sisteminin kapasitesini aşarsa bu durumda dietle antioksidanların alımı büyük önem kazanır (Valko ve ark., 2007).

Antioksidanlar; serbest radikal gidericisi, peroksit parçalayıcısı, sinerjist ve enzimlerin inhibitörü olarak fonksiyon gösterirler. Antioksidanlar, serbest radikallerin sebep olduğu zararlı etkileri, lipoproteinlerin ve düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu engelleyerek sağlık üzerinde pozitif etki ederler. Bu nedenlerden dolayı günümüzde doğal antioksidan kaynağı olan sebze, meyve, baharat ve bitkisel çaylara olan ilgi artmıştır (Tzia ve Liadakis, 2003; Aras, 2006; Kafkas ve ark., 2006; Koca, 2007).

Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve propil gallat gibi sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen olabileceğini ortaya koyan araştırmalar vardır. Bu araştırmalar sonucunda bazı ülkelerde sentetik antioksidanların kullanımlarına ciddi sınırlamalar ve yasaklar getirilmiştir (Koşar ve ark., 2002; Öztürk ve ark. 2002; Köksal, 2007; Yağcı ve ark., 2008).

Enzimler genellikle protein yapısında olan, kimyasal tepkimelerde katalizör görevi yapan moleküllerdir. Enzimler katalizör maddeler olmaları nedeniyle hücre içerisinde meydana gelen tepkimelerin hızını ve özgülüğünü kendileri değişikliğe uğramadan düzenlerler (Voet ve Voet, 2000).

Enzimatik reaksiyonlar fizyolojik pH'da, vücut sıcaklığında ve minimum enerji ile gerçekleşir. Enzimler, hücrelerde gerçekleştirdikleri reaksiyonlarda yan ürün oluşturmazlar ve bu reaksiyonlar sonucu %100 verim elde edilir. Laboratuvar koşullarında yüksek sıcaklık ve fazla enerji ile gerçekleşen birçok tepkime, enzimlerin yardımıyla daha düşük sıcaklıkta ve enerji ile gerçekleştirilebilir. Enzimler yüksek sıcaklıklarda protein yapılarında bozulma oluşması nedeniyle etkilerini kaybederler (Voet ve Voet, 2000; Lehninger, 2005).

Enzimler ve enzim inhibitörleri; tıpta, gıda endüstrisinde, pestisitlerde, kozmetik sanayinde ve tarım sanayinde kullanılmaktadır (Friedman, 1996).

Lamiaceae familyası, ilk kez 1789 yılında De Jussieu tarafından 'Labiatae' adıyla isimlendirilmiştir. 1836 yılında ise Lindley tarafından 'Lamiaceae' olarak adlandırılmıştır (Greuter, 1988; Hedge, 1992). Lamiaceae familyası, dünyanın belli başlı büyük ve en eski familyalarından biridir. Lamiaceae ile ilgili fosil kayıtları olmamasına rağmen kökeninin Oligosen'e dayandığı söylenmektedir (Chadefaud ve Emberger, 1960; Hedge, 1986).

Lamiaceae familyasının, Boissier'in "*Flora Orientalis*" adlı eserinde 66 cins, yaklaşık 1100 kadar türü bulunmaktadır. Bu sayı tahminen Dünya' daki Lamiaceae türlerinin 1/3' ü kadardır (Hedge, 1986). Araştırmacılara göre Lamiaceae familyası; ortalama 200-250 cins ve 3200-4000 arası türden oluşmaktadır (Heywood, 1978; Hedge, 1992). Thorne ise 250 cins, 7000 türü bulunduğunu belirtmiştir (Thorne, 1992).

Lamiaceae familyası üyeleri Akdeniz Bölgesinde yaygın olan, uçucu yağ içeren, bir veya çok yıllık, otsu veya çalimsı bitkilerdir. Familya için başı sekiz hücreli pul şeklindeki salgı tüyleri karakteristiktir. Lamiaceae familyası; tıpta, eczacılıkta ve parfümeride kullanılan birçok uçucu yağı içermesi nedeniyle önemli familyalardandır (Baytop, 1996).

Nepeta, Lamiaceae familyasının en fazla takson içeren cinslerinden biridir ve Dünya'da yaklaşık 250- 300 taksonla temsil edilmektedir. Uzun ömürlü bir bitki çeşidi olan *Nepeta* cinsi bitkiler; genellikle Asya, Avrupa, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika ve Akdeniz bölgelerinde yayılış göstermektedirler (Dinesh ve ark., 2010).

Nepeta congesta Fisch. et Mey. var. *congesta* Fisch. et Mey. bitkisinde çiçekler beyaz, leylak renginde ya da mordur (Hedge ve Lamond, 1982).

Bu tez çalışmasının amacı; ülkemizde yayılış gösteren ve endemik bir tür olan *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın antioksidan özelliklerinin ve enzim inhibitör etkisinin değerlendirilmesidir. Yapılan literatür taramasına göre, bu türün antioksidan kapasitesi ve inhibitör etkisi ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanılmaması bu tezin önemini bir kat daha artırmıştır. Bu tez çalışması günümüzde başta gıda, tıp ve eczacılık alanında olmak üzere doğal yeni hammadde kaynaklarının tespitinin büyük önem taşıması nedeniyle, *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın doğal antioksidanların bir kaynağı olarak kullanılıp kullanılmayacağı ve enzim inhibitör etkisi hakkında fikir verecektir.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Serbest Radikaller

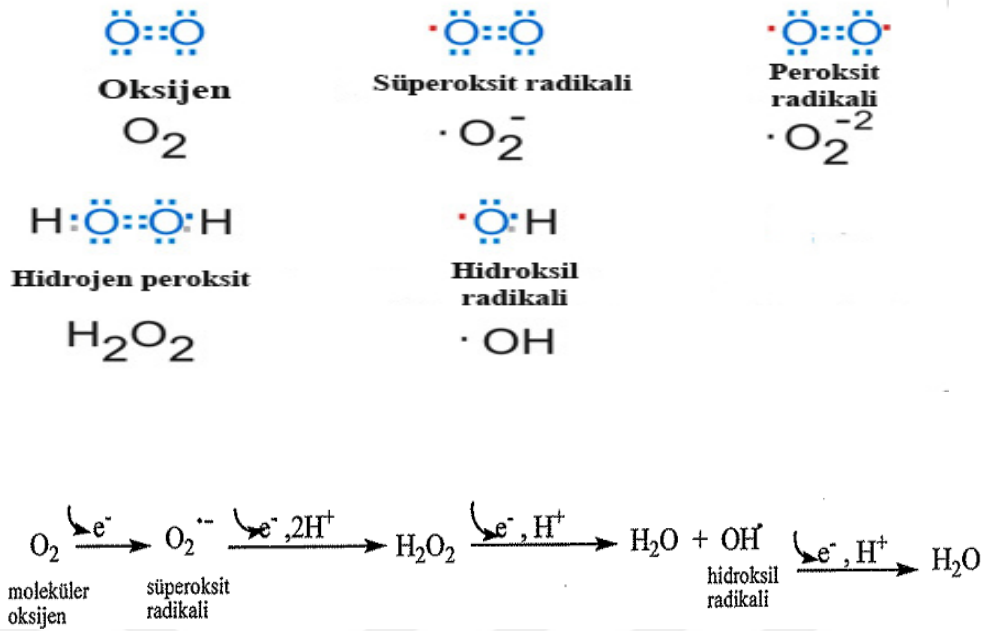
Atom veya moleküllerdeki elektronlar; çekirdeğin etrafında orbital adı verilen bölgelerde bulunur ve bu bölgelerde hareket ederler. Dış orbitallerinde ortaklanmamış tek sayıda elektronu olan atom ya da moleküler yapılara serbest radikaller adı verilir. Ortaklanmamış elektron, molekülün formülünde nokta şeklindeki bir simge ile (•) gösterilir. Serbest radikaller; kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlığına sahiptirler (Halliwell, 1984; Abdollahi ve ark., 2004). Serbest radikaller iyonların veya uyarılmış moleküllerinin ayrılmaları sonucunda oluşan, dış yörüngelerindeki elektron sayılarını diğer moleküllerle birleşerek eşleştirirler ve böylece kararlı bileşiklere dönüşmeye çalışırlar. Bu nedenden dolayı kimyasal olarak çok aktiftirler ve ortamdaki diğer biyomoleküllerle elektron alış-verişine girerek onların biyolojik yapılarını bozarlar (Fantel, 1996; Temple, 2000).

Serbest radikaller doğada çift halde bulunan elektronları birbirinden ayırır ve böylece etki ettiği atom ya da molekülün serbest radikal olmasına aracılık eder. Serbest radikaller yaşamın devamı için elzemdir. Enerji üretimi, elektron transferi gibi pek çok diğer metabolik işlevde görev alırlar. Solunum zincirinde son elektron alıcısı olan oksijenin tam indirgenememesi radikallerin esas kaynağını oluşturur (Miller ve ark., 1990). Zincir reaksiyonunun kontrolsüz davranış göstermesi sonucunda hücrelerde hasar meydana gelir. Ayrıca araştırmacılar 1950'lerde serbest radikallerin yaşlanma ve kronik hastalıklara serbest radikallerin neden olduğunu tespit etmişlerdir (Commoner ve ark., 1954; Harman, 1956).

2.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Canlı organizmalarda serbest radikallerin en büyük kaynağı reaktif oksijen türleridir (Commoner ve ark., 1954; Harman, 1956). Metabolizmadaki etkileşimler neticesinde oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri oluşabilmektedir.

Lipidler, proteinler ve nükleik asitler ile tepkimeye girerek bu maddelerin fonksiyonlarının bozulmasına ya da yok olmalarına sebep olabilirler. Bu etkileri sebebiyle bu moleküllere reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) denilmektedir. Reaktif oksijen türleri ve diğer türevlerinin reaktiviteleri çok yüksektir (Halliwell, 1996).



Şekil 1. Serbest oksijen radikalleri ve oluşumları (Singh ve ark., 2007)

Metabolik reaksiyonların normal seyrinde oksijen molekülü toplam dört tane elektron kabul edebilmektedir. Oksijene bir elektron eklenmesi ile süperoksit radikali, iki elektron eklenmesiyle hidrojen peroksit, üç tane elektron eklenmesiyle hidroksil radikali oluşur ve su oluşması için ise dört elektron eklenmesi gerekir (Wickens, 2001) (Şekil 1).

Bitkilerde ve hayvanlarda yoğun olarak oluşan serbest radikaller; reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak sınıflandırılırlar. Metabolizmada süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalinden başka reaktif oksijen türleri ile reaktif azot türleri de vardır (Gümüşttaş ve Atukeren, 2008) (Tablo 1).

Reaktif oksijen türleri (ROS)		Reaktif azot türleri (RNS)	
Süperoksit radikali	$\text{O}_2^{\cdot -}$	Nitrik oksit radikali	NO^{\cdot}
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Azot dioksit radikali	NOO^{\cdot}
Hidroksil radikali	OH^{\cdot}	Peroksinitrit radikali	ONOO^{\cdot}
Hipokloröz asit	HOCl	Nitröz asit	HNO_2
Singlet oksijen	O_2^1	Nitrozil katyonu	NO^+
Organik radikaller	$\text{RO}^{\cdot}, \text{R}^{\cdot}, \text{R-S}^{\cdot}$	Nitroksi anyonu	NO^-
Peroksil radikali	RCOO^{\cdot}	Peroksinitrit	ONOO^-
Ozon	O_3	Diazot tetraoksit	N_2O_4

Tablo 1. Bazı önemli reaktif oksijen ve azot türleri (Gümüşttaş ve Atukeren, 2008)

2.2.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Oksijen molekülüne bir elektron eklenmesiyle süperoksit radikali oluşur (Miller ve ark., 1990). Süperoksit, serbest radikal olmasına rağmen yüksek derecede reaktif değildir. Üretimi çoğunlukla hücrenin mitokondri içerisinde gerçekleşir. Memeli hücresinde mitokondriyal elektron transfer sisteminde (ETS) ATP'nin ana kaynağı olarak rol oynar ve bu nedenle de hayatın devamı için elzemdir. Moleküler oksijenin suya indirgenmesi ve enerji dönüşümü sırasında az miktarda elektron kaçakları oksijenin süperoksit serbest radikaline dönüşümüne neden olur. Bu yüzden çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde görülür (Valko ve ark., 2004; Kovacic ve ark., 2005).

2.2.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), $O_2^{\cdot-}$ 'ye bir elektron ilavesiyle veya oksijenin iki elektron alarak indirgenmesi ile oluşur. Hidrojen peroksit, biyolojik membranlara nüfuz edebilmesinden dolayı, bir serbest radikal olmamasına rağmen yine de çok önemlidir. (Sundaresan ve ark., 1995; Rhee, 1999). Hidrojen peroksit, katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler olarak adlandırılan antioksidan enzim sistemleri tarafından ortadan kaldırılır (Chae ve ark., 1999; Mates ve ark., 1999).

2.2.3. Hidroksil radikali (OH^{\cdot})

Oksijenin üç elektron alarak indirgenmesi ile hidroksil radikali oluşmaktadır. Hidroksil radikali, biyomoleküller ile daha güçlü reaksiyona girer. Bundan dolayı biyolojik sistemler üzerine diğer ROS'lardan daha fazla zararlı etkisi vardır. Hidrojen peroksit, Fe^{+2} , Cu^+ ve Mn^{+2} veya diğer geçiş elementleri (Zn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenerek hidroksil radikaline dönüştürülür. Bu reaksiyona "fenton reaksiyonu" denir (Halliwell, 1996; Lloyd ve ark., 1997; Betteridge, 2000).

2.2.4. Singlet oksijen (O_2^1)

Singlet (tekli) oksijen; oksijenin elektronlarından birisinin enerji alarak spininin zıt yönüne hareket etmesiyle veya bir orbitalden başka bir orbitale yer değiştirmesi ile oluşur. Singlet oksijen serbest radikal değildir çünkü eşlenmemiş elektron içermez. Ancak güçlü bir oksidan etkinliği vardır. Hem serbest radikal metabolizması sonucu meydana gelir hem de serbest radikal reaksiyonlarını başlatabilir. Aşırı doymamış yağ asitlerini de içeren pek çok molekülü çok hızlı bir şekilde okside edebilir (Akkuş, 1995; Stahl ve Sies, 2002).

2.2.5. Nitrik oksit radikali

Nitrik oksit (NO), inorganik bir serbest radikaldır. NO, metabolizma içerisinde birçok göreve sahiptir. Nitrik oksit radikalının kan basıncı ve immün sistem üzerine önemli etkileri vardır. NO'nun, süperoksit radikali ile tepkimesi sonucu peroksinitrit oluşur. Bu madde, nitrik okside göre daha az stabil etki gösterirken ondan daha az toksiktir. NO, bazı durumlarda antioksidan gibi davranır ve lipit peroksidasyonunu önler. Süperoksitlerle reaksiyona girerek prooksidan gibi davranır (Lala ve Chakraborty, 2001).

2.3. Serbest Radikal Oluşumu ve Kaynakları

Serbest radikaller, yüksek enerji transferi gerektiren tepkimeler sonucunda oluşturulurlar. Bu tepkimeler;

1. Moleküle tek bir elektron eklenmesiyle: ($X + e^- \rightarrow X^\cdot$)
2. Molekülden bir elektron kaybı veya molekülün kovalent bağındaki iki elektronun aynı atomda kalacak şekilde heterolitik bölünmesiyle:
($X \rightarrow X^+ + e^-$) veya ($X \cdot Y \rightarrow X^\cdot + Y^+$)
3. Molekülün kovalent bağının homolitik bölünmesiyle: ($X \cdot Y \rightarrow X^\cdot + Y^\cdot$) (Akkuş 1995).

Serbest radikallerin oluşma kaynakları, endojen ve eksojen kaynaklar olmak üzere ikiye ayrılır (Tablo 2). Endojen (iç) kaynaklar; elektron transport sistemi, bazı enzimatik reaksiyonlar, oksidasyon reaksiyonları gibi metabolik proseslerken, UV ışınları, radyasyon, ilaç yan etkileri, sigara, yanlış beslenme, kanserojen maddeler en önemli dış kaynaklardır (Aksoy, 2002).

Endojen (iç) Kaynaklar	Eksojen (dış) Kaynaklar
Mitokondriyal transport zinciri	Diyet faktörleri
Redoks reaksiyonları	Toksinler (sigara dumanı)
Fagositik ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar	Ksenobiyotikler, Pestisitler
Otooksidasyon reaksiyonları	İlaçlar (glutasyon tüketen ilaçlar, antikanser ilaçlar)
Araşidonik asit metabolizması	Zararlı ışınlar (UV, x-ray)
Enzimler (ksantin oksidaz, NADPH oksidaz vb.)	Organik solventler

Tablo 2. Serbest radikal ve reaktiflerin kaynakları (Atkins ve Carey, 1999)

2.4. Serbest Radikallerin Organizma Üzerine Etkileri

2.4.1. Serbest radikallerin fizyolojik rolleri

Canlı organizmalarda, serbest radikallerin bulunması hayatın devamı için önemlidir. ROS bağışıklık sisteminde antijenlerin yok edilmesine aracılık eder ve fagositozda çok önemlidir. ROS; hücrel haberci olarak veya redoks üzerinden hücrel sinyallerin iletimini sağlarlar. Ayrıca hücrenin biyogenez sürecinde de aktif rol alırlar (Hamptom ve ark., 1998). Kas kasılmasında reaktif oksijen türlerinin önemli etkileri vardır. ROS yapımının engellenmesi kas liflerinde kontraktıl güçte kayıplara, artırılması ise kontraktıl güçte artışlara sebep olur (Andrade ve ark., 1998; Coombes ve ark., 2001; Reid, 2001). Ayrıca toksinlerin giderilmesi ve glikojenin depolanmasında enzim aktivasyonunda önemli görev alırlar (Van Breusegem ve Dat, 2006).

Bitkilerde ise serbest radikaller; kloroplasttaki fotosentez tepkimelerinde, peroksizom ve plastitlerde, mitokondrideki krebs çemberinde NADPH oksidaz, hücre duvarı peroksidazları ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle meydana gelirler (Jenkins, 1988).

2.4.2. Serbest radikallerinin patolojik rolleri

Sağlıklı hücrelerde, reaktif oksijen türlerinin artışı apoptozise (programlanmış hücre ölümü), hücrel işlevlerde hasara ve inflamasyon oluşumuna neden olabilir. Tüm bu zararlı etkileri sebebiyle reaktif oksijen türleri; ateroskleroz, alzheimer, parkinson gibi dejeneratif hastalıkların ve romatolojik hastalıkların oluşmasına aracılık etmektedir (Golden ve ark., 2002).

Doku ve hücrelerdeki oluşturdukları hasarlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Nükleotid yapıdaki enzimlerin inaktivasyonu ve yıkımı
2. DNA tahribi
3. Lipid peroksidasyonu
4. Proteinlerin oksidatif hasara uğraması
5. Protein ve lipidlerle kovalent bağlanma
6. Zar proteinlerinin hasarı sonucu zar yapılarının ve fonksiyonlarının olumsuz etkilenmesi
7. Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerinin, savunma enzimlerinin ve transmitterlerin yıkımı
8. Kollojen ve elastin gibi proteinlerin reaksiyonlarının bozularak damarlarda yapısal değişikliklerin oluşumu

9. Transport sistemlerinin hasarı

10. Yaşlılık pigmentlerinin birikimi (Stocks ve Dormandy, 1971; Stocks ve ark., 1972; Gutteridge ve Halliwell, 1990; Collier ve ark., 1992)

2.5. Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) hem zararlı hem de yararlı etkiler gösterirler. Düşük veya orta seviyelerdeki ROS ve RNS derişimi hücrel yanıt ve immün fonksiyonların gerçekleşmesi ve hücreler arası iletişimde rol alırlar. Bu moleküllerin aşırı miktarda oluşması ile oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stres; erken yaşlanma, hücre fonksiyonlarının ve biyokimyasal moleküllerin yapılarının bozulması ile beraber birçok hastalığın oluşmasına sebep olur (Halliwell, 1997)

Oksidan molekül artışı vücutta belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından engellenmektedir. Oksidatif stres; oksidan ve antioksidan dengenin, antioksidan aleyhine bozulması olarak da tanımlanabilir. Günümüzdeki hastalıkların çoğunun oksidatif stresle bağlantılı olduğu kabul edilir. Reaktif oksijen türleri; böbrek fonksiyonlarının bozulmasına, sinirsel hastalıklara, diyabete, görme bozukluklarına ve akciğer, kalp gibi hayati öneme sahip organlarda hasarlara sebep olur (Kozluca, 1993; Cos ve ark., 2000; Desmarchelier ve ark., 2000; Katalinic ve ark., 2006).

Serbest radikallerin olumsuz etkileri yalnızca insan sağlığı ve metabolizması üzerinde gözlenmemektedir (Simone, 1992). Bu yüzden tıpta, biyolojide, toksikolojide ve gıda endüstrisinde, serbest radikallerin etkileri üzerinde yoğun bir ilgi mevcuttur. Gıda endüstrisinde üretim süreçleri sırasında karşılaşılan en önemli sorunlardan biri, lipid peroksidasyonunun serbest radikal reaksiyonlarıdır. Gıda üreticileri antioksidanlarla lipid içeren gıdaların oksidasyonunu en aza indirmeyi amaçlarlar. Bunun yanı sıra hekimler organizmadaki reaktif oksijen türleri tarafından oluşan hasarı önledikleri için antioksidanlara son derece ilgi duymaktadırlar (Aruoma, 1996; Pezzuto, 1997).

2.6. Antioksidanlar

Canlı organizmalar serbest radikallerin organizmada oluşturdukları zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan korunma sistemine sahiptirler. Canlı hücrelerde bulunan karbohidrat, protein, lipit ve nükleik asitler gibi okside olabilecek maddelerin

oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar denir. Bu olaya da antioksidan savunma sistemi adı verilir (Çavdar ve ark., 1997; Tunalıer ve ark., 2002). Antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini azaltmaları veya ortadan kaldırmaları nedeniyle dejeneratif hastalıkları ve erken yaşlanma sürecini başlatan zincirleme reaksiyonları engelleyen oldukça önemli moleküllerdir. Antioksidanlar, organizma tarafından sentezlenen ya da dışarıdan alınan maddeler olup, oksidan moleküllerin oluşmasını ve hücreye zarar vermesini engellerler. Antioksidanlar bu etkilerini serbest radikallere kolayca elektron hedefi oluşturarak gösterirler. Radikaller almak istedikleri elektronu antioksidanlardan elde ederlerse hücre içerisinde başka bir yapıya zarar vermezler (Çavdar ve ark., 1997).

İnsanlar hayatları süresince hastalıklardan korunmak ve yaşamın beraberinde getirdiği stres ve benzeri zorlukları aşmak için takviye destek almalıdır. Bu tür koruyucu maddeler içerisinde antioksidanların önemli bir yeri vardır. Genellikle polifenolik yapıda olan antioksidanlar neredeyse tüm bitki, sebze, meyve, mikroorganizma, mantar ve hayvansal dokularda bulunurlar. En önemli antioksidanlar; tokoferoller, flavonoidler, C vitamini ve karotenoidlerdir (Hudson, 1990; Shahidi, 1996).

2.6.1. Antioksidan savunma mekanizmaları

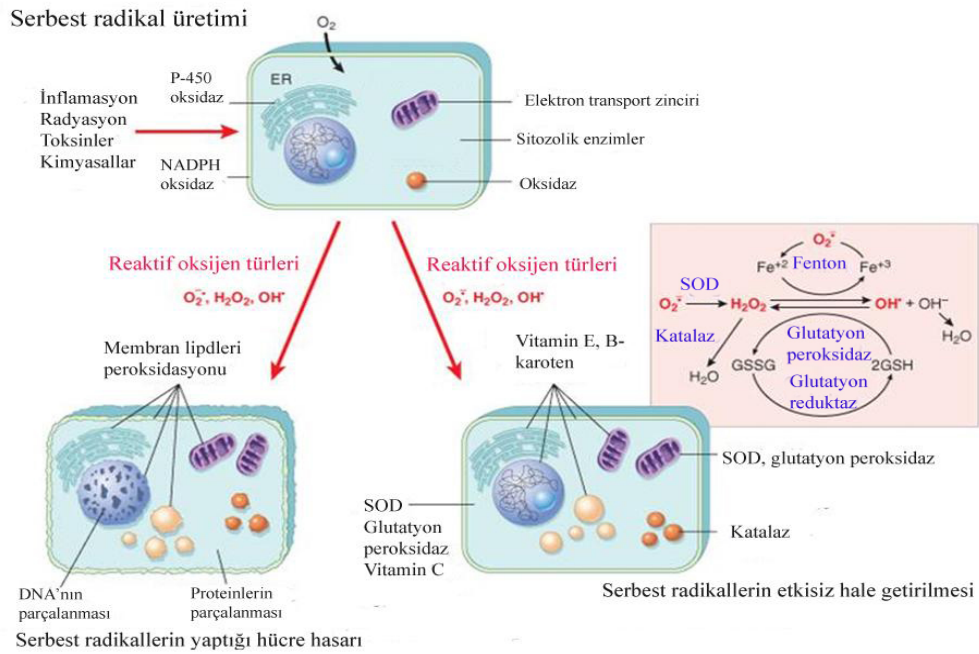
Antioksidanlar etkilerini, radikal oluşumunu sınırlandırma, ortaya çıkan radikalleri yok etme, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonları engelleme, hasarlı moleküllerin tamiri ve temizlenmesi gibi farklı mekanizmalarla etkilerini gösterirler (Akkuş, 1995).

Oksidanların hücrede oluşturdukları zararları antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile önlerler:

- 1. Toplayıcı (Scavenging) etkisi:** Antioksidanlar, oksidanları tutarak onları etkisizleştirip daha zayıf yeni moleküllere çevirirler.
- 2. Söndürme (Quencher) etkisi:** Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive olmasını sağlar. Likopen, β -karoten gibi antioksidanlar tekli oksijeni baskılayarak söndürme etkisi gösterirler.
- 3. Onarma (Repair) etkisi:** Serbest radikallerin oluşturduğu hasarları yok ederler. DNA hasarının tamiri bu şekildedir.
- 4. Zincir reaksiyonlarını kırma (Chain Breaking) etkisi:** Serbest radikalleri bağlayarak zincir reaksiyonların işlevini engellerler. Zincir koparan antioksidanlar

arasında aromatik aminler, fenoller, vitaminler ve en çok da α - tokoferoller yer alırlar. (Memişoğulları, 2005; Keleştemur ve Özdemir, 2011).

Antioksidanlar düşük konsantrasyonda bile serbest radikalleri etkisiz hale getirmekte oldukça etkilidirler (Halliwell ve Gutteridge, 1995; Huang ve ark., 2005) (Şekil 2). Antioksidan sistemlerin etkisi; enzim yapımının miktarı ve besinsel olarak alınmasına bağlıdır. Bu sebeple antioksidan etkinlik; sağlıklı beslenme, egzersiz ve yaşlanma sürecinden etkilenir (Dekkers ve ark., 1996, Fang, 2002).



Şekil 2. Radikallerin meydana getirdiği zarar ve etkisiz hale getirilmesi (Kumar ve ark., 2005)

2.7. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidan maddeler, katalitik aktivitelere, kaynaklarına, lokalizasyonlarına ve savunma mekanizmalarına göre sınıflandırılmaktadırlar. Canlı organizmada enzimler katalitik aktivitelere göre, enzim yapısında olan ve enzim yapısında olmayan (vitaminler vb.) antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar (Sivrikaya, 2007).

Katalitik Aktivitelere Göre

- Enzimatik olmayan
- Enzimatik olan

Kaynaklarına Göre

- Doğal
- Sentetik

Lokalizasyonlarına Göre

- Suda çözünenler (C Vitamini, Glutasyon, Sistein, Ürik asit, Glukoz)
- Yağda çözünenler (β -karoten, E Vitamini, Flavonoidler, Bilirubin)

Savunma Mekanizmalarına Göre

- Birincil
- İkincil

Eksojen Antioksidanlar	Endojen Antioksidanlar
<ul style="list-style-type: none"> -Trolox-c - Folik asit - Anestezikler - Mannitol - Barbituratlar - Demir selatörleri -BHT(Butillenmiş Hidroksi Toluen) - BHA (butillenmiş hidroksi anizol) - TBHQ (tersiyer bütillhidrokinon) -Propil gallat (PG) 	<ul style="list-style-type: none"> -Enzimler; Superoksitdismutaz (SOD) Katalaz (CAT) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) Glutasyon-S-Transferazlar (GST) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi Hidroperoksidaz. -Enzim olmayanlar; E vitamini (tokoferol) vitamin C (askorbik asit) vitamin A (retinol) Melatonin Seruloplazmin Transferrin Miyogloblin Hemogloblin Ferritin Bilirubin Glutasyon Sistein Metiyonin Urat Lakto ferrin Albumin Polifenoller

Tablo 3. Endojen ve eksojen antioksidanlar (Gülçin, 2002)

2.7.1. Endojen doğal antioksidanlar

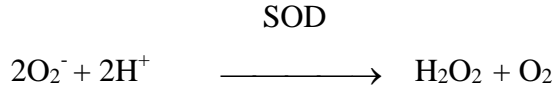
Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak farklı 2 grupta incelenirler (Pham-Huy ve ark., 2008) (Tablo 3).

2.7.1.1. Enzim olan antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar; enzimatik savunma hattını oluşturan antioksidanlardır. Bu antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz, glutasyon transferaz, katalaz (CAT) ve sitokrom oksidazlardır. Bunlar aynı zamanda birincil antioksidanlardır (Sen ve Chakraborty, 2011).

2.7.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

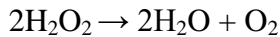
SOD (EC.1.15.1.1), diğer enzimatik antioksidanlardan farklı olarak süperoksit radikallerinden korunmada temel mekanizma olup oksidatif strese karşı savunmanın birinci basamağında bulunur. Bu enzim hücre içinde süperoksit anyonunu belirli bir seviyenin altında tutar ve bu anyonun, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevrildiği tepkimeyi katalizler (Habtemariam, 2007).



Süperoksit dismutazların; yapılarında bulunan metallere, aminoasit dizilişlerine, sahip oldukları alt ünitelere, kofaktörlere ve diğer faktörlere göre çeşitli izoformları vardır. İnsanlarda üç izoenzimi (izozim) bulunur. Bakır-çinko içeren SOD sitozolde (bitkilerde kloroplastta), ekstraselüler SOD (ekstrasellüler dokuda) ve mangan içeren SOD mitokondride görev yapar. Ayrıca bitkilerde demir içeren SOD kloroplast stromasında görev yapar. Hemen hemen bütün aerobik organizmalarda bulunan SOD enzimi; oksijen kullanımı fazla olan dokularda daha aktifken, oksijen kullanımı az olan dokularda daha az aktiviteye sahiptir (McCord, 2000; Powers ve Lennon, 2000; Landis ve Tower, 2005).

2.7.1.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz (EC.1.11.1.6) hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dönüşmesi reaksiyonunu katalizler:



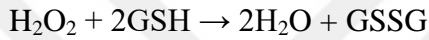
Katalaz, hücre içinde büyük ölçüde peroksizomlar içinde ve daha az olarak da mitokondri, endoplazmik retikulum ve sitozolde bulunur. (Akkuş, 1995; McCord, 2000). Katalaz özellikle karaciğer, böbrek ve eritrosit hücreleri tarafından sentezlenir (Goyal ve Başak, 2010).

Katalaz, dört protein alt birimden meydana gelen ve bu alt birimlerde bir hem grubu ve bir NADPH molekülü içeren bir hemotetramerik özellikte kompleks bir enzimdir. Katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı korur ve hidrojen peroksidi (H_2O_2) oksijen ve suya parçalayarak hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) oluşumunu engellerler (Altınışık, 2008).

2.7.1.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), transferaz ve redüktaz

Hücrelerin sitoplazmasında bulunan glutasyon peroksidaz (GSH-Px), oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Glutasyon peroksidazın temel olarak iki formu bulunmaktadır. Bunlardan biri selenyum bağımlı (GPx, EC.1.11.1.19) iken diğeri selenyum bağımsızdır (Glutasyon-S transferaz, GST, EC.2.5.1.18). Bu iki enzim sahip oldukları alt ünitelere, aktif bölgelerine, selenyum olup olmadığı ve katalitik aktivitelerine göre farklılık gösterirler (Mates ve ark., 1999). Hidrojen peroksitin ve organik hidroperoksitlerin detoksifikasyonunda görev alırlar. Glutasyon peroksidaz, dört protein alt biriminden oluşan ve her bir alt biriminde bir selenyum atomu içeren bir enzimdir. Elektron kaynağı olarak indirgenmiş glutatyona ihtiyaç duyar. Glutasyon bu reaksiyonlar sonrasında okside olur ve glutasyon disülfid oluşur.

Peroksitten su oluşumunu sağlayan reaksiyonu katalize eder:



H_2O_2 ' in düşük konsantrasyonlarında katalaz, yüksek konsantrasyonlarında glutasyon peroksidaz daha aktiftir.

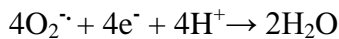
Glutasyon redüktaz; glutasyon peroksidaz katalizasyonu sonucu meydana gelen okside glutasyonun rejenere edilmesi reaksiyonunu katalizleyen bir flavoproteindir. Serbest radikal hasarını önlemek için gerekli bir enzimdir (McCord, 2000; Özkan ve ark., 2007).



Glutasyon transferaz, glutasyonun tiyol grupları ile alkilasyon ajanlarının reaksiyonunu katalizleyerek araşidonik ve linoleik asit hidroperoksitleri başta olmak üzere lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda görev alır (Cervello ve ark., 1992; McCord, 2000).

2.7.1.1.4. Sitokrom oksidaz

Mitokondride elektron taşıma zincirinin son basamağında bulunur. Süperoksit anyonunun suya dönüştürüldüğü reaksiyonu katalizler ve süperoksidi detoksifiye eder:



Bu reaksiyon metabolik şartlarda devamlı meydana gelen normal bir tepkimedir. Bunun sonucunda yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve yüksek miktarlarda ATP üretilir. Fakat genellikle süperoksit oluşumu mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin aktivitesini aşar ve böyle durumlarda antioksidan etkili diğer enzimler süperoksitin hasar verici etkisini önlerler (Altınışık, 2008).

2.7.1.1.5. Ksantin oksidaz

Ksantin oksidaz (XO) enzimi süperoksit radikalının en önemli kaynaklarından biridir. Bütün çekirdekli hücreler içerisinde bulunan metaloflavoproteinlerden biridir. Pürin nükleotidinin metabolizması sırasında hız kısıtlayıcı enzim olarak hipoksantin ve ksantin ürik asite çevrildiği reaksiyonu katalizler (Krenitsky ve ark., 1986).

2.7.1.2. Enzim olmayan antioksidanlar

Enzim yapısında olmayan doğal antioksidanlar, hemen hemen tüm bitki ve hayvan dokularında bulunurlar. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar; vitaminlerden; E vitamini (tokoferol), A vitamini (retinol), C vitamini (askorbik asit), flavonoidler, tioller (glutatyon), melatonin, ubikinon, ve ürik asittir. Bilirubin, ferritin, demir, albumin, çinko, bakır, seruloplazmin, selenyum, manganez de indirek antioksidan özellik göstermektedirler (Mc Call ve Frei, 1999).

2.7.1.2.1. E vitamini (Tokoferol)

Tokoferol yağda çözünen en güçlü antioksidandır. Bitkilerin tüm kısımlarında bulunan tokoferoller sadece bitkiler tarafından sentezlenir. Tokoferoller, sekiz stereoisomeri olan asimetrik bileşiklerdir. Bu asimetrik formlar α , β , γ , δ tokoferol ve α , β , γ , δ tokotrienol olarak adlandırılırlar. İnsanlarda en aktif formu α -tokoferoldür ve α -tokoferol hücre membranını serbest radikallerin hasarlarından korur, peroksidlerin oluşumunu engeller. Tokoferoller, hücrelerde bol miktarda bulunur ve serbest radikallerin yok edilmesi, peroksidasyon zincirinin kırılması, bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamını kullanır. Bu sayede de lipid peroksidasyonunun durdurulmasında görev alır. Tokoferoller peroksidasyon zincirini kırma işlevini çoklu doymamış yağ asitlerinden lipid hidroperoksidlerin oluşumunu önleyerek yaparlar. HDL, VLDL ve LDL yapısında bulunurlar ve LDL oksidasyonunu önlerler (Evans, 2000; Aydın ve ark., 2001; Muntenau ve ark., 2004).

Tokoferoller; kolon, prostat ve göğüs kanserlerinde, bazı kardiyovasküler hastalıklarda, iskemi, katarakt, artrit ve nörolojik bozukluklarda koruyucu etki gösterir (Aydın ve ark., 2001).

2.7.1.2.2. C vitamini (Askorbik asit)

Askorbik asit, ekstraselüler sıvıların en önemli antioksidanıdır. Suda çözünür. Sıvılarda hidroksit, süperoksit, yağ asidi peroksi radikalleri ve alkoksi radikallerini nötralize ederler. Tokoferol ve glutatyonun rejenerasyonunu sağlarlar (Carr ve Frei,

1999). Birçok canlıda C vitamini; glukozdan ve diğer basit öncülerden sentezlenebilir. Mikroorganizmalarda yoktur, insan ve diğer omurgalılar için ise esansiyeldir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004). Sulu fazlarda enzimatik olan ve non-enzimatik reaksiyonların birçoğunda elektron verebilmeleri sebebiyle temel ROS temizleyicisi olarak işlev görür. Askorbat halinde; bitki yaprak ve kloroplastların özellikle stromalarında redükte formda yoğun olarak bulunurlar (Lamb ve Dixon, 1997).

2.7.1.2.3. Retinoid ve Karotenoidler

Retinoitler, lipidlerin ve özellikle de hücre membranının yapısında bulunan önemli antioksidanlardandır. Retinoid ve karotenoidlerin; flavin ve porfirinlerin istenmeyen etkilerini engelleme, tekli oksijeni baskılama ve H₂O₂ radikallerinin oluşumunu önleme gibi işlevleri vardır (Fang, 2002).

2.7.1.2.4. Glutasyon (GSH)

Hem iç hem de dış antioksidanlardan olan glutasyon, glutasyon peroksidazın katalize ettiği reaksiyonla serbest radikallere karşı hücreyi korur. Direkt antioksidan etkileri de bulunmaktadır. Tokoferollerin ve askorbik asidin antioksidan verimini yükseltirler (Fang, 2002).

Glutasyon; bitki hücrelerinde sitosol, ER, mitokondri ve vakuollerinde başta olmak üzere tüm hücrelerinde yaygın olarak bulunurlar (Lamb ve Dixon, 1997). Glutasyon; karaciğerde sentezlenen bir tripeptittir. Hemoglobinin oksitlenmesiyle oluşan methemoglobine dönüşümüne engel olur. Glutasyon; eritrosit, lökosit ve göz lensini oksidatif strese karşı korur (Dawn ve ark., 1996).

2.7.1.2.5. Melatonin (MLT)

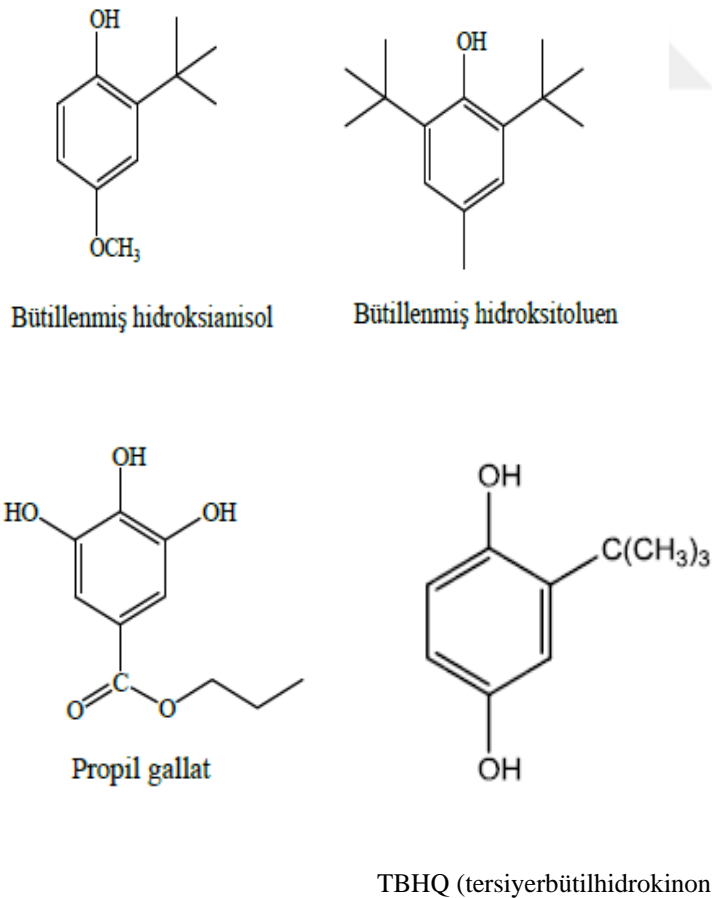
Bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak varsayılan melatonin, hidroksil radikalini ortadan kaldırır. Melatonin lipofiliktir, bundan dolayı hücrenin birçok organeline ve hücre çekirdeğine rahatlıkla ulaşabilir, böylece birçok organda antioksidan aktivite gösterir. Yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıklarda melatonin üretiminin azalmasının önemli rolü vardır (Dawn ve ark., 1996).

2.7.2. Sentetik antioksidanlar

Makromoleküller içerisinde doymamış yağ asitlerini içeren lipitler, serbest radikallere karşı en hassas olan molekül grubudur (Siems ve ark., 1995). Lipid peroksidasyonun son ürünü malondialdehittir (MDA). MDA memeli hücrelerinde mutajenik ve karsinojenik etki göstermektedir (Cadenas, 1997).

Antioksidan maddeler aşırı doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu engelledikleri için yağlı gıdaların raf ömrünün uzatılmasında kullanılmaktadır. Bu etkilerinden dolayı gıdaların işlenmesi sırasında kullanılan birçok sentetik antioksidan üretilmiştir. Gıdalarda doğal olarak bulunabildikleri gibi gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini artırmak ve besinsel değerini korumak için sonradan da eklenebilirler. Yapay antioksidanlar; besinlerin bozulmasını geciktirici özelliğe sahip kimyasal maddelerdir. Özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu oksidasyonu yavaşlatmak için kullanılırlar. Böylece yağların; tadını, kokusunu, rengini, kalitesini artırır ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda düşük konsantrasyonlarda bulunmaları halinde bile etkindirler (Keskin ve Erkmen, 1987).

Günümüzde gıda ve ilaç sanayisinde antioksidan maddelerin kullanımı oldukça yaygındır ve tükettiğimiz ürünlerin çoğunda sentetik antioksidan maddeler bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri bütillendirilmiş hidroksi toluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksi anisol (BHA), propil gallat (PG) ve tersiyer bütillhidrokinon (TBHQ)'dur (Hudson, 1990; Fki ve ark., 2005) (Şekil 3).



Şekil 3. Sentetik antioksidanlar

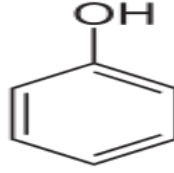
Sentetik antioksidanlar besinlerin daha uzun süre saklanmasını sağlar ancak yapılan birçok çalışma kullanımlarını şüpheli hale getirmektedir. Örneğin, bu antioksidanların karsinojenik ve mutajenik olmak üzere sağlık üzerine olumsuz etkileri rapor edilmiştir (Ito ve ark., 1986). Bu maddeler, canlı organizmalarda kanserojen etkiler göstermelerinin yanında karaciğerde büyümeye ve mikrozomal enzim aktivitelerinde artışa sebep olabilmektedir (Ebrahimabadi ve ark., 2010).

Sentetik antioksidanların çeşitli yan etkilere sebep olduklarının anlaşılmasının ardından kullanımı birçok ülkede kısıtlanmıştır (Gülçin ve ark., 2005). Bu nedenle sentetik antioksidanların yerine daha güvenli doğal antioksidanların kullanımı ve kaynaklarının belirlenmesi son zamanların en ilgi çekici konuları arasındadır (Vichi ve ark., 2001). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda meyve-sebze tüketiminin artmasıyla birçok kronik hastalık riskinin azaldığı gösterilmiştir. Hastalıkları önlemek tedavi etmekten çok daha önemli olduğu için, gıdalardaki ve bitkilerdeki antioksidanlar oldukça önemlidir. İnsan sağlığı üzerindeki olumlu rolleri nedeniyle bitkilerdeki antioksidan bileşenler ve fitokimyasallar bilim adamları, gıda üreticileri ve tüketiciler açısından önemli bir yere sahiptir (Moure ve ark., 2001).

Doğal antioksidanların en önemli grubunu bitkisel fenolik bileşikler oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucu fenolik bileşikler açısından zengin bitkilerin serbest radikallerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında oldukça etkili olduğunu belirtmiştir (Vichi ve ark., 2001).

2.8. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkisel besinlerin lezzetine genellikle buruk bir tat bırakarak etki eden ve rengini değiştiren önemli bir madde grubudur. Meyve ve sebzelerde genellikle çok az miktarlarda bulunurlar. Fenolik bileşikler yapısal olarak aromatik halkalarında bir veya birden fazla hidroksil (-OH) grubu bulunduran maddelerdir (Shahidi ve Nacz, 1995). Bu bakımdan en basit fenolik madde bir tane hidroksil grubu bulunduran fenoldür (Şekil 4) ve diğer fenolik bileşikler fenolden türemiştir. Birden fazla hidroksil grubu içeren fenolik maddelere polifenoller adı verilir (Cemeroğlu ve Acar, 1986; Evrenesoğlu, 2002).



Şekil 4. Fenol halkası

Fenolik maddeler insanlar için esansiyel olmayan bileşikler olmaları ile birlikte insan sağlığı üzerine çok sayıda olumlu etkileri bilinmektedir. Yapılan birçok araştırmada flavonoidlerin antiinflamatuvar, antiallerjik, antimikrobial, hepatoprotektif, antiviral, antimutajenik ve antikarsinojenik özellikleri bulunmuştur. Fenolik maddeler genellikle saf halde kristal yapılı ve renksizdir. Hava ve ışıktan etkilendiğinde kırmızı renklidirler. Fenoller; dezenfektan, katalizör, çözücü, bitki koruyucu olarak ve biyolojik örneklerden DNA'yı saflaştırmak için kullanılır. Fenolik bileşikler, keskin kokuda etkili maddelerdir. Fenoller 41 °C'de erir ve nem çekici özelliklerinden dolayı kısmen sıvı halde bulunurlar. Basit fenoller suda kolayca çözünürken, alkil fenoller güç çözünürler (Çalık, 2004).

Polifenoller; fonksiyonel bileşikler olup, indirgeme aracı, tekli oksijen söndürücü, hidrojen atom-donörü antioksidanlar ayrıca bazıları metal iyonlarını şelatlama özelliklerine sahip antioksidanlardır. Polifenollerin iki özelliği antioksidan olarak tanımlanmalarını sağlar. Bu özelliklerden ilki, düşük konsantrasyonda bile oksidasyonu yavaşlatabilme, geciktirme, veya engelleme yeteneğine sahip olmaları, ikinci özellik ise serbest radikale dönüştüğünde stabil formda kalabilmeleridir (Miller ve Paganga, 1996; Scalbert ve ark., 2005).

Günümüzde yaklaşık 5000 civarı fenolik bileşik tanımlanmış olup bunlardan 2000'den fazlası doğal flavonoidlerdir. Genellikle bitkinin yaprak, çiçek, meyve gibi canlı dokularda glikozit halde, odunsu dokularda aglikon şeklinde, çekirdekte ise hem glikozit hem de aglikon şeklinde bulunurlar (Shahidi ve Nacz, 1995).

Fenolik bileşikler; bitkiler aleminde hemen hemen her meyve ve sebze bir miktar bulunurlar. Meyvelerde ise sebzelerden daha çok bulunurlar. Bitkilerin büyüme, üreme ve patojenlere karşı korunmasında oldukça etkilidirler. Fenolik bileşikler gıdaların besinsel değeri ve duyu kaliteleri üzerinde etkilidir. Gıdalarda, düşük konsantrasyonda buldukları zaman bile gıdaları oksidatif bozulmalara karşı korurlar, yüksek konsantrasyonda ise çökelti oluşturarak ürünlerin rengini bozarlar (Shahidi, 2004).

Ağır metal tuzları ile reaksiyona girerek, özellikle ortam pH=4'ün üzerinde olduğunda; mavi-griden, mavi-siyaha kadar değişen tonda renk verirler ve metalik tatlara sebep olurlar. Enzimatik esmerleşme olaylarında da oldukça etkilidirler (Ekşi, 1988; Schobinger, 1988).

Bitkilerde, fotosentezle oluşan karbonun yaklaşık %2'si fenolik bileşiklere dönüşür. Bu dönüşümün aromatik amino asit metabolizması sırasında gerçekleştiği bilinmektedir (Van Buren, 1970). Bu yüzden fenolik maddeler sekonder bitki metaboliti sayılmaktadır (Markham, 1982; Spanos ve Wrolstad, 1992).

Meyveler, içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri sebebiyle multifonksiyonel gıdalar olarak değerlendirilirler (Pehlivan ve Güteryüz, 2004).

Ayrıca fenolik bileşiklere, beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkisi sebebiyle "biyoflavonoid" adı da verilmiştir. Bazı araştırmacılar ise "P faktörü" (permeabilite faktörü) veya "P vitamini" olarak adlandırmışlardır (Saldamlı, 2007; Cemeroğlu, 2004).

Gıda bileşeni olarak fenolikler; enzimleri inhibe etmeleri sebebiyle ve farklı gıdalarda kalite kontrol kriteri oldukları için önemlidir (Anonim, 2006; Saldamlı, 2007).

Fenolikler; meyve sebzelerdeki enzimatik esmerleşme olayına substrat olarak katılmalarından (Bruchmann, 1976; Eskin ve ark., 1976), metal iyonları ile tepkimeye girerek renk değişmesine yol açmalarından (Herrmann, 1976), gıdalardaki buruk tat algılamasının kaynağı olmalarından (Lea, 1984), polimerizasyon veya proteinlerle tepkimeye girerek tortu oluşturmalarından (Van Buren ve ark., 1976, Oh ve Hoff, 1987) dolayı kalite açısından oldukça önemlidirler.

Bitkilerde bulunan fenolik maddeler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Fenolik asitler, hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler olmak üzere iki kısımda incelenirler. Flavonoidler ise antosiyanin, flavonol, flavanon, proantosiyanidinler ve kateşinler (löykoantosiyanidinler) olarak beş alt grupta incelenirler (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

2.8.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

2.8.1.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler; özellikle son yıllarda koroner kalp hastalıkları ve kanser gibi hastalıklara karşı koruyucu etkilerinin tespit edilmesiyle yaygın olarak kullanılan oldukça önemli bileşiklerdir. Fenolik asitler; hidroksi benzoik ve hidroksisinamik asitler olarak iki grupta toplanırlar. C₆-C₁ fenilmetan yapıda olan, hidroksibenzoik asitler,

bitkilerde genellikle eser miktarlarda bulunur. Hidroksibenzoik asitlerin en yaygın bulunanları gallik asit, salisilik asit, *m*-hidroksibenzoik asit, vanilik asit ve şiringik asitlerdir. C₆-C₃ fenilpropan yapısında olan hidroksisinamik asitler, fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun lokalizasyonu ve yapısına göre farklılık gösterir. Flavonoidlerin öncüsü olan hidroksisinamik asitlerin en çok bulunanları; ferulik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit, *o*-kumarik asit ve sinapik asitlerdir. Hidroksisinamik asitler; erik, elma, armut ve üzüm gibi meyveler ve bitkilerde çok bulunurlar. Bitkilerdeki büyük bir kısmı şekerler ve organik asitlerle esterleşmiş olarak bulunurlar (Cemeroğlu, 2004).

2.8.1.2. Flavonoidler

Flavonoidlerin karbon iskeleti, difenilpropan (C₆-C₃-C₆) yapısındadır. Bu yapı iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşur ve 15 karbon atomu içerir. Flavonoidlerin yapısındaki hidroksil grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolayca glikozitlenir. Flavonoidler; gıdalarda en yoğun bulunan polifenollerdir ve günümüzde 6500 civarı farklı flavonoid türü bulunmaktadır (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999; Saldamlı, 2007).

Flavonoidler yapısal olarak beş gruba ayrılırlar;

1. Antosiyaninler
2. Flavanonlar
3. Flavonlar ve flavonollar
4. Proantosiyanidinler
5. Kateşinler ve löykoantosiyanidinler

2.8.1.2.1. Antosiyaninler

Şekerlerle glikozit yapmış olarak bulunan antosiyaninler, doğada serbest halde bulunmazlar. Antosiyaninler, meyve ve sebzelere pembe, kırmızı ve mavi tonlardaki çeşitli renkleri veren suda eriyebilen pigmentlerdir (Cemeroğlu, 2004). Aglikonları antosiyanidinlerdir. Antosiyaninler, bağlanan şeker ve bağlanma lokalizasyonlarına göre isimlendirilirler. Antosiyaninler kendi içlerinde pelargonidin (turuncu), paenodin (açık kırmızı), siyanidin (kırmızı), delfinidin (koyu mavi), petunidin (mavi-mor), ve malvidin (mor) olarak farklı renkteki formlarda bulunurlar (Shahidi ve Nacz, 1995; Türk, 2009).

Antosiyaninler; antosiyanidin yapıda aglikon, genelde ramnoz, ksiloz, galaktoz ve arabinoz yapıda şeker, fenolik ve organik asitlerden oluşur. Buna ilaveten kafeik ve

ferrulik asit gibi asitlerle açılabilirler. Açılmemiş antosiyaninler, açılmış olanlara göre daha az stabildir (Cemeroğlu, 2004; Kurilich ve ark., 2005).

2.8.1.2.2. Flavonlar ve Flavonollar

Flavonoidlerin en yaygın olarak bulunan sınıfı flavonollardır. Orta halkada 3. karbon atomuna flavonlarda hidrojen, flavonollarda ise hidroksil grubu bağlı haldedir. Antosiyanidinler gibi bunlar da şekerlerle glikozitler halinde bulunurlar (Saldamlı, 2007). En önemli flavonollar; kuersetin, glikozitlenmiş kuersetin (rutin), kamferol, mirisetin, izoramnetindir. Bitkilerin temel fenolik bileşeni olan kuersetin; elma, soğan, çay ve lahanada bol miktarda bulunmaktadır (Rice-Evans ve ark., 1996; Heim ve ark., 2002).

2.8.1.2.3. Flavanonlar

Flavonlardan farklı olarak flavanonlarda orta halkalarında çift bağ bulunmaz. Turunçgillerde yaygın bulunan bu glikozitler bitkilerdeki acımsı buruk tattan sorumludurlar (Cemeroğlu, 2004). En önemli flavanonlar naringin, hesperidin ve naringeninidir. Hesperidin portakal ve limonda, naringin ise greyturta bol bulunur. Dihidrokalon yapısında bulunan floretin ve floridzin; elma ve armutta oldukça fazla bulunur (Saldamlı, 2007).

2.8.1.2.4. Kateşin ve Löykoantosiyanidinler

Üçüncü karbon atomunda bir hidroksil kökü içeren kateşinlerin kimyasal yapıları, 'flavon-3-ol' dür. Kateşinler gıdalarda yaygın olarak bulunan serbest haldeki, renksiz flavonoidlerdir. Kimyasal ve enzimatik olarak havadaki oksijenle kolayca reaksiyona girerek proantosiyanidinleri meydana getirirler (Saldamlı, 2007).

2.8.1.2.5. Proantosiyanidinler

Kateşin ya da löykoantosiyanidinden oluşan polimerik yapılara proantosiyanidin denir. Proantosiyanidinler, sadece epikateşin/kateşin bileşimiyle oluşuyorsa prosiyanidin, kateşin/gallokateşin bileşimiyle oluşuyorsa prodelfinidin denir. Bitkisel gıdalarda çok bulunan proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kondensasyonlarından oluşan dimerlerdir (Shahidi ve Nacz, 1995; Saldamlı, 2007).

2.8.2. Bitkilerde bulunan diğer polifenolik bileşikler

2.8.2.1. İzoflavonlar

Flavonların izomeri olan izoflavonlar yaygın olarak soya fasulyesi ve soya ürünleri içerisinde bulunur ve fitoöstrojenik etkiye sahiptirler. Fitoöstrojenik izoflavonlar; glisitein, daidzein ve genisteindir. Vücudumuzda genistein, beta östrojen

reseptörüyle (ER β) etkileşime girer ve östrojenin gücünün üçte biri kadar etki gösterir. Genistein; ovaryum, meme, prostat, endometrium, vasküler ve kemik dokularında östrojen benzeri etki oluşturur (Wilson ve Temple, 2001; Cornwell ve ark., 2004). İzoflavonlar çeşitli kurubaklagillerde de bulunur ancak ana kaynağı soya fasulyesidir (Cornwell ve ark., 2004)

2.8.2.2. Tanenler

Yüzyıllardan beri bilinen ham deriyi tabaklama (“*tanning*=tabaklama”) özelliklerinden adını alır. Tanenler üzerinde; gıda, eczacılık ve sağlık alanında birçok çalışma yapılmıştır. Tanenler; fenolik polimerler, bazılarında ise tannik asit olarak bilinir. Tanenler; genellikle sumak, kestane gibi yüksek yapılı bitkilerde bulunurlar. Kimyasal yapıları birbirinden oldukça farklılık gösterir. Suda çözünen tanenler yüksek molekül ağırlıklı fenolik polimerlerdir. Bitkide birçok kısmında bulunan fenolik bileşiklerdir. Koyu renkli gevşek yapılı, buruk tatta bileşiklerdir (Chung ve ark., 1998; Khanbabaee ve Ree, 2001).

2.8.2.3. Stilbenler

Stilbenler ana kaynağı yer fıstığı ve üzüm olan fitoöstrojenik polimerlerdir. Resveratrol üzümün sadece kabuğunda bulunan stilbendir. Resveratrol; yüksek biyoyararlılığa, faydalı farmakolojik ve fizyolojik etkiye sahiptir. Stilbenler antioksidan olmaları yanı sıra HDL seviyesini artırır, kalbi korur, nitrik asit üretimini artırır ve pıhtılaşmayı önler (Wilson ve Temple, 2001).

2.8.2.4. Lignanlar

Fitolignanlar; bazı meyve ve sebzelerde, keten tohumu, tam buğday tanesi içerisinde ve çay yapraklarında yüksek miktarda bulunurlar (Golberg, 2001; Magee ve Rowland, 2004).

2.9. Enzimler

Genel anlamda enzimler protein veya proteid yapısındaki biyomoleküllerdir. Enzimlerde protein yapıyı oluşturan amino asitlerin dizilişi, sayısı ve sırası belirli bir düzen içinde bulunur. Bu yapı enzimin substrata özgülüğünü sağlar (Yıldırımoglu, 2009). Enzimlerin bir kısmı sadece protein yapıdan oluşurken bazıları ise protein yapıdan farklı bir takım maddeler de ihtiva eder. Bu maddeler “koenzim” ya da “kofaktör” adını alır. Kofaktör bir metal iyonu olabildiği gibi (Mg⁺², Fe⁺², Fe⁺³, Zn⁺² v.b.), koenzim ise organik bir madde (NAD⁺, FAD, TPP, CoA v.b.) olabilir. Koenzim veya kofaktör enzime kovalent bağla bağlıysa “prostetik grup” adını alır (Fennema,

1985; Yıldırımöğlu, 2009). Enzimlere etki eden maddelere “substrat” denir. Enzim üzerinde substratların bağlanıp bir kimyasal reaksiyona girdiği yere “aktif bölge” denir (Yıldırımöğlu, 2009). Substrat ve eğer varsa koenzim, aktif bölgeye hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, iyonik bağlar veya kovalent bağlar ile bağlanır. Hücredeki reaksiyonlarda yan ürün oluşturmazlar, reaksiyonlar % 100 verimle sonuçlanır. Enzimler ve enzim inhibitörleri tıpta, gıda endüstrisinde, pestisitlerde, kozmetik sanayinde ve tarım sanayinde kullanılmaktadır (Friedman, 1996).

2.9.1. Asetilkolinesteraz enzimi

Asetilkolinesteraz enzimi, nörotransmitter asetilkolini hidrolizleyen, dokularda serbest veya fosfolipidlerle bileşik halde lipotrofik etkiye sahip spesifik olmayan bir enzimdir. Hidroliz edilen bu asetilkolin biyolojik öneme sahip bir esterdir. Eritrositler, dalak, karaciğer, sinir uçları ve beynin gri cevherinde bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda sarkoplazmik retikulum, kemik iliği ve plasentada da mevcuttur (Wilson ve Nachmansohn, 1954). Bu enzim sinir gazları (diizopropil floro fosfat) ve pestisitler gibi organofosfor bileşikler tarafından inhibisyon için birincil hedefdir (Aras ve Erşen, 1988).

Beyindeki nörotransmitter ACh’ın sinapstaki varlığı AChE enziminin etkinliğine bağlıdır. Üretilen asetilkolin, sinaps öncesindeki nöronlarda bulunan veziküller içerisinde depolanır ve bu veziküller, nörona sinir uyarısı geldiğinde içeriğini sinaptik aralığa salar (Guyton ve Hall, 2000). Sinaptik aralığa salınan asetilkolin moleküllerinin birçoğu postsinaptik membran üzerindeki reseptörlerle bağlanır. Reseptörlere bağlanamayan asetilkolin molekülleri de asetilkolinesteraz tarafından hidroliz edilir. Postsinaptik nörona bağlanan asetilkolin molekülleri, sinir uyarısının diğer nörona iletilmesinin ardından bağlı olduğu reseptörlerden ayrılır ve asetilkolinesteraz tarafından hidroliz edilir. Asetilkolin yıkımıyla ortaya çıkan kolin tekrardan kullanılmak üzere presinaptik nörona gönderilir. Memelilerde 2 tip kolinesteraz bulunur. İlki seçici olarak asetilkolini hidroliz eden asetilkolinesteraz, diğerisi ise asetilkolin ve diğer kolin esterlerini hidroliz edebilen BuChE’dir (Temel, 2008).

Asetilkolinesteraz enzimi oldukça yüksek bir aktiviteye sahiptir, her bir molekül saniyede yaklaşık olarak 25000 ACh parçalar. Enzimin aktif bölgesi anyonik alt birim ve katyonik alt birim olmak üzere iki alt birimden oluşur (Sussman ve ark., 1991).

AChE inhibitörleri; geri dönüşümlü, yarı geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak etki ederler (Pohanka, 2012). Yarışmalı ve yarışmasız geri dönüşümlü asetilkolinesteraz inhibitörleri çoğunlukla tedavi amaçlı kullanılır. Tıbbi amaçlı olarak,

myasthenia gravis ile, glaucoma tedavisinde, antikolinergik zehirlenmeye karşı antidot olarak, non-depolarlayıcı kas gevşeticilerin etkisini tersine çevirmek için, Alzheimer gibi hastalıkların nöropsikiyatrik semptomlarının tedavisinde özellikle tepkisizliğe karşı, Lewy Body Dementia ve Parkinson Hastalıklarının tedavisinde kullanılır (Taylor ve ark., 2012). Bu gibi hastalıkların başlamasıyla gerçekleşen nöron ve akson kaybı daha düşük düzeylerde asetilkolin salınmasına sebep olur. Sonuç olarak, konsantrasyondaki nörotransmitter düzeylerinde sinir iletilerinin devamlılığının sağlanması ve bilgilerin aktarımı daha da güçleşir. Bu durumu düzeltmek için uygulanacak yöntemlerden biri günümüzde zor olan asetilkoline benzer maddeler verilmesidir. Asetilkolin düzeylerini arttırmak için uygulanacak bir diğer yöntem ise asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz enziminin inaktive edilmesidir. Bu amaca yönelik olarak genellikle kolinesteraz enzim inhibitörleri kullanılır. Alzheimer ve koroner arter gibi hastalıkların asetilkolin eksikliği ile derin bir bağlantısı olduğu için AChE enzimini inhibe eden ilaçlar ve bitkilere ihtiyaç artmaktadır (Şahin, 2002; Thacker, 2003).

Alzheimer hastalığı, ilk kez 1906 yılında Alman nöropsikiyatrist 'Alois Alzheimer' tarafından tanımlanmıştır. Beynin düşünce kontrolü, hafıza ve konuşma yetisi gibi bazı fonksiyonlarının yer aldığı bölümünde, karmaşık mesajları sinir hücreleri arasında taşıyan kimyasalların düzeyinin azalması ve sinir hücrelerinin yok olmasıyla normal düşünce ve hafıza yetilerinin kaybolduğu bir hastalıktır. Bu hastalık özellikle yaşlı nüfusun fazla olduğu sanayileşmiş ülkelerde büyük bir sorundur (Orhan ve Aslan, 2009). Alzheimer hastalığı şu anda dünya çapında 35 milyon kişiyi etkilemekte ve 2050'de 115 milyon kişiyi etkilemesi öngörülmektedir. Alzheimer hastalığı, kanser ve kardiyovasküler hastalıklardan sonra sağlık harcamalarında üçüncü sırada olup senelik maliyeti tahmini 250 milyar dolar olarak hesaplanmaktadır (Winblad ve ark., 2006).

2.9.2. Butirilkolinesteraz enzimi

Kolinesterazlar, plazma ve diğer vücut sıvılarında da bulunmak üzere kolinerjik ve kolinerjik olmayan dokularda geniş bir dağılıma sahip enzimlerdir. Substrat seçiciliğine, substrat varlığındaki davranışlarına ve inhibitörlere karşı duyarlılıklarına göre iki gruba ayrılmışlardır. AChE veya gerçek kolinesteraz (AChE: E.C.3.1.1.7, asetilkolin asetil hidrolaz) ve butirilkolinesteraz (BuChE: E.C.3.1.1.8 asetilkolin açılhidrolaz), spesifik olmayan kolinesteraz veya psödokolinesteraz olarak bilinir. Asetilkolinesteraz; beyin ve eritrositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunurken,

Butirilkinesteraz; serum, pankreas, karaciğer ve santral sinir sisteminde bulunur (Rao ve ark., 2007).

BuChE'in yapısında AChE'a benzer şekilde esteraz, aril açıl amidaz ve peptidaz (proteaz) olmak üzere üç farklı enzimatik aktivite bulunur. Her iki enzim farklı dokularda dağılım gösteren moleküler forma sahiptir. BuChE'in esteraz aktivitesi; organofosfat ve karbamat yapılı inhibitörlerin AChE'a ulaşmadan dolaşımdan uzaklaştırılmasında, AChE eksikliğinde kolinerjik sinir iletiminin kontrolü, aspirin ve amitriptilin gibi bazı ilaçların inaktive edilmesi veya bambuterol, heroin gibi bazı ilaçların aktive edilmesinde önem kazanmıştır. Enzimin aril açıl amidaz aktivitesinin ise serotonerjik ve kolinerjik sinir iletim sistemleri arasında iletişim sağlama olduğu belirlenmiştir. Ayrıca enzimin proteaz veya peptidaz aktivitesinin Alzheimer hastalığının gelişmesi ve progresyon fonksiyonu bulunmaktadır. BuChE bu hastalıkta amiloid proteinin üretimine ve proteinin β -amiloid plaklara difüze olmasına sebep olur. BuChE; substratın bağlanması ve katalizinde rol oynayan; PAS (periferal anyonik bölge), omega cep, oksainyon çukuru, açıl bağlama bölgesi ve katalitik üçlü (Ser198, His438, Glu325) kısımlarını içerir (Neşe, 2003).

2.9.3. Tirozinaz enzimi

Tirozinaz (polifenol oksidaz, monofenol oksidaz, fenolaz veya katekolaz, dihidroksi-Lfenilalanin: oksijen oksidoredüktaz (E.C 1.14.18.1)) olarak adlandırılan bir enzimdir. Memelilerde, yaygın olarak bitkilerde, mikroorganizmalarda ve mantarlarda bulunur. Bitki ve hayvanlarda geniş yer kaplayan melanin pigmentleri için gerekli bir enzim olup kofaktörü bakırdır. Tirozinaz hayvansal organizmaların özellikle deri, saç ve göz pigmentlerinde bulunur (Ortonne ve Ballotti, 2000). Tirozinaz gıda endüstrisinde meyve ve sebzelerin ekonomik değerlerinin korunmasında anahtar bir enzimdir. Sebze ve meyvelerdeki enzimatik kahverengileşmeden sorumludur (Mayer, 1987; Whitaker, 1995). Ayrıca tirozinaz haşerelerle mücadelede, yara iyileşmesinde, parazitlerin enkapsülasyonunda görevlidir. Tüm bu sebeplerden dolayı tirozinaz inhibitörleri ilaç ve kozmetik ürünlerinde vitiligo, malign melanoma gibi hastalıklarda pigmentasyon rahatsızlıklarını önlemede gittikçe artan bir öneme sahiptir (Mosher ve ark., 1983; Maeda ve Fukuda, 1991).

2.9.4. Amilaz enzimi

Amilazlar (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolaz); glikojen, amilopektin ve amilozdaki α -D-(1,4) glikozid bağlarını hidrolizleyen enzimler sınıfına ait olup birçok ototrof ve heterotrof organizmada yaygın bir şekilde bulunmakta ve karbohidrat

metabolizmasında önemli rol almaktadırlar (Yoon ve Robty, 2003). α -amilaz inhibisyonunun, karbohidrat toleransına, tokluk hissi, kilo kaybı ve uzun süreli gastrik boşalmaya neden olduğundan, α -amilaz inhibitörlerinin obezite ve Tip II diyabet tedavisinde etkili olabilecekleri bildirilmiştir (Gerrard ve ark., 2000; Conforti ve ark., 2005). α -amilaz (E.C 3.2.1.1) ve α -glukozidaz (E.C 3.2.1.20), karbohidrat sindiriminde görev alan anahtar enzimlerdir de diyebiliriz.

2.9.5. Glukozidaz enzimi

Glukozidaz, ince bağırsak epitelyumunda zara bağlı enzim olup oligosakkaritler ve disakkaritleri glukoz birimlerine hidrolizlemektedir. α -glukozidaz, karbohidratların sindiriminin son basamağında görev aldığından, bu enzimin inhibitörleri, karbohidratların tamamen sindirilme sürelerini uzatarak, sindirimini geciktirmektedirler (Kim ve ark., 2005). Bu nedenle α -glukozidaz inhibitörleri, karbohidratların hidrolizini ve emilimini yavaşlatarak tokluk kan şekeri yüksekliğini baskılayabilmektedirler. α -glukozidaz inhibitörleri, glukoz emilim hızının azalmasına ve artmış olan tokluk kan glukoz oranının düşmesine sebep olduklarından, Tip II diyabetin düzenlenmesinde oldukça önemlidir (Hamdan ve Afifi, 2004; Ali ve ark., 2006).

Diabetes mellitus (DM), insülinin tamamen veya kısmen eksilmesiyle gelişen ve hiperglisemiyle (yüksek kan şekeri) tanımlanmış bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinin yanında insüline karşı gelişen direnç, diyabet oluşmasında rol oynamakla birlikte; karbohidrat, lipid ve protein metabolizmasını da etkiler (Abou-Seif ve Youssef, 2004).

Hiperglisemi; kardiyovasküler hastalıklara, nefrolojik sendroma, böbrek yetmezliğine, sinir sistemi hastalıklarına, körlüğe neden olabilen retinopatiye ve ayakta ülserle sebep olan uzun süreli komplikasyonlar sonucunda oluşan kangren, felç gelişimine ya da kronik hastalıklar oluşmasına sebep olur (Zimmet ve ark., 2001).

Diyabet, dünya nüfusunun yaklaşık %5-10'nu etkileyen kronik hastalıklardan birisidir (Dwarakanathan, 2006).

2.10. Lamiaceae Familyası ve *Nepeta* Cinsi

2.10.1. Lamiaceae familyası hakkında genel bilgiler

Türkiye coğrafi konumunun yanı sıra, jeolojik ve jeomorfolojik yapısı, farklı toprak ve anakaya tiplerine sahip olması ve ılıman iklim kuşağında bulunması nedeniyle zengin bir bitki florasına sahiptir. Avrupa kıtasının tamamında yayılış gösteren bitki türleri sayısı, Türkiye'de yetişen bitki türleri sayısı arasında paralellik vardır. Türkiye bu özelliğinden dolayı yıllardan beri birçok botanikçinin ilgi odağı olmuştur.

P.H. Davis 1938 yılından itibaren birçok kez ülkemize gelerek örnekler toplamıştır. Yaptığı çalışmalar sonucunda ilki 1965, son cildi 1988 yılında 9 esas, 1 ek ciltten oluşan “Flora of Turkey and The East Aegean Island” isimli eseri yayınlamıştır (Davis ve ark., 1988)

Lamiaceae familyası ilk kez De Jussieu tarafından 1789’da “Labiatae” adıyla isimlendirilmiştir. Lindley 1836 yılında ‘Lamiaceae’ olarak adlandırmıştır (Greuter, 1988; Hedge, 1992). Lamiaceae dünyanın büyük ve en eski familyalarından biridir. Lamiaceae ile ilgili fosil kayıtları bulunmamasına rağmen kökeninin Oligosen’e veya daha öncesine dayandığı söylenebilir (Chadefaud ve Emberger, 1960; Hedge, 1986).

Lamiaceae familyasının, Boissier’in “*Flora Orientalis*” adlı eserinde 66 cins, yaklaşık 1100 kadar türü bulunmaktadır. Bu sayı tahminen Dünya’ daki Lamiaceae türlerinin 1/3’ ü kadardır (Hedge, 1986).

Başta Akdeniz havzası olmak üzere yeryüzünün bütün bölgelerine yayılmış olan Lamiaceae familyasının ülkemiz florasında da önemli bir yeri vardır. Lamiaceae familyası yaklaşık 200-250 cins ve 3200-4000 tür ile temsil edilmektedir (Heywood, 1978; Hedge, 1992). Thorne’e göre 250 cins, 7000 türü bulunmaktadır (Thorne, 1992).

Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasında otlar yarı çalimsı ya da çok yıllık çalimsı, bazen iki veya bir yıllık, sıklıkla aromatik bitkilerdir. Gövdeler 4 köşeli ya da değil, yapraklar stipülasız, basit, nadiren pinnat damarlıdır. Temel çiçek durumu brakte veya floral yaprakların koltuğunda taşınan vertisillat (yalancı çevrel çiçek durumu) şeklindedir. Ayrıca vertisillatlar spika, rasemus, simoz durumlar şeklinde düzenlenebilir. Çiçekler hermafrodit veya sterildir (dişi fonksiyonel). Brakteoller eksik ya da mevcuttur. Brakteler yapraklarla benzerdir ya da görünür şekilde farklılaşmıştır. Kaliks genelde 5 loblu üst lob 3 dişli, alt lob 2 dişlidir. Nadiren loblar veya dişler 1 ve 1 veya 1 ve 4 şeklinde veya kaliks aktinomorfudur. Damarlar 5-20, korolla gamopetal, zigomorfik ve bilabiet tüpsü, genellikle üst dudak indirgenmiş, alt dudak belirsiz iki loblu, dik ya da falkat (orak şeklinde), az çok konkav, alt dudak üç lobludur. Bazen üst dudak indirgenmiş ve alt dudak 5 loblu veya üstte 1 ve altta 4 loblu, ya da korolla aktinomorfik, stamenler korolla yüzeyine yapışık 4 veya didinamda ikidir. Ovaryum üst durumludur. Stilus ginobazik, nadiren değil, tepede bifittir. Meyve; kuru meyve tipi (çok nadir olarak etli meyve) olan nutlettir (findıksı). Dört ya da nadiren daha az sayıdadır (Chadefaud ve Emberger, 1960).

Familya üyeleri, dünyanın birkaç bölgesi hariç hemen hemen her bölgede (Himalayalar, Güneybatı Asya, Avustralya, Amerika ve Afrika’ya kadar) çok farklı

habitat ve yükseklikte yetişebilirler. Çoğunlukla açık habitatlara uyum sağlamışlardır. Birkaç cinsi (*Gomphostemma*) tropikal yağmur ormanlarına özgüdür (Suddee, 2001; Dirmenci, 2003).

Türkiye florasında Lamiaceae familyası 45 cins, 565 tür ve 735 taksonla temsil edilmektedir. Son araştırmalarla familya'ya Kuzeydoğu Anadolu'dan *Perilla* cinsi ve *Lophanthus* cinsi ilave edilerek familyanın cins sayısı 47'ye yükselmiştir (Dirmenci ve ark., 2010). Lamiaceae Türkiye'de endemik tür sayısı en fazla olan familyalar arasında olup endemizm oranı %45 tir (Başer, 1993). Türkiye'nin en zengin üçüncü familyası konumundadır (Güner ve ark., 2000; Dönmez, 2002).

Türkiye'de Lamiaceae familyasının endemik türlerinin yoğunlaştığı alanlar Anadolu çaprazı, Toroslar ve Amanoslardır (Hedge, 1986).

Lamiaceae familyası üyeleri Akdeniz Bölgesinde yaygın olan, uçucu yağ içeren, bir veya çok yıllık, otsu veya çalimsı bitkilerdir. Lamiaceae familyası üyelerinin çoğu uçucu yağlar, aromatik yağlar ve benzeri sekonder metabolitler bakımından zengin olması sebebiyle; tıp, eczacılık, gıda, kozmetik ve parfümeri gibi alanlarda oldukça büyük öneme sahiptir (Baytop, 1996). Başlı sekiz hücreli pul şeklindeki salgı tüyleri bu familya için karakteristiktir. Dolayısıyla başta nane, kekik ve lavanta çiçeği olmak üzere bu familyaya ait çiçekler bol ıtırılı olur (Başer, 1993).

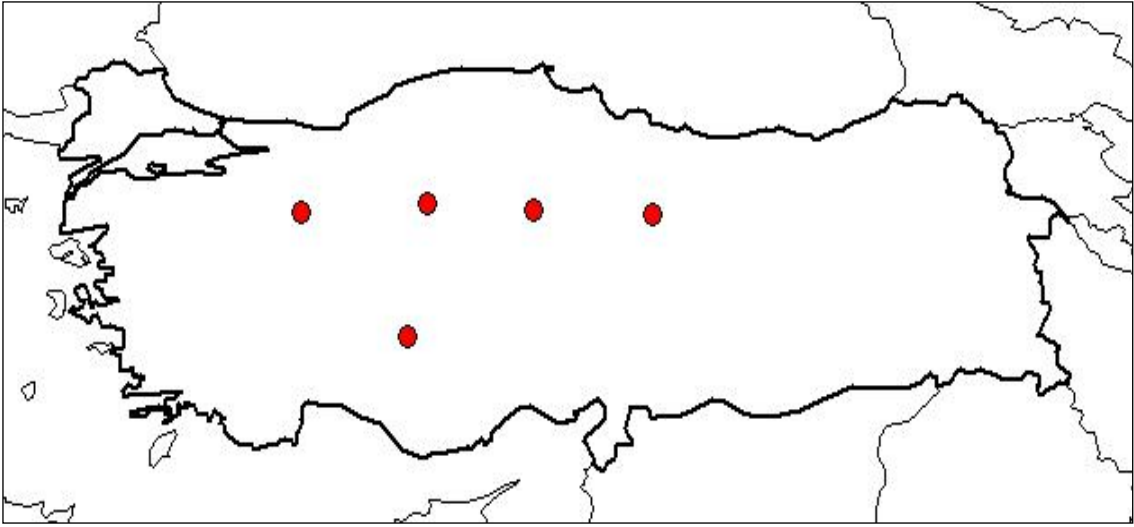
Lamiaceae familyası üyeleri ülkemizde etnobotanik olarak da kullanılmaktadır. Bu familyada bulunan türlerin tıbbi özellikleri ve süs bitkisi olmaları nedeniyle kültürleri yapılır (Başer ve Kırımer, 2006).

2.10.2. *Nepeta* cinsi hakkında genel bilgiler

Adını günümüzde "Nephi" denilen İtalya'nın orta bölgelerinde eski dönemlerde kullanılan peyzaj (*Nepete*, *Nepet*)'dan almıştır. *Nepeta* ismini ise ilk kez 1690 yılında Rivunus, Tournefort'un 1689 yılında *Mentha cataria* genel isimlendirmesi altında topladığı bir grup bitkisi için kullanmıştır (Dirmenci, 2003). Daha sonraki yıllarda Linneaus "Species Plantarum" adlı eserinin ilk baskısında 12 *Nepeta* türü tanımlamıştır (Shishkin, 1976; Dirmenci, 2003).

Lamiaceae familyası üyelerinden biri olan *Nepeta* cinsinin 250 yi aşkın türü vardır. Genelde *Nepeta* cinsi bitkiler Güneybatı Asya, Hindistan, Çin, Avrupa, Suudi Arabistan, Orta Amerika, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika ve Akdeniz bölgelerinde yayılım gösterirler. Türler genellikle Rusya, İran, Afganistan ve Türkiye'de yayılış göstermektedir (Dinesh ve ark., 2010).

Nepeta, Lamiaceae familyası'nın en çok takson içeren cinslerinden biridir. Türkiye'de *Nepeta* cinsi genellikle Doğu, Batı ve Güney Anadolu'da yayılış göstermektedir. *Nepeta* türleri 0-4500 m, çoğunlukla 1000-3000 m arasındaki yükseltilerde hemen hemen her türlü habitatta yetişmektedir. Ülkemizde *Nepeta* cinsine ait 40 takson belirlenmiştir. Taksonlardan 21'i İran-Turan, 13 tanesi ise Akdeniz fitocoğrafya bölgesinde bulunmaktadır. Bu taksonlardan 18 takson endemik olarak tespit edilmiştir. Endemik taksonlardan 6 tanesi İran-Turan, 12 tanesi ise Akdeniz fitocoğrafya bölgesindedir (Dirmenci, 2003).



Şekil 5. *N. congesta* var. *congesta*'nın Türkiye'deki yayılışı (www.tubives.com)

Nepeta congesta var. *congesta* bitkisinde çiçekler beyaz, leylak renginde ya da mordur. Kaliks tüpü ve ağzı düzdür. Brakteol kaliksten kısa ya da uzundur. Bitkiler çok eşeyli ya da hermafrodittir. Nutletler tuberküllü küreseldir (Hedge ve Lamond, 1982). *N. congesta* var. *congesta*'nın Türkiye'deki yayılışı Şekil 5'da sunulmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan *N. congesta* var. *congesta* Taksonları ve Özellikleri

Bu tez çalışmasında kullanılan *Nepeta congesta* var. *congesta* taksonları florada belirtilen lokalitelerden Nisan-Haziran çiçeklenme dönemlerinde toplanmıştır. *Nepeta congesta* var. *congesta* Türkiye florası için endemik bir türdür. *Nepeta congesta* var. *congesta* bitkisi Konya Selçuk Üniversitesi Kampüsü-Yükselen yolundan toplanmış olup bitkinin taksonomik teşhisini 'Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA' yapmıştır.

Çalışmada kullandığımız bitkiye ait taksonomi ve toplandığı lokalite bilgileri Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. *N. congesta* var. *congesta* 'nın lokalite ve taksonomik bilgileri

Bitki Adı	Bitkinin toplanma yeri
<i>N. congesta</i> var. <i>congesta</i>	Konya Selçuk Üniversitesi Kampüsü-Yükselen yolu

TAKSONOMİK HİYERARŞİ (www.tubives.com)

Kingdom *Plantae*

↳ Subkingdom *Tracheobionta*

↳ Division *Magnoliophyta*

↳ Class *Magnoliopsida*

↳ Subclass *Asteridae*

↳ Order *Lamiales*

↳ Family *Lamiaceae*

↳ Genus *Nepeta*

↳ Species *Nepeta congesta* FISCH. ET MEY.



Şekil 6. *N. Congesta* var. *congesta*'ya ait fotoğraflar (www.turkiyebitkileri.com)

Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	Nisan-Haziran
Habitat	Kireçtaşı yarıklar ve çağılık, taşlı yamaçlar, nadas veya buğday tarlaları
Yükseklik	300-2100 m
Endemik	Endemik
Türkiye dağılımı	Orta Anadolu (ANKARA, ESKİŞEHİR, KONYA, SİVAS, YOZGAT)

Tablo 5. *N. congesta* var *congesta* hakkında bilgiler (www.tubives.com)

3.2. Bitkisel Ekstraktların Hazırlanması

Konya Selçuk Üniversitesi Kampüsü-Yükselen yolu arasından toplanan bitki örnekleri gölgede kurutulmuş ve analizlerin yapılması için öğütülmüştür. Antioksidan kapasite ve enzim inhibitör aktivitelerin tayini için toz hale getirilmiş bu örneklerden metanol ekstraktları çıkarılmıştır. Metanol özütleri için toz bitki örnekleri sokslet

aparatında 6-8 saat ekstraksiyona tabii tutulmuştur. Elde edilen bitki ekstraktları kullanılıncaya kadar 4°C’ de muhafaza edilmiştir.

3.3. Antioksidan Kapasite Tayin Testleri

3.3.1. Toplam antioksidan komponentlerin belirlenmesi

3.3.1.1. Toplam fenolik madde analizi (Folin ciocalteu yöntemi)

Fenolik madde tayini için öncelikle bitki ekstraktı konsantrasyonu 2 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Bu amaçla 10 ml metanol içerisine 20 mg bitki eklenerek çözüldü. Bitkisel droglardan 200 µl ayrı deney tüplerine alındıktan sonra her bir tüpe 0.5 ml %2’lik Na₂CO₃ çözeltisi ve 1.5 ml su ilave edildi. 3 dakika bekletildikten sonra 0.1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. Folin-Ciocalteu ayırıcı (FCR) bazlı yöntem gerçekte örneğin indirgenme kapasitesini tayin eder. Karışım karanlıkta ve oda sıcaklığında 2 saat bekletilip daha sonra 760 nm’de absorbansı ölçüldü. Antioksidan kapasite tayin testleri spektrofotometrik ölçümleri Shimadzu UV-1800 spektrofotometre cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Aynı işlem standart olarak kullanılan gallik asit için de tekrar edildi. Bitkilerin fenolik madde içeriği gallik asit eş değeri (mg GAE/g) olarak verildi (Slinkard ve Singleton, 1977).

3.3.1.2. Toplam flavonoid madde tayini

Toplam flavonoid içerik spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla 2 mg/ml konsantrasyondaki bitki ekstraktından 1 ml alınıp %2’lik AlCl₃’ün metanolik çözeltisinden aynı hacimde ilave edilerek karıştırıldı. 10 dakika bekletildikten sonra 415 nm dalga boyunda karışımın köre karşı absorbansı ölçüldü. Aynı metot standart flavonoid olan rutin için de uygulanarak rutine ait kalibrasyon eğrisi çizildi. Sonuç olarak ekstraktın toplam flavonoid madde içerikleri rutin eş değer (mg RE/g) olarak belirlendi (Berk ve ark., 2013).

3.3.2. Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Antioksidan analiz metodunun esası Mo(VI)’nın Mo(V)’e indirgenerek asidik ortamda yeşil renkli fosfat/Mo(V) kompleksinin oluşmasına dayanmaktadır. Bunun için öncelikle bitki özütümüzün konsantrasyonu 2 mg/ml olacak şekilde çözelti hazırlandı. Troloks standart olarak kullanıldı. Reaktif çözeltisi ise aşağıda belirtildiği şekilde hazırlandı:

28 mM Na₂HPO₄.12H₂O çözeltisi: 0.025 gr Na₂HPO₄.12H₂O tartılarak hacmi saf su ile 25 ml’ye tamamlandı.

4 mM Amonyum molibdat çözeltisi: 0.123585 gr amonyum molibdat tartılarak hacmi saf su ile 25 ml'ye tamamlandı.

0.6 M H₂SO₄ çözeltisi: 0.83175 ml H₂SO₄ alınarak üzerine 24.18825 ml saf su sızdırılarak ilave edildi.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan çözeltiler bir mezürde karıştırılarak reaktif çözeltisi hazırlandı. 2 mg/ml konsantrasyondaki bitkisel çözeltilerden 0.3 ml bir tüpe alındıktan sonra üzerine reaktif çözeltisinden 3 ml ilave edildi. Kuvvetli bir şekilde karıştırılan tüp 95°C'de 90 dakika inkübe edildikten sonra 695 nm'de absorbansı ölçüldü. Aynı işlemler standart antioksidan olarak kullanılan troloks için de tekrar edildi. Troloks eşdeğeri (mg TE/g) alınarak antioksidan aktivite hesaplandı (Prieto ve ark., 1999).

3.3.3. İndirgeme gücünün belirlenmesine yönelik testler

3.3.3.1. Bakır indirgeme gücü (CUPRAC testi)

Amonyum asetat tamponu: 1 M (pH=7) amonyum asetat tampon çözeltisinden (NH₄AC) 19.27 g tartılarak su ile 250 ml'ye tamamlandı.

Neokuproin çözeltisi: 7.5x10⁻³ M, Neokuproin (2,9 dimethyl 1-10 phenantroline)'den 0.039 g alınarak %96'lık etil alkolle 25 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

10⁻² M Cu(II) klorür çözeltisi: 0.4262 g CuCl₂.2H₂O'den tartılıp su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Bu çalışma için bitki ekstraktının 0.4 mg/ml ile 2 mg/ml arasındaki farklı konsantrasyonu kullanıldı. Öncelikle her bir deney tüpüne 1 ml CuCl₂.2H₂O, 1 ml amonyum asetat, 1 ml neokuproin çözeltileri ile 0.6 ml saf su eklendi. Daha sonra her bir tüpe bitkisel çözeltilerden 0.5 ml eklenip iyice karıştırıldıktan sonra tüpler ağızları kapalı bir şekilde oda sıcaklığı ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Troloks içinde aynı işlemler tekrar edildi. İnkübasyon sonunda 450 nm'de absorbansları ölçüldü (Apak ve ark., 2006).

3.3.3.2. FRAP testi

FRAP metodu bitki ekstrakt Fe(III)/TPTZ kompleksinin Fe(II)/TPTZ kompleksine indirgemesi prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla 2 mg/ml'lik özüt kullanıldı. Bu özütten 0.1 ml alınarak üzerine 2 ml FRAP reaktif karışımı ilave edildi. Reaktif karışımı 10:1:1 oranında asetat tamponu (0.3 M pH:3.6), 40 mM HCl içinde 10 mM TPTZ ve 20 mM FeCl₃ içermektedir. Karışım bu şekilde hazırlanarak 30 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. 593 nm dalga boyunda absorbansı ölçüldü. FRAP metodun sonuçları standart troloks kullanılarak değerlendirildi (Benzie ve Strain, 1996).

3.3.4. Serbest Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

3.3.4.1. DPPH radikal süpürme etkinliği

Serbest radikal giderim kapasitesi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak tespit edilmiştir. Bitki özütümüzden 1 ml alınarak üzerine 1 ml konsantrasyondaki DPPH çözeltisi (final konsantrasyonu 0.2 mM) ilave edildi. Tüpün ağzı kapatılıp kuvvetlice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığı ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra 517 nm'de absorbansı ölçüldü. Bitkisel çözelti ve troloksun inhibisyonu aşağıdaki denklemden hesaplanmıştır (Kirby ve Schmidt, 1997). Kontrol çözeltisi olarak ekstrakt yerine metanol ilave edildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{İnhibisyon}(\%) = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

3.3.4.2. ABTS katyon radikal süpürme aktivitesi

ABTS⁺ radikal katyonu, 7.4mM ABTS solusyonu ile 2.45 mM potasyum persülfat reaksiyona girmesi ile direkt olarak üretilmiştir. Karışım 12-16 saat oda sıcaklığı ve karanlıkta bekletilip aktif radikal oluşması sağlanmıştır. Deney öncesinde ABTS solusyonunun 734 nm'de absorbansı 0.700±0.02 olacak şekilde metanol ile seyreltildi. Bitki ekstraktından 1 ml alınarak 2 ml ABTS solusyonuyla karıştırıldı. Ağzı kapalı bir şekilde oda sıcaklığında 30 dakika bekletilen örnek absorbansı 734 nm'de ölçüldü (Re ve ark., 1999). Bitkisel özütlerin ABTS katyon radikalini süpürme yüzdesi aşağıdaki denklemden faydalanılarak hesaplandı:

$$\text{İnhibisyon} (\%) = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

A_{kontrol} kontrolün absorbansı ve $A_{\text{örnek}}$ örneğin absorbansını ifade eder. Troloks içinde aynı işlemler yapılarak, bitki ekstraktının ABTS katyon radikali süpürme aktivitesi troloks eş değeri olarak verildi (mgTEs/g).

3.3.5. Metal şelatlama aktivitesi

Fe²⁺ iyonlarını şelatlama aktivitesi Dinis ve ark., (1994) yöntemine göre belirlenmiştir. İçerisinde 2 ml bitkisel özüt (2 mg/ml) bulunan deney tüpüne 2 mM 0.05 ml FeCl₂ çözeltisi eklendi. Reaksiyon 0.2 ml 5 mM ferrozin ilave edilerek başlatıldı. Karıştırılan tüp sonra oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildikten sonra 562 nm'de absorbansı okundu. Şelatlayıcı ajan olan EDTA içinde işlem tekrarlandı. Ferrozin-Fe²⁺ oluşum inhibisyonu (%) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı. Deneyin sonucu EDTA eş değeri alınarak değerlendirildi (mg EDTA/g).

$$\text{Metal şelatlama kapasitesi} (\%) = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

3.4. Enzim İnhibisyonuna Yönelik Testler

3.4.1. Anti-kolinesteraz aktivitesi

Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi “Ellman’s yöntemi” kullanılarak 96 kuyucuklu mikroplakalar içerisinde ölçüldü (Ellmann ve ark., 1961). Mikroplaka kuyucuklarına 2 mg/mL konsantrasyondaki 50 µL bitki ekstraktı, 125 µL DTNB (5,5-Dithio-bis(2-nitrobenzoic) acid), 25 µL Tris-HCl tamponu (pH 8.0) içerisinde hazırlanmış asetilkolinesteraz veya butirilkolinesteraz enzim çözeltileri konularak karışım oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Üzerine 25 µL asetiltiyokolin iyodür (ATCI) veya butiriltiyokolin iyodür (BTCl) ilave edildi. Aynı şekilde, asetilkolinesteraz veya butirilkolinesteraz enzim çözeltisi konulmadan hazırlanan reaksiyon reaktiflerine örnek çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı. Körlerin ve örneğin absorbans değerleri oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra 405 nm dalga boyunda ölçüldü. Örneğin absorbans değerinden körlerin absorbans değerleri çıkarılarak gerçek absorbanslar hesaplandı. Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi galantamin eş değer alınarak değerlendirildi (mg GALAE/g).

3.4.2. Anti-tirozinaz aktivitesi

Tirozinaz enzim inhibitörü aktivitesi, L-DOPA ‘nın substrat olarak kullanıldığı “dopachrome yöntemi” ile ölçüldü. Mikroplaka içerisindeki kuyucuğa 25 µL örnek çözeltisi, 100 µL fosfat tamponu (pH 6.8) ve 40 µL tirozinaz çözeltisi ilave edildi. Çözelti oda sıcaklığında 15 dakika bekledikten sonra 40 µL L-DOPA ilave edildi. Aynı şekilde, tirozinaz enzimi çözeltisi konulmadan hazırlanan reaksiyon reaktifine örnek çözeltisi eklenip kör hazırlandı. Örnek ve körlerin absorbans değerleri 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmesinin ardından 492 nm de absorbansı okundu. Körlerin absorbansı örneklerden çıkartılarak gerçek absorbans değerleri hesaplandı. Kojik asit eş değer (mg KAE/g) alınarak tirozinaz inhibitör aktivitesi hesaplandı (Orhan ve ark., 2014).

3.4.3. Anti-amilaz aktivitesi

α -amilaz inhibitör aktivitesi “Caraway-Somogyi iyot/potasyum iyodür (IKI) yöntemi” uygulanarak gerçekleştirildi (Zengin ve ark., 2014). Mikroplakadaki kuyucuklar içine 25 µL örnek çözeltisi ve fosfat tamponu (pH 6.9, 6 mM sodyum klorür) içerisinde hazırlanan 50 µL α -amilaz çözeltisi ilave edildi ve 37 °C de 10 dakika inkübe edildikten sonra örnek çözeltilerine % 0.05’lik 50 µL nişasta çözeltisi eklendi. Kör çözeltisi de, α -amilaz enzim çözeltisi konulmadan hazırlanan reaksiyon reaktiflerine örnek çözelti ilave edilerek hazırlandı. Çözelti 37 °C de 10 dakika

bekletilmesinin ardından 1 M 25 μ L HCl eklenerek reaksiyon durduruldu. Daha sonra 100 μ L iyot-potasyum iyodür çözeltisi ilave edildi. Örnek ve körlerin absorbans değerleri 630 nm dalga boyunda okundu. Gerçek absorbans değerleri, körlerin absorbans değerleri örneklerin absorbans değerlerinden çıkarılarak elde edildi. α -amilaz inhibitör aktivitesi akarboza eşdeğer seçilerek tespit edildi (mmol AKAE/g).

3.4.4. Anti-glukozidaz aktivitesi

50 μ L örnek çözelti mikrolaka içerisindeki kuyucuklara, fosfat tamponu içinde çözünmüş 50 μ L α -glukozidaz çözeltisi, 50 μ L glutatyon ve 50 μ L PNPG (4-p-nitrofenil- α -D-glukopiranozid) ilave edilerek 37 °C de 10 dakika bekletildi. Aynı şekilde, α -glukozidaz enzim çözeltisi eklenmeden hazırlanan reaksiyon reaktiflerine örnek çözeltisi konularak kör hazırlandı. Reaksiyon 0.2 M 50 μ L sodyum karbonat eklenerek tamamlandı. Numune ile körlerin absorbansı 400 nm de okunduktan sonra körlerin absorbansları numunelerden çıkartılarak gerçek absorbans değerleri bulundu. α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi (mmol AKAE/g) akarboz eşdeğer alınarak rapor edildi (Palanisamy ve ark., 2011).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında Konya Selçuk Üniversitesi Kampüsü-Yükselen yolu arasından toplanan, endemik bir bitki olan *Nepeta congesta* var. *congesta* bitkisinin antioksidan kapasite ve enzim inhibitör aktivitesi değerlendirilmiştir.

Bitkisel materyalin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde tek bir metot bitki antioksidan kapasitesini tümüyle yansıtmayacağı için çeşitli metotlar kullanılmıştır. Metot olarak literatürlerde de en sık karşılaşılan: total antioksidan kapasite, ABTS metodu, DPPH metodu, demir ve bakır indirgeme gücü metotları, metal şelatlama metodu uygulanmıştır. Bu metotlara ilaveten ekstraktın toplam flavonoid ve fenolik içerikleri de hesaplanmıştır.

Enzim inhibitör aktivitenin belirlenmesine yönelik ise anti-kolinesteraz aktivite, anti-butirikolinesteraz aktivite, anti-trozinaz aktivite ve antidiabetik (α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu) etkinin belirlenmesine yönelik testler uygulanmıştır.

4.1. Antioksidan Aktivite Tayin Testleri

4.1.1. Toplam fenolik ve flavonoid içeriği

Fenolik bileşiklerin sağlık üzerine olan çok sayıdaki olumlu etkileri son zamanlarda bilim dünyasının bu bileşiklere yönelmesine yol açmıştır. Bitkilerin toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesinde gallik asit veya pirokatekol gibi standart bir fenolik madde kullanılmaktadır. Fenolik içeriğin belirlenmesinde basitliği ve özel bir ekipman gerektirmemesinden dolayı Folin Yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. *Nepeta congesta* var. *congesta* ekstraktlarının fenolik içerikleri gallik asit standart kullanılarak hesaplanmıştır. Bu tez çalışmasında *Nepeta congesta* var. *congesta* 'nın Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilerek yapılan metanol özütünde 32.03 ± 0.48 mgGAE/g fenolik madde bulunmuştur.

Bitki özütünde spektrofotometrik ölçümler ve flavonoid içerik "Shimadzu UV-1800 spektrofotometre cihazı" kullanılarak belirlenmiştir. *Nepeta congesta* var. *congesta* 'nın flavonoid içeriği rutin eş değer olarak hesaplanmıştır. %2'lik $AlCl_3$ 'ün metanolik çözeltisinde bitki özütünün toplam flavonoid miktarı 14.71 ± 0.26 mgRE/g olarak ölçülmüştür.

4.1.2. Toplam antioksidan kapasite (Fosfomolibdat testi)

Fosfomolibdat testi, asit ortam şartlarında antioksidan madde içeren bileşiklerin Mo(VI)' yi, Mo(V)' e indirgemesi ve oluşan fosfat/Mo(V) (yeşil renkli) kompleksinin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır. Çeşitli çalışmalarda metodun

sonuçları ile fenolik içerik arasında herhangi korelasyon olmadığı rapor edilmesine rağmen, metot basitliği ve kullanılan reaktiflerinin ucuzluğundan dolayı antioksidan kapasitenin değerlendirilmesinde son yıllarda sıklıkla kullanılan metotlardan biridir. Bu metot ile sonuç verirken; antioksidan aktivitesini bildiğimiz bir maddeye göre eşdeğeri olarak verilir. Genel olarak bilinen standart antioksidan madde olarak troloks ya da askorbik asidi kullanılır. Bu çalışmada fosfomolibdat troloks eşdeğer alınarak değerlendirilmiştir.

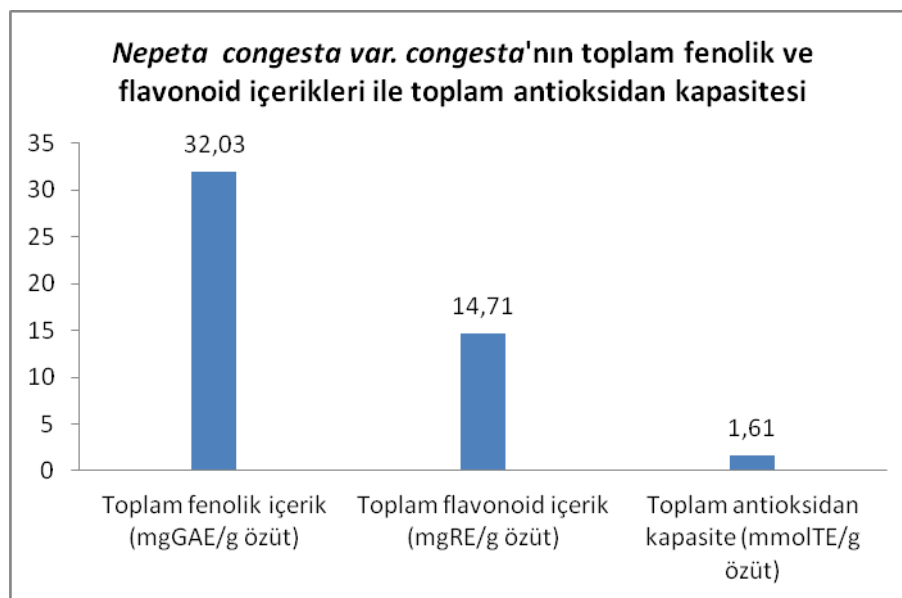
Nepeta congesta var. *congesta* özütünün toplam antioksidan kapasitesi miktarı 1.61 ± 0.07 mmol TE/g olarak ölçülmüştür.

Nepeta congesta var. *congesta*'nın metanol özütlerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile toplam antioksidan kapasitesi Tablo 6'de verilmiştir.

Tablo 6. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile toplam antioksidan kapasitesi

Özüt	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g özüt)	Toplam flavonoid içerik (mg RE/g özüt)	Toplam antioksidan kapasite (mmol TE/g özüt)
Metanol	32.03±0.48	14.71±0.26	1.61 ±0.07

*Ortalama±Standart Sapma. GAE: Gallik asit eşdeğeri; RE: Rutin eşdeğeri; TE: Troloks eşdeğeri



Şekil 7. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile toplam antioksidan kapasitesi

Çalışmamızdan çıkan sonuçlara göre; *Nepeta congesta* var. *congesta* da bulunan en zengin içerik toplam fenolik içeriktir (Şekil 7). Metanol özütünde 32.03 mgGAE/g

fenolik bileşik bulunmuştur. Fenolik içerik miktarını flavonoid içerik (14.71 mgRE/g) ve toplam antioksidan kapasite (1.61 mmolTE/g) takip etmektedir.

Triantaphyllou ve ark. (2001), Lamiaceae familyasına ait bitkilerin su ekstraksiyonlarından elde edilen antioksidant özelliklerini araştırmışlar ve araştırılan örneklerde fenolik içerik miktarlarını; *Origanum dictamnus*' da 15.2, *Melissa officinalis*' de 13.7, *Sideritis sp.*' de 12.15, *Mentha sp.*' de 7.7, *Origanum sp.*' de 22.1, *Salvia sp.*' de 27.4 (% w/w) olarak tespit etmişlerdir.

Cai ve ark., (2004)'te fenolik ve antioksidan maddeleri ihtiva eden 112 farklı bitkinin kansere karşı etkilerini bulmak için total antioksidan kapasitesine ve total fenolik içeriğine bakarak yaptıkları çalışmada; Lamiaceae familyasından bitkilerin de bulunduğu çalışma sonucunda toplam fenolik muhtevası ile antioksidan kapasitesi arasında pozitif korelasyon tespit etmiş ve antioksidan etkiyi oluşturan temel yapının fenolik içerik olduğunu rapor etmişlerdir. Diğer sebze ve meyvelere nisbeten bu bitkilerin yüksek antioksidan etkiye ve fenolik bileşik muhtevasına sahip olmaları nedeniyle bitkilerin doğal bileşimlerinin kanser tedavisinde ajan kaynağı olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Antioksidan kapasitesi araştırılan bitkiler arasında bir çalışmada Labiatae familyasına ait olan ve Türkiye'de yayılış gösteren *Ballota* cinsine ait 16 bitki türünün etanol özütünün lipid peroksidasyonu ve süperoksit anyon oluşumu üzerinde antioksidan özellikleri incelenmiş (Citoğlu ve ark., 2004) ve yeşil çayın kuru ağırlığının yaklaşık %30'unu oluşturan kateşinlerin, yüksek antioksidan etkinlik gösterdiği ve bu etkinin de bitkiye antimutajenik, antikanserojenik ve tümör oluşumunu engelleyici özellikler kazandırdığı belirtilmiştir.

Güllüce ve ark. (2007), *Mentha longifolia* L. ssp. longifolia Hudson. (nane bitkisi)'nin antioksidan aktivitesini metanol ekstraktında incelemişler çalışmaları sonucunda, toplam fenolik içeriği 4.5 g/ 100 g olarak bulmuşlardır.

Başak ve Candan (2008) da *Lallemantia canescens* (L) Fisch & Mey bitkisinin ve kallus doku kültürünün antioksidan aktivitesi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında metanol özütünün toplam flavonoid miktarını 0.288±0.009 mg/g kuersetin eşdeğeri ve fenol miktarını 397.62±12.467 mgGAE/g ile toplam antioksidan kapasitesini ise 5.483±0.232 mM/g α - tokoferol asetat eşdeğeri olarak tespit etmişlerdir.

Albayrak ve ark. (2008), Türkiye'de endemik olarak bulunan *Salvia halophila* Hedge'nin antimikrobial, antioksidan aktivitesini belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada etanollü özütün toplam fenolik içerik miktarını 8.21 mg gallik asit eşiti/ g

olarak bulmuşlardır. *Salvia halophila*'nın etanollü ekstraksiyonunun antioksidan aktivitesini 84.87 askorbik asit eşiti/g olarak rapor etmişlerdir.

Erdoğan ve ark. (2010), Türkiye'de adaçayı olarak bilinen bitki türleri ve bunların antioksidant aktiviteleri başlıklı çalışmalarında inceledikleri yedi Lamiaceae türünün sulu özütlerinin antioksidan aktivitelerini gallik asit eşiti olarak; *Salvia tomentosa*' da 87.87 mg/g, *Salvia frticosa*' da 129.94 mg/g, *Sideritis arguta*' da 88.09 mg/g, *Sideritis congesta*' da 154.1 mg/g, *Sideritis libanotica*' da 55.64 mg/g, *Sideritis perfoliata*' da 88.74 mg/g, *Sideritis pisidica*' da 119.72 mg/g şeklinde tespit etmişlerdir.

Karaarslan (2010)'da *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* Ball. bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amaçlı çalışmasında bitki ekstraktlarının total fenol miktarını metanol ekstresinde 178.66 gr/L ekstrede gallik asit tespit etmiştir. Fenolik madde analiz sonuçları incelendiğinde metanol ekstresinin klorejenik asit (1271.6 µg/gram), apigenin-7glucoside (1006.4 µg/gram), rosmarinik asit (7689.7 µg/gram), luteolin (579.1 µg/gram), gallik asit (70.9 µg/gram), kafeik asit (599.7 µg/gram) içerdiğini tespit etmiştir. Aynı tez çalışmasında *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* ekstraktlarının metanol özütünde total flavonoid miktarını 21.7 mg/katkol olarak tespit etmiştir. Metanol ekstresinin en yüksek değerde flavonoid içerdiği belirlenmiştir.

Knezevic ve arkadaşları (2011), Hırvatistan'da Lamiaceae familyasına ait üç türün antioksidan aktivitelerini ve fenolik içeriklerini araştırmışlardır. Kurumuş bitki örnekleriyle yaptıkları analizde, % oran olarak etanollü özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarlarını *Micromeria croatia* 13.6, *M. juliana* 10.75, *M. thymifolia* 9.69 olarak bulmuşlardır. Aynı örneklerin sırasıyla toplam antioksidant kapasitelerini ise; 470 mg/g, 284 mg/g, 265 mg/g olarak rapor etmişlerdir. Çalışmaları sonucunda fenolik birleşikler ile antioksidan aktivitenin pozitif güçlü bir korelasyon gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Yılmaz (2011), *Nepeta sorgerae* Hedge et Lamond. ve *Nepeta obtusicrena* Boiss. ile ilgili yaptığı çalışmasında; *Nepeta sorgerae* bitkisinin metanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini (µg pirokatekol eşdeğer) /mg Ekstre 11.14±2.45, toplam flavonoid (µg kersetin eşdeğer) /mg Ekstre 24.65±1.25; *Nepeta obtusicrena* bitkisinin ise metanol ekstraktlarının toplam fenolik (µg pirokatekol eşdeğer) /mg Ekstre 24.11±1.42, toplam flavonoid (µg kersetin eşdeğer) /mg Ekstre 21.52±0.88 olarak belirlemiştir.

Swedan (2013), bazı Lamiaceae türlerindeki PAL gen aktivitesi ve toplam fenolik içerik adlı çalışmasında 4 Lamiaceae türünü incelemiş ve çalışmaları sonucunda sulu ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini; *Lavendula angustifolia* (13.40 mg/gTA),

Mentha spicata (11.68 mg/gTA), *Ocimum basilicum* (11.37 mg/gTA), *Thymus vulgaris* (5.44 mg/gTA) olarak tespit etmiştir.

Sağır (2014), Poaceae ve Lamiaceae familyalarına ait bazı türlerin toplam antioksidan kapasitelerini karşılaştırmış, metanol özütlerinin Poaceae familyasının bazı türlerinin ortalama toplam antioksidan kapasitesini 3.49 mg/g TA, Lamiaceae familyasının türlerinin ise 5.19 mg/g TA olarak bulmuştur. Lamiaceae familyasının Poaceae'ye göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve bu farklılığın istatistik olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. En yüksek antioksidant kapasiteye sahip Lamiaceae familyasına ait türün ise *Sideritis perfoliata* olduğunu tespit etmiştir.

4.1.3. Serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

4.1.3.1. DPPH

Kararlı bir radikal olan DPPH antioksidan kapasite tayininde en sık kullanılan radikallerden biridir. Antioksidanların 2,2 -difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH·)' in hidrojen bağlayabilme özelliğinden dolayı radikal giderme işlevi olduğu düşünülerek geliştirilmiş bir metottur. DPPH· testi, serbest radikal süpürme aktivitesinin değerlendirilmesi için iyi bilinen bir metottur. Polariteden bağımsız, çok hızlı, kolay ve tekrar edilebilir bir metottur (Koleva ve ark., 2002). DPPH radikal süpürme aktivitesi ile toplam polifenoller arasında güçlü bir ilişki vardır (Lu ve Foo, 2000; Siriwardhana ve ark., 2003). DPPH antioksidanlarla reaksiyonu sonucunda antioksidanlardan elektron alırlar ve renk açılması meydana geldiği için absorbansda düşmeler meydana gelir. Absorbansın düşük olması karışımın radikal giderim aktivitesinin yüksekliğini göstermektedir. Bitkisel çözeltilerin ve troloksun inhibisyonu aşağıdaki denklemlerle hesaplanmıştır:

$$\text{İnhibisyon(\%)} = \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100 \quad (\text{Kirby ve Schmidt, 1997})$$

Nepeta congesta var. *congesta* özütleri DPPH radikal süpürme etkinliği 46.54 \pm 0.96 mgTE/g olarak bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 8).

4.1.3.2. ABTS

ABTS antioksidan testlerde yaygın olarak kullanılan kararlı yapılarıdır. Bu yöntem; 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS) kromojen radikal katyonunun absorbansının, antioksidanlar tarafından inhibe edilmesi temeline dayanır. Antioksidanlar varlığında ABTS.+ radikal katyonunun absorbansında belirli bir süre içindeki azalmadan yararlanarak toplam antioksidan kapasite troloks cinsinden bulunur.

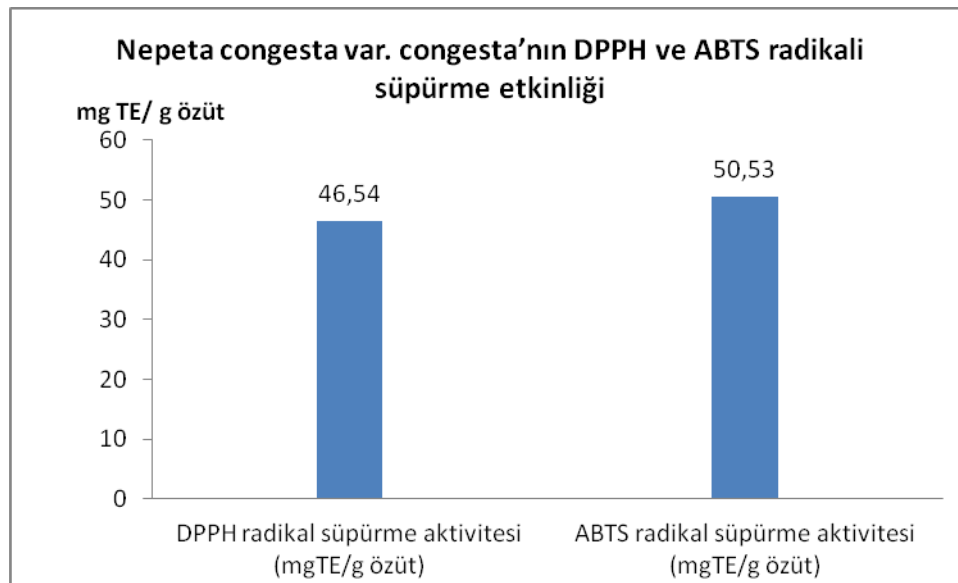
Bu nedenle bu yönteme “troloks eşdegeri antioksidan kapasite yöntemi” (ABTS/TEAC) adı da verilir.

Bitki özütünün ABTS değeri 50.53 ± 2.76 mgTE/g olarak ölçülmüştür (Tablo 7, Şekil 8).

Tablo 7. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın DPPH ve ABTS radikali süpürme etkinliği

Özüt	DPPH radikal süpürme aktivitesi (mg TE/g özüt)	ABTS radikal süpürme aktivitesi (mg TE/g özüt)
Metanol	46.54 ± 0.96	50.53 ± 2.76

*Ortalama±Standart Sapma. TE: Troloks eşdeğeri



Şekil 8. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın DPPH ve ABTS radikali süpürme etkinliği

Soares ve ark. (1997), *Calamintha incana* Boiss. ile yaptıkları bir çalışmada DPPH metodunu kullanmış ve metanol ekstresinin IC_{50} değerini 23.1 ± 1.1 µg/ml olarak tespit etmişlerdir.

Başak ve Candan (2008) da *Lallemantia canescens* (L) Fisch & Mey bitkisinin ve kallus doku kültürünün antioksidan aktivitesi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında DPPH metoduna göre radikal süpürme tayinini gerçekleştirmiş olup, DPPH IC_{50} değerini metanol ekstraktında 26.4 ± 0.3 µg/mL olarak rapor etmişlerdir.

Tosun ve ark. (2009), sekiz *Salvia* türünün antioksidan özellikleri ile ilgili yaptıkları çalışma sonucunda metanol özütlerinin en iyi IC_{50} değerini *Salvia verticillata* Bornm.'da 18.3 µg/ml olarak bulmuşlardır. Yüksek oranda serbest radikal süpürücü

etkiye sahip olan diğer türler ise sırasıyla *Salvia virgata* (23.4 µg/ml) ve *Salvia nemorosa* (32.0 µg/ml)'dir.

Karaarslan (2010), *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* metanolik özütünü DPPH yöntemiyle incelediği çalışmasında; IC₅₀ değerini 4.78±0.2 µg/mL olarak bulmuştur. IC₅₀ (inhibisyon konsantrasyonu) değeri, DPPH çözeltisinin absorbansını % 50 düşüren konsantrasyon değeridir. Bunun sonucunda çalışmasında metanol ve etanol ekstresinin serbest radikal süpürücü etkisinin yüksek olduğunu bulmuştur. Ayrıca bitki ekstresinin IC₅₀ değerinin BHT'ye göre daha yüksek çıktığını tespit etmiştir.

Yılmaz (2011), *Nepeta sorgerae* ve *Nepeta obtusirena* ile ilgili yaptığı çalışmasında DPPH metodunu kullanmış *Nepeta sorgerae* bitkisinin metanol ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesini 9.050 (10 µg/ml); *Nepeta obtusirena* bitkisinin metanol ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesini 10.600 (10 µg/ml) olarak tespit etmiştir.

Bayan ve Genç (2016), *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* bitkisi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında DPPH metodunu uygulamış, DPPH IC₅₀ değerini 11.47±0.30 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* bitkisinin metanol eksraktının yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

4.1.4. İndirgeme Gücünün Belirlenmesine Yönelik Testler

4.1.4.1. Bakır indirgeme gücü (CUPRAC testi)

İndirgeme gücü veya potansiyeli antioksidan kapasitenin en önemli belirteçlerinden biridir. Bu potansiyel antioksidan aktivitesi araştırılan bileşikler veya özütlerin elektron verme yeteneğini göstermektedir. Bu indirgeme gücü, fenolik yapıdaki antioksidan maddelerin önemli bir mekanizmasıdır. Bakır indirgeme gücünün tespit edilmesi amacıyla kullanılan CUPRAC metodu; bakır(II)-neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) reaktifi (Cu(II)-Nc) kullanılarak polifenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin tayini için geliştirilen spektrofotometrik bir yöntemdir, antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)- neokuproin kompleksinin renkli Cu(I)-Nc şelatına indirgenmesi ve bu şelatın maksimum ışığı soğurduğu 450 nm'de absorbans değerlerinin ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Apak ve ark., 2004; Özyürek ve ark., 2011).

CUPRAC yöntemi bakır(II) iyonu indirgeme kapasitesi cinsinden öncelikle gıda maddelerinde bulunan polifenoller, C ve E vitamini gibi antioksidanların tayininde daha

sonra ise insan serumunda TAC belirlenmesinde, hidroksil radikal süpürücü maddeler üzerinde kullanılmıştır (Apak ve ark., 2006; Bektaşoğlu ve ark., 2008).

CUPRAC testi hızlı, basit ve özellikle hidrofilik antioksidanlara oldukça uygun olmasından ötürü son zamanlarda oldukça tercih edilen antioksidan metotlardandır.

Bu çalışmada *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın CUPRAC sonucu 104.43 ± 1.12 mgTE/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 9).

4.1.4.2. FRAP Testi

Bakır indirgeme gücünde olduğu gibi FRAP testide bitkisel özütlerin demir iyonlarını indirgeme yeteneklerini ortaya çıkarır. FRAP testi; demir (III) tripridilriazin (Fe^{3+} -TPTZ) kompleksinin antioksidan vasıtasıyla düşük pH ortamında demir (II) tripridilriazin (Fe^{2+} -TPTZ) kompleksine indirgenmesi ve ortaya çıkan Prusya Mavisini rengin spektrofotometrik olarak tayinine dayanır. Absorbansın yüksek olması indirgeme gücünün yüksekliğini gösterir (Benzie ve Strain, 1996).

FRAP testine göre *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın sonucu 67.03 ± 1.96 mgTE/g olarak ölçülmüştür (Tablo 8, Şekil 9).

4.1.5. Metal şelatlama aktivitesi

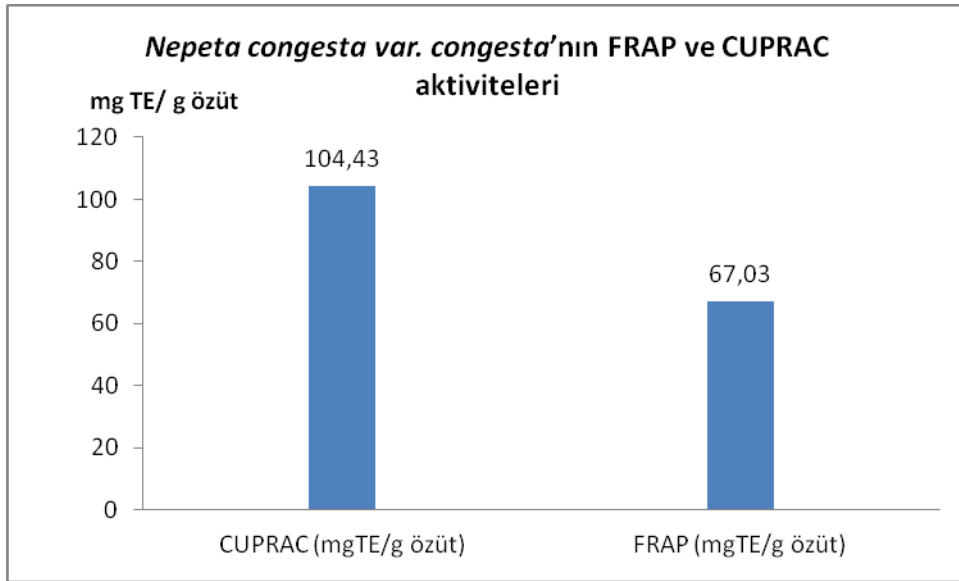
Antioksidan kapasite tayininde oldukça önemli olan metal şelatlama aktivitesi; lipid peroksidasyonuna neden olan metalleri tutar. Fenton kimyasından da bilindiği üzere antioksidan aktivite açısından $OH\cdot$ radikallerinin ortaya çıkmasına neden olan Fe^{2+} ve Cu^{+} gibi metallerin tutulmasında önemli rolü vardır. Bu sebeplerden dolayı, şelat yapabilme özelliğinde olan bileşikler organizmada geçiş metallerini bağlayarak, radikal oluşmasını engeller. Böylece serbest radikallerin meydana getirdikleri zararların önlenmesinde işlev görürler (Duh ve ark., 1999). Bu tez çalışmasında metal şelatlama kapasitesi ferrozin metodu kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışma sonucuna göre *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın metal şelatlama aktivitesi 49.34 ± 0.41 mgEDTAE/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın CUPRAC, FRAP ve metal şelatlama aktiviteleri

Özüt	CUPRAC (mg TE/g özüt)	FRAP (mg TE/g özüt)	Metal şelatlama aktivitesi (mg EDTAE/g özüt)
Metanol	104.43 ± 1.12	67.03 ± 1.96	49.34 ± 0.41

* Ortalama \pm Standart Sapma. TE: Troloks eşdeğeri; EDTAE: EDTA eşdeğeri.



Şekil 9. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın CUPRAC ve FRAP aktiviteleri

Zengin ve ark. (2014), *Sideritis galatica* Bornm. bitkisi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında *Sideritis galatica*'nın metanol ekstresinin CUPRAC, FRAP ve metal şelatlama aktivitelerini tespit etmişlerdir. Çalışmaları sonucunda CUPRAC 195.56 ± 4.92 mgTE/g ekstrakt, FRAP 132.76 ± 3.81 mgTE/g ekstrakt, metal şelatlama aktivitesini ise 7.90 ± 1.42 mgEDTAE/g olarak rapor etmişlerdir.

Aras (2016), *Nepeta nuda* subsp. *lydiae* Davis. bitkisi ile ilgili yaptığı çalışmasında kuprak metoduna göre indirgenme kapasitesi tayinini gerçekleştirmiş olup, *Nepeta nuda* subsp. *lydiae* bitkisinden elde edilen su ve etanol ekstralarının kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi standart antioksidanlar gibi artan konsantrasyonu ile arttığını tespit etmiştir. Su ve etanol ekstralarının indirgeme gücü standart antioksidan bileşiklerden az olmakla birlikte, askorbik asite yakın olduğu ve dolayısıyla antioksidan özelliğinin olduğunu belirlemiştir.

Bayan ve Genç (2016), *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* bitkisi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında metanol ekstralarının FRAP ve CUPRAC metoduna göre indirgenme kapasitesi tayinini gerçekleştirmiş olup, FRAP 2.22 ± 0.36 mmol TE/g ekstrakt, CUPRAC 6.67 ± 0.16 mmol TE/g ekstrakt olarak tespit etmişlerdir.

Başığit ve Baydar (2017), tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.)'nda farklı hasat zamanlarının uçucu yağ ve fenolik bileşikler ile antioksidan aktivite üzerine etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında FRAP metoduna göre indirgenme kapasitesi tayinini gerçekleştirmiş olup, FRAP yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivite değerleri

Mayıs ve Haziran aylarında sırasıyla 2.50 ve 2.57 olarak bulunmuştur. Tıbbi adaçayında toplam fenolik madde miktarı ile yüksek antioksidan aktivite arasında olumlu bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

4.2. Enzim İnhibisyonuna Yönelik Testler

4.2.1. Asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi

Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BuChE) inhibisyon aktiviteleri Ellman metodu olarak bilinen spektrofotometrik yöntem temel alınarak ölçülmüştür. Vücutta, AChE ve BuChE olarak iki farklı kolinesteraz enzimi bulunmaktadır. Standart erişkin beyninde asetilkolinesteraz enzimi butirilkolinesteraz enziminden daha fazla bulunur. AChE, uyarılan bütün dokularda mevcutken, BuChE santral ve periferik sinir sisteminde, karaciğerde ve plazma içinde bulunur. Beyindeki kolinesteraz kapasitesinin %20' sini butirilkolinesteraz karşılarken, %80' ini asetilkolinesteraz karşılar (Hartman, 2010).

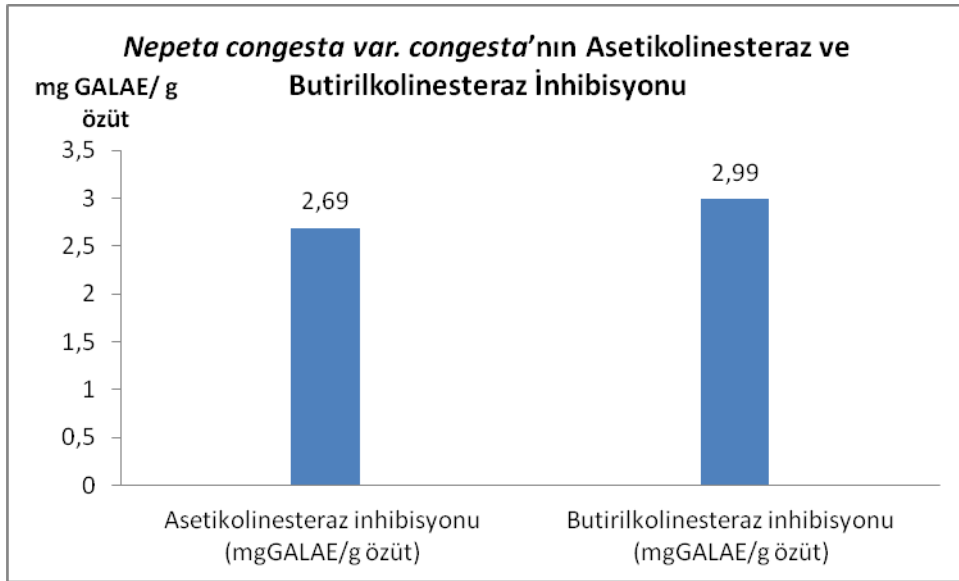
Dokularda bilgileri taşıyan ACh görevini yerine getirdikten sonra AChE tarafından ortadan kaldırılır. Bir sonraki bilgi aktarımı için yeniden asetilkolin üretmek gerekir. Asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığının tedavisi ile yakından ilişkilidir. Asetilkolin, Alzheimer hastalarında yeterince üretilmemektedir. Asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enziminin frenlenmesi ile Alzheimer hastalığının ilerlemeyeceği düşünülmektedir. Beyindeki yaşlanma vb. nörolojik rahatsızlıkların tedavisi için en çok tercih edilen ilaçlar asetilkolin ve butirilkolin düzeyini arttıran ilaçlardır, bu amaçla çeşitli doğal ürünlerin aktivitesi araştırılmaktadır (Atta-ur-Rahman ve Choudhary, 2001; Agrawal ve ark., 2009).

Bu çalışmada *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın Asetikolinesteraz inhibisyonu 2.69 ± 0.03 mg GALAE/g, Butirilkolinesteraz inhibisyonu 2.99 ± 0.7 mg GALAE/g olarak ölçülmüştür (GALAE: galantamin eşdeğeri) (Tablo 9, Şekil 10).

Tablo 9. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın Asetikolinesteraz ve Butirilkolinesteraz İnhibisyonu

Özüt	Asetikolinesteraz inhibisyonu (mg GALAE/g özüt)	Butirilkolinesteraz inhibisyonu (mg GALAE/g özüt)
Metanol	2.69 ± 0.03	2.99 ± 0.7

*Ortalama \pm Standard Sapma. GALAE: galantamin eşdeğeri



Şekil 10. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın Asetikolinesteraz ve Butirilkolinesteraz İnhibisyonu

Loizzo ve ark. (2010), *Salvia leriifolia* Benth (Lamiaceae) ile ilgili yaptıkları çalışmada antioksidan özelliklerini ve kolinesteraz inhibitör aktivitesini araştırmışlardır. Kolinesteraz inhibitör aktivitesini, asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz'a karşı modifiye kolorimetrik Ellman yöntemini kullanarak inceledikleri çalışmalarında AChE ve BuChE için sırasıyla % 50 (IC₅₀) değeri olan 0.59 ve 0.21 mg / mL sonuçlarını elde etmişlerdir. Bu nedenle, *S. leriifolia*'nın, fonksiyonel özellikleri nedeniyle, yaşlılarda veya Alzheimer hastalığından etkilenen hastalarda, belleği geliştirmek için nutrasötik bir ürün olarak kullanılması için iyi bir aday olacağını varsaymışlardır.

Yılmaz (2011), *Nepeta sorgerae* ve *Nepeta obtusirena*'nın anti-alzheimer bileşenleriyle ilgili yaptığı çalışmasında Ellman yöntemini kullanmış ve *Nepeta sorgerae*'nin metanol ekstresinin AChE ve BuChE için sırasıyla % inhibisyon değerlerini 23.14 ve 20.35 olarak bulmuştur. Aynı şekilde *Nepeta obtusirena* için ise 25.16 ve 19.37 sonuçlarını elde etmiştir.

Zengin ve ark. (2014), *Sideritis galatica* Bornm.'nin anti-alzheimer ve antidiabetik etkiyi inceledikleri çalışmalarında Ellman yöntemini kullanmış ve *Sideritis galatica*'nın metanol ekstresinin asetilkolinesteraz inhibisyon değerini, 3.87 ± 0.13 mg GALAE/g, butirilkolinesteraz inhibisyon değerini ise 18.33 ± 1.26 mg GALAE/g olarak bulmuşlardır.

4.2.2. Tirozinaz

Tirozinaz (EC 1.14.18.1) polifenol oksidaz, monofenol oksidaz, fenolaz veya katekolaz olarak da bilinir. Tirozinaz ismi substrat olarak enzimin tirozin (monohidroksifenilalanin) ve dihidroksifenilalanine karşı spesifikliği nedeniyle verilmiştir (Whitaker, 1994). Tirozin; dopamin, norepinefrin, epinefrin, melanin ve tiroksinin ön maddesidir. Endojen olarak fenilalaninden sentez edilir. Proteinlerle vücuda alınır. Daha yaygın olarak bitkilerde bulunmasına rağmen, mikroorganizmalarda genellikle mantarlarda ve insanlarda dahil olmak üzere hayvansal organizmaların özellikle deri, saç ve göz pigmentlerinde bulunur (Khan ve ark., 2004; Parvez ve ark., 2007).

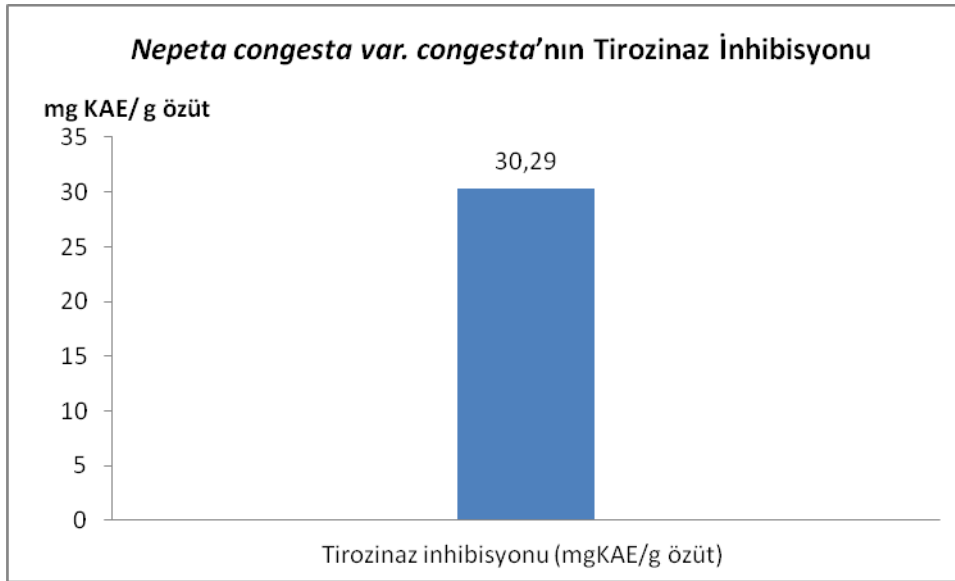
Tirozinaz sebze ve meyvelerdeki enzimatik kahverengileşmeden de sorumludur. Tirozinaz tirozinin, DOPA ve DOPA kinona oksidasyonunu katalizler. Tirozinaz, yıllardır kozmetik ve tarım ile birlikte besin endüstrisindeki kullanımı için araştırılmaktadır. Son yıllarda tıp endüstrisindeki uygulamaları oldukça popülerlik kazanmıştır çünkü pigmentasyon ve vitiligo, malign melanoma diğer cilt bozukluklarından koruma etkisine sahiptir (Maeda ve Fukuda, 1991).

Ekstrenin antitirozinaz etkisi 30.29 mgKAE / g olarak bulunmuştur (Tablo 10, Şekil 11).

Tablo 10. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın Tirozinaz İnhibisyonu

Özüt	Tirozinaz inhibisyonu (mgKAE/g özüt)
Metanol	30.29±0.83

*Ortalama ± Standard Sapma.KAE: kojik asit eşdeğeri



Şekil 11. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın Tirozinaz İnhibisyonu

Calay (2010), yaptığı çalışmasında araştırdığı bitkiler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle, sulu ekstraler arasında en yüksek oranda tirozinazı inhibe eden ekstrenin karadut ekstresi (IC₅₀ 0.075) olduğunu bulmuştur. Karadutu takiben kiraz (IC₅₀ 0.08) ve greyfurt (IC₅₀ 0.08) sulu ekstralarının IC₅₀ değerlerinin düşük olması nedeniyle inhibitor etkisinin olduğunu tespit etmiştir. Dutun enzimi yüksek oranda inhibe etmesinin nedeninin bitkide bulunan fenolik, flavonoid, kuarsetin ve betulinik asid gibi bileşiklerden dolayı olduğunu ileri sürmüştür. IC₅₀ değerine göre en yüksek tirozinaz inhibisyonunun sırasıyla; sarımsak, karadut, havuç, nar, kayısı, mantar, kivi, beyaz dut, ananas, kiraz, ayva, biber, patlıcan, greyfurt, muşmula, elma da bulunduğunu saptamıştır.

Kaempferol, kuarsetin (Chen ve Kubo, 2002), gibi bazı tirozinaz inhibitörü flavonoidler çeşitli bitkilerden izole edilmiştir.

4.2.3. α -amilaz ve α -glukozidaz

Tokluk kan şekerinin düşürülmesi için terapötik yaklaşımlardan birisi, sindirim organlarındaki α -amilaz ve α -glukozidaz gibi karbohidrat hidroliz enzimlerinin inhibisyonuyla glukoz emilimini geciktirmektir (McCue ve ark., 2005). Bu nedenle, yeni farmakolojik ajanlar geliştirmek için yapılan çalışmalar, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu üzerinedir (Kim ve ark., 2000; Johnston ve ark., 2002).

Diabetes mellitus tedavisinde günümüzde insülin ve oral antidiyabetikler tercih edilse bile özellikle gelişmekte olan ülkelerde bu ilaçların saklama koşulları ve yan

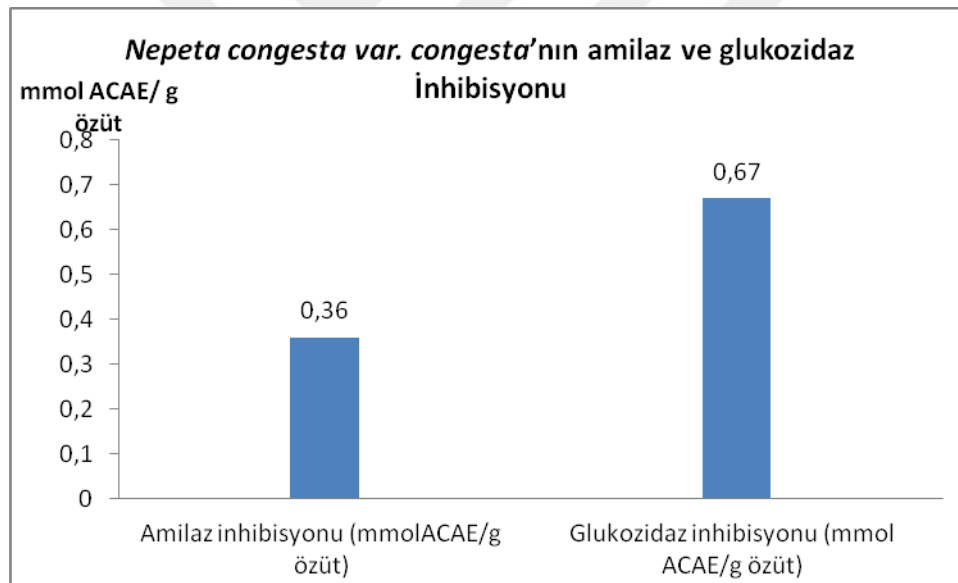
etkileri gibi birçok nedenden dolayı alternatif olarak yeni ve doğal antidiyabetik ilaç arayışında yönelim artmıştır. Günümüzde etnobiyojik verilere göre; 800 civarı bitki diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (Hamdan ve Afifi, 2004; Eidi ve ark., 2005).

Bitki özütünün amilaz inhibisyonu 0.36 ± 0.04 mmolACAE/g, glukozidaz inhibisyonu 0.67 ± 0.02 mmolACAE/g olarak ölçülmüştür (ACAE: akarboz eşdeğeri) (Tablo 11, Şekil 12).

Tablo 11. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın amilaz ve glukozidaz İnhibisyonu

Özüt	Amilaz inhibisyonu (mmolACAE/g özüt)	Glukozidaz inhibisyonu (mmol ACAE/g özüt)
Metanol	0.36 ± 0.04	0.67 ± 0.02

*Ortalama \pm Standard Sapma. ACAE: akarboz eşdeğeri



Şekil 12. *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın amilaz ve glukozidaz İnhibisyonu

Eskandani ve ark. (2016), Lamiaceae familyasında olan türlerle ilgili Diabetes mellitus ile bağlantılı enzim inhibitör potansiyeli üzerine yaptıkları çalışma sonucunda Lamiaceae bitkilerinin amilaz ve glukozidaz inhibitör potansiyellerini tespit etmişler ve 13 bitkinin metanol ekstraktlarının enzim inhibitör yeteneklerini rapor etmişlerdir. Bu bitkilerden iki tanesinde;

Nepeta isphahanica Boiss. 0.189 ± 0.003 α -amilaz, 1.256 ± 0.053 α -glukozidaz

Salvia syriaca L. 0.166 ± 0.010 α -amilaz, 1.264 ± 0.062 α -glukozidaz

olarak inhibisyon değerlerini tespit etmişlerdir. *Nepeta ispahanica* bitkisinin α -amilaz inhibisyon değerini *Salvia syriaca* bitkisinden daha yüksek, *Salvia syriaca* bitkisinin α -glukozidaz inhibisyon değerini *Nepeta ispahanica*'dan daha yüksek olarak rapor etmişlerdir.

Zengin ve ark. (2014), *Sideritis galatica* Bornm.'nın anti-alzheimer ve anti-diabetik etkiyi inceledikleri çalışmalarında *Sideritis galatica*'nın metanol ekstresinin α -amilaz inhibisyon değerini, 0.41 ± 0.01 mmol ACE/g, α -glukozidaz inhibisyon değerini ise 1.68 ± 0.28 mmol ACE/g olarak tespit etmişlerdir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Yurdumuz bitki çeşitliliği açısından oldukça zengin bir ülkedir. Lamiaceae familyası da bu zenginlik içerisinde tür sayısı bakımından oldukça önemli bir yerdedir. Bu tez çalışmasında *Nepeta congesta* var. *congesta* bitkisinin antioksidan kapasite ve enzim inhibitör aktivitesi araştırılmıştır. Bitkisel materyalin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde tek bir metot bitkinin antioksidan kapasitesini tümüyle yansıtmayacağı için çeşitli metotlar uygulanmıştır. Metot olarak literatürlerde de en sık karşılaşılan: total antioksidan kapasite, DPPH metodu, ABTS metodu, demir ve bakır indirgeme gücü metotları, metal şelatlama metodu çalışılmıştır. Ayrıca çalışmamızda bitki ekstraktlarındaki total fenolik ve flavonoid miktarlarını tespit ederek bitki türünün bilinmeyen özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Sonuç olarak total antioksidan kapasite 1.61 mmolTE/g, DPPH radikal süpürme etkinliği 46.54 mgTE/g, ABTS değeri 50.53 mgTE/g, bakır indirgeme gücü 104.43 mgTE/g, demir indirgeme gücü 67.03±1.96 mgTE/g, metal şelatlama kapasitesi 49.34 mgEDTAE/g olarak bulunmuştur. Metanol özütünde 32.03 mgGAE/g fenolik içerik, 14.71 mgRE/g flavonoid içerik tespit edilmiştir.

Enzim inhibitör aktivitenin belirlenmesine yönelik ise anti-kolinesteraz aktivite, anti-butirilkolinesteraz aktivite, anti-trozinaz aktivite ve antidiabetik (α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu) etkinin belirlenmesine yönelik testler uygulanmıştır. Bu çalışma sonucunda ekstraktların asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri sırasıyla 2.69 ve 2.99 mgGALAE/g olarak bulunmuştur. Ekstrenin antitrozinaz etkisi 30.29 mgKAE/g olarak bulunmuştur. Bitki özütümüzün amilaz inhibisyonu 0.36 mmolACAE/g, glukozidaz inhibisyonu ise 0.67 mmolACAE/g olarak ölçülmüştür.

Sonuç olarak *Nepeta congesta* var. *congesta* bitkisinin metanol ekstraktları antioksidan kapasitesi ve enzim inhibisyon aktivitesine sahiptir.

5.2. Öneriler

Dünyada giderek önemi daha da artan bitkisel ilaç kullanımı, ülkemizdeki bitki türlerinin zenginliğinin geniş olması açısından oldukça önemlidir. Bu açıdan ülkemizde de bitkilerle yapılan çalışmalar giderek artmaktadır.

Nepeta taksonları üzerine yapılan çalışmaların çoğu morfolojik ve sistematik çalışmalardır. Bitkimiz ile ilgili literatürde çalışma bulunmaması çalışmamızı özgün

kılmaktadır. Çalışmada antioksidan aktivitesine ve enzim inhibisyonuna ait elde edilen bulgular özellikle ilk olması açısından literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır. Ayrıca bu tez çalışması tür üzerinde araştırılacak yeni çalışmalara ışık tutarak temel oluşturacaktır.



KAYNAKÇA

- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaiee, A., 2004, Pesticides and oxidative stress: a review, *Medical Science Monitor*, 10(6), RA141-RA147.
- Abou-Seif, M.A., Youssef, A.A., 2004, Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients, *Clin. Chim. Acta.*, 346(2), 161-70.
- Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C., 2009, A study of brain insulin receptors, AChE activity and oxidative stress in rat model of ICV STZ induced dementia, *Neuropharmacology*, 56, 779–787.
- Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları.
- Aksoy, Y., 2002, “Antioksidan mekanizmada glutasyonun rolü”, *Klinik Tıp Bilimleri*, 22, 442-448.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Hamzaoğlu, E., 2008, Determination of antimicrobial and antioxidant activities of Turkish endemic *Salvia halophila* Hedge, *Turk J. Biol.*, 32, 265-270.
- Ali, H., Houghton, P.J., Soumyanath, A., 2006, Alpha-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*, *J Ethnopharmacol.*, 107(3), 449-55.
- Altınışık, M., 2008, Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar [<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf>] erişim14.12.08
- Andrade, F., Reid, MB., Allen, DG., Westerblad, H., 1998, Effect of hydrogen peroxide and dithiothreitol on contractile function of single skeletal muscle fibres from the Mouse, *J. Physiol.*, 509, 565-575.
- Anonim, 2006, Bitkilerde Doğal Renk Maddeleri ve Fenolik Bileşikler, Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Ankara.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, SE., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method, *J Agric. Food Chem.*, 52, 7970-7981.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, SE., ve Erçağ, E., 2006, The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(5/6), 292-304.
- Aras, A., 2016, Türkiye’de yetişen endemik *Nepeta nuda* subsp. *Lydiae* bitkisine ait farklı ekstrelerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik içeriklerinin LC-MS/MS ile analizi, Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır.

- Aras, K., Erşen, G., 1988, Tıbbi Biyokimya Teorik ve Klinik Enzimoloji. Ankara Üniv Basımevi. Ankara. 198-203.
- Aras, Ö., 2006, Üzüm Ve Üzüm Ürünlerinin Toplam Karbonhidrat, Protein, Mineral Madde ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta.
- Aruoma, O.I., 1996, Characterisation of drugs as antioxidant prophylactics, *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 675-705.
- Atkins, C.R., Carey, A.F., 1999, Organik kimya, kısa ve öz. (Ç. G. Okay ve Yılmaz Yıldırım), Ankara: Bilim Kitabevi, 235-253.
- Atta-ur-Rahman, Choudhary MI., 2001, Bioactive Natural Products as a Potential Source of New Pharmacophores, A Theory of Memory, *Pure Appl. Chem.* 73, 555-560.
- Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A., 2001, Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. Ayın Kitabı No:20. GATA Basımevi, Ankara.
- Başak, S., Candan, F., 2008, *Lallemantia canescens* (L) Fisch & Mey bitkisinin ve kallus doku kültürünün antioksidan aktivitesi, *İTÜ Dergisi/c Fen Bilimleri*, 6(1), 14-26.
- Başer, K.H.C., Kırimer N., 2006, Essential Oils of Lamiaceae Plants of Turkey, *Acta Horticulturae*, 723, 163-171.
- Başer, K.H.C., 1993, Essential oils of anatolian *Labiatae*: A profile, *Acta Horticulturae*, 333, 217-237.
- Başığit, M., Baydar, H., 2017, Tıbbi Adaçayı (*Salvia officinalis* L.)'nda farklı hasat zamanlarının uçucu yağ ve fenolik bileşikler ile antioksidan aktivite üzerine etkisi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(1), 131- 137.
- Baublis, A.J., Clydesdale, F.M., Decker, E.A., 2000. Antioxidants in Wheat-Based Breakfast Cereals, *Cereals Foods World*, 45, 71-74.
- Bayan, Y., Genç, N., 2016, *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca*'nın Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2), 158-166
- Baytop, A., 1996, Farmasötik Botanik Ders Kitabı, 4. Baskı, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3637.
- Bektaşoğlu, B., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R., 2008, Hydroxyl radical detection with a salicylate probe using modified CUPRAC spectrophotometry and HPLC, *Talanta*, 77, 90-97.
- Benzie, I.E.F. and Strain, J.J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay, *Anal Biochem*, 239, 70-76.

- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S., Sarikurkcu, C., 2013, Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of asplenium ceterach DC, *African Journal of Biotechnology*, 10(44), 8902-8908.
- Betteridge, D.J., 2000, What is oxidative stress?, *Metabolism*, 49(2 Suppl 1), 3-8.
- Bilaloğlu, G.V., Harmandar, M., 1999, Flavonoidler, Aktif Yayınevi, İstanbul, 334-354.
- Bruchmann, E.E. 1976, Angewandte Biochemie, *Verlag Eugen Ulmer*, s. 1-255, Stuttgart.
- Cadenas, E., 1997, Basic mechanisms of antioxidant activity, *Biofactors*, 6, 391-397.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., ve Corke, H., 2004, Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer, *Life Sciences*, 74, 2157-84.
- Calay, Ö., 2010, Tirozinaz enziminin bazı tıbbi bitkiler tarafından inhibisyonu, Yüksek Lisans tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Carr, A., Frei, B., 1999, Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans, *Am. J. Clin. Nut.*, 69, 1086-1107.
- Cemeroğlu, B., 2004, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No; 35, Ankara, 77-88.
- Cemeroğlu, B., Acar, J., 1986, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği; 6, Ankara.
- Cervello, I., Lafuente, A., Giralt, M., Mallol, J., 1992, Enhanced glutathione S-transferase (GST) activity in pregnant rats treated with benzo(a)pyrene, *Placenta*, 13 (3), 273-280.
- Chadefaud, M., Emberger, L., 1960, Traite De Botanique (Systematique), Tome II, p.832- 833.
- Chae, H.Z., Kang, S.W., Rhee, S.G., 1999, Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin, *Methods Enzymol*, 300, 219-226.
- Chen, O., Kubo, I., 2002, Kinetics of mushroom tyrosinase inhibition by quercetin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4108-4112.
- Chung, K.T., Wei, C.I., Johnson, M.G. 1998, Are tanens a double-edged sword in biology and health?, *Trends in Food Sci and Tech*, 9, 168-175.
- Citoğlu, G.S., Çoban, T., Sever, B., ve İşcan, M., 2004, Antioxidant properties of *Ballota* species growing in Turkey, *J. Ethnopharmacol.*, 92, 275-280.
- Collier, A., Rumley, A., Rumley, A. G., Paterson, J. R., Leac, J. P., Lowe, G., Small, M., 1992, Free radical activity and hemostatic factors in niddm patients with and without microalbuminuria, *Diabetes*, 41, 909-913

- Commoner, B., Townsend, J., Pake, G.E., 1954, Free radicals in biological materials, *Nature*, 174, 689-691.
- Conforti, F., Statti, G., Loizzo, M. R., Sacchetti, G., Poli, F., Menichini, F., 2005, In Vitro antioxidant effect and inhibition of alpha-amylase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds, *Biol Pharm Bull.*, 28(6), 1098-102.
- Coombes, J., Powers, SK., Rowell, B., Hamilton, KL., Dodd, SL., Shanely, RA., Sen, CK., Packer, L., 2001, Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle contractile properties, *J. Appl. Physiol.*, 90, 1424-1430.
- Cornwell, T., Cohick, W., Raskin, I., 2004, Dietary phytoestrogens and health, *Phytochemistry*, 65, 995-1016.
- Cos, P., Calomme, M., Pieters, L., Vlietinck, A., Vanden Berghe, D., 2000, Structure-activity relationship of flavonoids as antioxidant and pro-oxidant compounds, *Studies in Natural Products Chemistry*, 22, 307-341.
- Çalık, A.Y., 2004, Halojenli fenollerin kromatografik ayrılması, Yüksek Lisans Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, 3-6.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsar, T., 1997, Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92-95.
- Davis, P.H., Tan, K., & Mill, R.R., 1988, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 10, supplement. *Edinb. Univ. Press.*, Edinburgh.
- Dawn, B.M.; Allan, D.M.; Colleen, M.S., 1996, *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*, Lippicott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- Dekkers, J., Van Doornen, L.J., Kemper, H.C., 1996, The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage, *Sports. Med.*, 21, 213-238.
- Desmarchelier, C.; Ciccia, G.; Coussio, J., 2000, Recent advances in the search for antioxidant activity in South American plants, *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 22, 343-367.
- Dinesh, S., B., Rajendra, C., P., Lalit, S., Veena, P., Priyanka, L., Chandra, S., M., 2010, Constituents and antimicrobial activity of the essential oils of six Himalayan *Nepeta* species, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75 (6), 739-747.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M., 1994, Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid-peroxidation and as peroxy radical scavengers, *Arch. Biochem. Biophys.*, 315, 161-169.
- Dirmenci, T., 2003, Türkiye’de Yetişen *Nepeta* L. Türleri Üzerinde Taksonomik Araştırmalar, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi*, Balıkesir.

- Dirmenci, T., Yıldız, B., Hedge, I.C., Fırat, M., 2010, *Lophanthus* (Lamiaceae) in Turkey: "A New Generic Record and A New Species", *Turkish Journal of Botany*, 34, 123-129.
- Dönmez, A.A., 2002, *Perrilla*: A New Genus for Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 26, 281-283.
- Duh, P.D., Tu, Y.Y., Yen, G.C., 1999, Antioxidant activity of harng jyr (*Cheysatheumum morifolium* Ramat), *Lebnesm-Wiss Technol*, 32, 269-277.
- Dwarakanathan, A., 2006, Diabetes update, *J Insur. Med.*, 38(1), 20-30, Review.
- Ebrahimabadi, A. H., Ebrahimabadi, E. H., Djafari-Bidgoli, Z., Kashi, F. J., Mazoochi, A., & Batooli, H., 2010, Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran, *Food Chemistry*, 119(2), 452-458.
- Eidi, M., Eidi, A., Zamanizadeh, H., 2005, Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats, *J Ethnopharmacol*, 4,100(3), 310-3.
- Ekşi, A., 1988, Meyve Suyu Durultma Tekniği, Gıda Teknolojisi Derneği Yay. No.9, Ankara.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961, A New And Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity, *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.
- Erdogan, I., Baki, E., Senol, S., Yılmaz, G., 2010, Sage-called plant spieces sold in Turkey and their antioksidant activities, *J. Serb. Chem. Soc.*, 75(11), 1491-1501.
- Eskandani, M. B ., Babak Bahadori., M., Zengin, G., Dinparast, L., Bahadori, S., 2016, Novel Natural Agents from Lamiaceae Family: An Evaluation on Toxicity and Enzyme Inhibitory Potential Linked to Diabetes Mellitus, *Current Bioactive Compounds*, 12(1), 34-38.
- Eskin, N.A.M., Henderson, H.M., Townsend, R.J., 1976, *Biochemie der Lebensmittel*. Hüthig Verlag, 1-230, Heidelberg.
- Evans, W., 2000, Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.*, 72, 647-652.
- Evrenesoğlu, Y., 2002, Ateş yanıklığına duyarlı ve dayanıklı bazı armutların fenolik ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, Doktora Tezi, *E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 188.
- Fang, Y., 2002, Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
- Fantel, A.G., 1996, Reactive oxygen species in developmental toxicity: Review and hypothesis, *Teratology*, 53, 96-217.
- Fennema, O.R., 1985, Pigment and Other Colorants, *Food Chemistry*, 545-584.

- Fki, I., Allouche, N., Sayadi, S., 2005, The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants, *Food Chemistry*, 93(2), 197-204.
- Friedman, M., 1996, Food browning and its prevention: an overview, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 631–653.
- Gerrard, J.A., Prince, M.J., Abell, A.D., 2000, Kinetic characterisation of ene-diol-based inhibitors of alpha-amylase, *Bioorg Med Chem Lett.*, 10(14), 1575-6.
- Golden, T., Hinerfeld, DA., Melov, S., 2002, Oxidative stress and aging: beyond correlation, *Aging Cell*, 1, 117-123.
- Golberg, G., 2001, Plants: Diet and Health. British Journal Foundation, Blackwell Publishing, pp. 138–146.
- Goyal, M.M., Başak, A., 2010, Human catalase: looking for complete identity, *Protein cell*, 1(10), 888-897.
- Greuter, W(ed)., 1988, International Code of Botanical Nomenclature, Koetz Scientific Books, D, 2640, Konigstein, Germany.
- Gutteridge, J., M.C., Halliwell, B., 1990, The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems, *TIBS April*, 129-134.
- Guyton, AC. and Hall, J.E., 2000, *Tıbbi Fizyoloji*, 2, 7, Nobel Tıp Kitabevi, sf, 1459-1475.
- Gülçin, İ., 2002, Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 114, 2002.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, G., & Küfrevioğlu, Ö., 2005, Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas L.*), *Acta Alimentaria*, 34(2), 193-202.
- Güllüce, M., Şahin F., Sökmen, M., Özer, H., Daferera, D., Sökmen, A., Polissiou, M, Adıgüzel, A., Ozkan, H., 2007, Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil and methanol extract from *Mentha longifolia L. ssp. Longifolia*, *Food Chemistry*, 103, 1449-1456.
- Gümüştaş, M. K., Atukeren, P., 2008, Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi, *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*, Türkiye’de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar, Sempozyum Dizisi, 62, 329-340.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (eds), 2000, Flora of Turkey and the East Aegean Island, 11, supplement. Edinb. Univ. Press. Edinburg.
- Habtemariam, S., 2007, Antioxidant activity of Knipholone anthrone, *Food Chemistry*, 102, 1042–1047.

- Halliwell, B., 1984, Oxygen radicals: commonsense look at their nature and medical importance, *Medical Biology*, 62: 71-77 s.
- Halliwell, B., 1996, Antioxidant in human health and disease, *Annual Review of Nutrition*, 16, 33–50.
- Halliwell, B., 1997, Antioxidant in Human Health and Disease, *Annual Review of Nutrition*, 16, 33-50.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., 1995, The definition and measurement of antioxidants in biological systems, *Free Radical Biology and Medicine*, 18, 125–126.
- Hamdan, I.I., Afifi, F.U., 2004, Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine, *J Ethnopharmacol*, 93(1),117-21.
- Hamptom, M., Kettle, A.J., Winterbourn, C.C., 1998, Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing, *Blood*, 92, 3007-3017.
- Harman, D., 1956, Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 11, 298-300.
- Hartman, R.E., 2010, Actions of Bioactive Phytochemicals in Cell Function and Alzheimer's Disease Pathology, *Taylor & Francis Group, LLC*, 2010, chapter 16.
- Hedge, L. And Lamond. J., 1982, Flora of Turkey and East Aegean Islands. Vol. 7, Edinb. Un. Press., Edinburgh, p. 264-288.
- Hedge, L.C., 1986, *Lamiaceae* of South-West Asia: diversity, distribution and endemism, *Proceeding of the Royal society*, 89B, 23-25, Edinburgh.
- Hedge, L.C., 1992, A global survey of the *Lamiaceae*, *Advences in Labiatae Science*, p.7-18.
- 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.
- Herrmann, K., 1976, Über verfaerbung des gemüses durch phenolische inhaltsstoffe, *Deutsche Lebensm.-Rdsch*, 72(3), 90-94.
- Heywood, V.H., 1978, Flowering Plants Of The World, *Oxford Un. Press*, London.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Hudson, B.J.F.,1990, Food antioxidants. *Elsevier Applied Science*, London and New York.

- Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T., Tatematsu, M. 1986. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis, *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1071-1082.
- Jenkins, R., 1988, Free radical chemistry: relationship to exercise, *Sports Med.*,5, 156-170.
- Johnston, B.D., Ghavami, A., Jensen, M.T., Svensson, B., Pinto, B.M., 2002, Synthesis of selenium analogues of the naturally occurring glycosidase inhibitor salacinol and their evaluation as glycosidase inhibitors, *J Am Chem Soc.*, 124(28), 8245-5
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T., 2006, Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri, *II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Tokat, 309-312.
- Karaarslan, D., 2010, *Calamintha nepeta* (L.) Savı. Subsp. *Glandulosa* (req.) P. W. Ball türünün petrol eteri, etanol ve metanol ekstraktlarının antibakteriyel, antifungal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Balıkesir.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., & Jukic, M., 2006, Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols, *Food Chemistry*, 94(4), 550-557.
- Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2004, *Biyokimya*, Aktif Yayınevi, Ankara, 3. baskı.
- Keleştemur, G. T., Özdemir, Y., 2011, Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif stres, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1), 69-73.
- Keskin, H., Erkmén, G., 1987, Besin Kimyası. T.C..İstanbul Üniversitesi Sıra no:3450, Mühendislik Fakültesi No:72. Güryay Matbaacılık Tic. Lmt. Sti., İstanbul, 270-274.
- Khan, K.M., Iqbal, S., Lodhi, M.A., Maharvi, G.M., Zia-Ullah, Choudhary M.I., Attar-Rahman., Perveen, S., 2004, Biscoumarin: new class of urease inhibitors; economical synthesis and activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, 1963-1968.
- Khanbabaee, K., Ree, T., 2001, Tanens: Classification and definition, *Nat. Prod. Rep.*, 18, 641-649.
- Kim, J.S., Kwon, C.S., Son, K.H., 2000, Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid, *Biosci Biotechnol Biochem.*, 64(11), 2458-61.
- Kim, Y.M., Jeong, Y.K., Wang, M.H., Lee, W.Y., Rhee, H.I., 2005, Inhibitory effect of pine extract on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia, *Nutrition*, 21(6), 756-61.
- Kirby, A. J., Schmidt, R. J., 1997, The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs, *Journal of Ethnopharmacology.*, 56, 103-108.

- Knežević, V.S., Blažeković, B., Bival Štefan, M., Alegro, A., Köszegy, T., Petrik, J., 2011, Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia, *Molecules*, 16, 1454-1470.
- Koca, İ., 2007, Kızılcık ve Trabzon Hurması Pekmezlerinin Üretim Teknikleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2(2), 33-37.
- Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P. H., De Groot, A., Evstatieva, L. N., 2002, Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochemical Analysis*, 13, 8-17.
- Koşar, M., Bozan, B., Temelli, F., Başer, K.H., 2002, Sumak (*Rhus Coriaria*)'in Fenolik Bileşikleri Ve Antioksidan Etkileri, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir.
- Kovacic, P., Pozos, R.S., Somanathan, R. ve ark. 2005, Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: Focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships, *Curr Med Chem*, 12(22), 2601-2623.
- Kozluca, O., 1993, Serbest radikaller ve kanser, *Kartal Eğitim ve Araştırma Klinikleri*, IV(1-4), 422-425.
- Köksal, E., 2007, Karnabahar (*Brassica Oleracea* L.) Peroksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu, Antioksidan Ve Antiradikal Aktivitesinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Krenitsky, T., Spector, T., Hall, W.W., 1986, Xanthine oxidase from human liver: purification and characterization, *Arch. Biochem. Biophys.*, 247, 108-119.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2005). Robbins and Cotran pathologic basis of disease, 7th edition, 28.
- Kurilich, A.C., Clevidence, B.A., Britz, S.J., Simon, P.W., Novotny, J.A., 2005, Plasma and Urine Responses Are Lower for Acylated vs Nonacylated Anthocyanins from Raw and Cooked Purple, *J. Agric. Food Chem.* 53, 6537-6542.
- Lala, P.K., Chakraborty, C., 2001, Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression, *The Lancet Oncology*, 2, 149-156.
- Lamb, C., Dixon, R.A., 1997, The oxidative burst in plant disease resistance, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 48, 251-275.
- Landis, G.N., Tower, J., 2005, Superoxide dismutase evolution and life span regulation, *Mech. Ageing Dev*, 126, 365-379.
- Lea, A.G.H., 1984, Farb und gerbstoffe in englischen mostapfeln.Flüss Obst., 51 (8), 356-361.
- Lehninger, A.L., 2005, Pirinciple of Biochem, Worth Publishers Inc., New York.

- Lloyd, R.V., Hanna P.M., Mason R.P., 1997, The origin of the hydroxyl radical oxygen in the Fenton reaction, *Free Radic Biol Med*, 22(5), 885-888.
- Loizzo, M.R., Tundis, R., Conforti, F., Menichini, F., Bonesi, M., Nadjafi, F., Giuseppe Frega, N., Menichini, F., 2010, *Salvia leriifolia* Benth. (Lamiaceae) extract demonstrates in vitro antioxidant properties and cholinesterase inhibitory activity, *Nutrition Research*, 30, 823-830.
- Lu, Y., Foo, Y.L., 2000, Antioxidant and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Journal of Life Science*, 66, 725–735.
- Maeda, K., Fukuda M., 1991, In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 42, 361–368.
- Magee, J.P., Rowland, R., 2004, Phytoestrogens, their mechanism of action; current evidence for a role in breast and prostate cancer, *Br J Nutr.*, 91, 513–531.
- Markham, K.R., 1982, Techniques of flavonoid identification, Academic Press, 1-113, London.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C., Nunez de Castro, I., 1999, Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clinical Biochemistry*, 8, 595–603.
- Mayer, A.M., 1987, Polyphenol oxidases in plants: recent progress, *Phytochemistry*, 26, 11-20.
- McCall, M.R., Frei, B., 1999, Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans?, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1034–1105.
- McCord, J., 2000, The evolution of free radicals and oxidative stress, *Am. J. Med.*, 108, 652-659.
- McCue, P., Kwon, Y.I., Shetty, K., 2005, Anti-diabetic and anti-hypertensive potential of sprouted and solid-state bioprocessed soybean, *Asia Pac J Clin Nutr.*, 14(2), 145-52.
- Memişoğulları, R., 2005, Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.
- Miller, D.M., Buettner, G.R., Aust, S.D., 1990, Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions, *Free Radical Biology & Medicine*, 8, 95-108.
- Miller, N.J., Paganga, G., 1996, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
- Mosher, D, Pathak, MA, Fitzpatrick, TB. Vitiligo: etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. in: TB Fitzpatrick, AZ Eisen, J Wolff et al, (Eds.) Update: dermatology in general medicine. McGraw-Hill, New York; 1983:205–225.

- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., Parajó, J. C., 2001, Natural antioxidants from residual sources, *Food Chemistry*, 72(2), 145-171.
- Muntenau, A., Zingg, JM., Azzi, A., 2004, Anti-atherosclerotic effects of vitamin E: myth or reality, *J. Cell Mol. Med.*, 8, 59-76.
- Neşe, Ç., 2003, Butrylcholinesterase: Structure And Physiological Importance, *Turk J Biochem.*, 28(2), 54-61.
- Oh, H., J.E. Hoff., 1987, pH dependence of complex formation between condensed tannins and proteins, *J. Food Sci.*, 52(5), 1267-1269.
- Orhan, D. D., Senol, F. S., Hosbas, S., Orhan, I. E., 2014, Assessment of Cholinesterase And Tyrosinase İnhibitory And Antioxidant Properties of *Viscum Album L.* Samples Collected From Different Host Plants And its Two Principal Substances, *Industrial Crops And Products*, 62, 341-349.
- Orhan, I., Aslan, M., 2009, Appraisal of scopolamine-induced anti-amnesic effect in mice and in vitro antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of some traditionally used Lamiaceae plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 327-332.
- Ortonne, J. P., Ballotti, R., 2000, Melanocyte biology and melanogenesis: What's new?, *Journal of Dermatological Treatment*, 11, 15-26.
- Özkan, G., Kuleaşan, H., Çelik, S., Göktürk, R. S., Ünal, O., 2007, Screening of Turkish Endemic *Teucrium montbretii* subsp. *Pamphylicum* extracts for Antioxidant and Antibacterial Activities, *Food Control*, 18, 509-512.
- Öztürk, N., Tunalıer, Z., Koşar, M., Başer, K.H., 2002, *Petroselinum Crispum*, *Anethum Graveolens* ve *Eruca Satıva*'nın Antioxidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir.
- Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R., 2011, The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement, *Trends in Analytical Chemistry*, 30 (4), 652-664.
- Palanisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T., Appleton, D., 2001, Rapid İsolation Of Geraniin From *Nephelium Lappaceum* Rind Waste And its Anti-Hyperglycemic Activity, *Food Chemistry*, 127, 21-27.
- Parvez, S., Kang, M., Chung, H-S., Bae, H., 2007, Naturally occurring tyrosinase inhibitors: mechanism and applications in skin health, cosmetic and agriculture industries, *Phytotherapy Research*, 21, 805-816.
- Pehlivan, M., Güleriyüz, M., 2004, Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*, 33 (1-2), 51 - 57.
- Pezzuto, J.M., 1997, Plant-derived anticancer agents, *Biochemical Pharmacology*, 53(2), 121-133.

- Pham-Huy L.A, He, H., Pham-Huy, C., 2008, Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *Int J Biomed Sci.*, 4(2), 89-96.
- Pohanka, M., 2012, Acetylcholinesterase inhibitors; a patent review, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 22 (8), 871–886.
- Powers, S., Lennon, S.L., 2000, Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle, *Proc. Nutr. Soc.*, 58, 1025-1033.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999, Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E, *Analytical Biochemistry*, 269, 337–341.
- Rao, A.A., Sridhar, G.R., Das, U.N., 2007, Elevated butrylcholinesterase and acetylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer’s disease, *Medical Hypothesis*, 69(6), 1272-1276.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology And Medicine*, 26, 1231-1237.
- Reid, M., 2001, Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle. Invited review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don’t, *J. Appl. Physiol.*, 90, 724-731.
- Rhee, S.G., 1999, Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger, *Exp Mol Med.*, 31(2), 53-59.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1996, Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
- Sağır, C., 2014, Lamiaceae ve Poaceae Familyalarına Ait Bazı Türlerin Antioksidan Savunma Kapasitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Mersin Üniversitesi*
- Saldamlı, İ., 2007, Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 463-492.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., and Jiménez, L., 2005, Dietary polyphenols and the prevention of diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287-306.
- Schobinger, U., 1988, Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi, Çeviren J. Acar, Eugen Ulmer GmbH and Co, Stuttgart, Germany.
- Sen, S., Chakraborty R., 2001, The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy, Chapter 1: 1-37.
- Shahidi, B., 2004, Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran, *J Ethnopharmacol*, 94, 301-305.

- Shahidi, F., 1996, Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications, *AOCS Press*, Champaign, Illinois, 0-935315-77-2.
- Shahidi, F., Naczki, M., 1995, Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications. Technomic, USA.
- Shishkin, B.K. (ed.), 1976, Flora of The U.S.S.R, Vol. XX, Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad (1954), Translated from Russian Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.
- Siriwardhana, N., Lee, K. W., Kim, S. H., Ha, J. W., Jeon, Y.J. 2003, Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition, *Food Science Technology International*, 9, 339-347.
- Siems, W.G., Grune, T., Esterbauer, H., 1995, 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small-intestine, *Life Sciences*, 57, 785-789.
- Simone, Charles B., 1992, Free Radicals in Cancer and Nutrition, *Simone Health Series New York : Elsevier Science Publishing Company Inc.* 146-149.
- Singh, R., Singh, S., Kumar, S., Arora, S., 2007, Free radical-scavenging activity of acetone extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn., *Food Chemistry*, 103(4), 1403-1410.
- Sivrikaya, A., 2007, Sağlıklı Kişilerde ve Koroner Kalp Hastalarında Bitki Sterollerini, Total Antioksidan Kapasite (Tas), Okside Ldl (Ox-Ldl) ve Homosistein Düzeylerinin Araştırılması, Doktora Tezi, *Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Sivritepe, N., 2000, Asma, Üzüm ve Şaraptaki Antioksidantlar, Gıda, Dünya Yayınları, 12, 73-78.
- Slinkard, K. and Singleton, V.L., 1977, Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods, *Am. J. Enol. Viticult.* 28, 49-55.
- Soares, J. R., Dins, T. C. P., Cunha, A. P., Almeida, L. M., 1997, Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*, *Free Radical Research*, 26, 469- 478.
- Spanos, G.A., R.E. Wrolstad., 1992, Phenolic of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage, *J. Agric. Food Chem.*, 40(9), 1478-1487.
- Stahl, W., Sies, H., 2002, Introduction: Reactive oxygen species, *Research Monographs*, 7, 1-2.
- Stocks J., Dormandy T.L., 1971, The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide, *British J Haematol.*, 20, 95-111.
- Stocks J., Dormandy T.L., Offerman E.L., Moddel C.B., 1972, The susceptibility to autoxidation of human red cell lipids in health and disease, *British J Haematol*, 23, 713-724

- Suddee, S., 2001, A taxonomic revision of tribe *Ocimeae* Dumort. (Labiatae) in continental South East Asia, PhD thesis (unpublished): Trinity College, Univ. Of Dublin, 408.
- Sundaresan M., Yu, Z.X., Ferrans, V.J., Irani, K., Finkel, T., 1995, Requirement for generation of H₂O₂ for platelet derived growth factor signal transduction, *Science*, 270, 296-299.
- Sussman, J.L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., Silman, I., 1991, Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo Californica*: A Prototypic Asetylcholine-Binding Protein, *Science*, 253(5022), 872-879.
- Swedan E.A., 2013, PAL gene activity and total phenolic compounds in some Members of Lamiaceae, *Journal of Applied sciences research*, 9(2), 1222-1227.
- Şahin, H.A., 2002, Asetilkolin, kolinesterazlar ve alzheimer hastalığı, *Demans Dergisi*, 2, 69-73.
- Taylor, D., Paton C., Shitij K., 2012, Maudsley Prescribing Guidelines in Psychiatry, 11. Bs., Wiley-Blackwell, West Sussex.
- Temel, H.E, 2008, Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi, Doktora Tezi, *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir.
- Temple, N.J., 2000, Antioxidants and disease: more questions than answers, *Nutritional Research*, 20, 449-459.
- Thacker, P.D., 2003, Surprising discovery with Alzheimer's medication, *Drug Discovery Today*, 8(9), 379-380.
- Thorne, R. F., 1992, Classification and Geography of the Flowering Plants, *The Botanical Review*, 58, 3.
- Tosun, M., Ercisli, S., Sengul, M., Ozer, H., Polat, T., Ozturk E., 2009, Antioxidant properties and total phenolic content of eight *Salvia* species from Turkey, *Biological Research*, 42 (2), 175-181.
- Triantaphyllou, K., Blekas, G., Boskou, D., 2001, Antioxidatif properties water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52, 313-317.
- Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H., Duman, H., Kırimer, N., 2002, Bazı *Sideritis* Türlerinin Antioksidan Etki Ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir.
- Türk, H.F., 2009, Bazı sofralık üzüm çeşitlerinde farklı dönemlerde alınan yapraklardaki, fenolik ve mineral madde değişimlerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, 2-14, 2009.
- Tzia, C., and Liadakis, G., 2003, Extraction Optimization in Food Engineering. Extraction of Natural Antioxidants, Chapter 10.

- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M. ve ark. 2004, Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, *Mol. Cell, Biochem*, 266, 1-2, 37-56.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.D., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, Review, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84.
- Van Breusegem, F., Dat J.F., 2006, Reactive oxygen species in plant cell death, *Plant Physiol.*, 141, 384-390.
- Van Buren, J.P., 1970, Fruit Phenolics, The biochemistry of fruits and their products, Voll (ed: A.C. Hulme), 269-304, Academic Press, London.
- Van Buren, J.P., L. De Vos., W, Pilnik., 1976, Polyphenols in Golden delicious apple juice in relation to method of preparation, *J. Agric. Food Chem.*, 24 (3), 448-451.
- Vichi, S., Zitterl-Eglseer, K., Jugl, M., Franz, Ch., 2001, Determination of the Presence of Antioxidants Deriving from Sage Radical Scavenging Capacity by Phptochemiluminescence Analysis, *Nahrungl Food*, 45, 101-104.
- Voet, D., Voet, J.G., 2000, Biochemistry, (second edition), New York, p. 346-350.
- Whitaker, J.R, 1995, *In: Food Enzymes, Structure and Mechanism*, Wong D. (ed.), Champman and Hall, New York, pp. 271–307.
- Whitaker, J.R., 1994, Principles of enzymology for the food sciences second edition, *Marcel Dekker, Inc.*, New York-America, pp. 517-520.
- Wickens, A.P., 2001, Ageing and free radical theory, *Respiration Physiology*, 128, 379-391.
- Wilson, B. and Nachmansohn, D., 1954, In 'Ion transport across membranes' (HT Clarke Ed), Acedemic Press, Newyork 35.
- Wilson, T, Temple, NJ., 2001, Health benefits of soy isoflavones, Nutritional Health Strategies for Disease Prevention. Humana Press Inc., *Totowa*. pp. 75-85.
- Winblad, B., Wimo, A., Joönsson, L., 2006, The worldwide direct costs and costs of informal care of dementia. *Alzheimer's Dem*, 2, S19–S20.
- www.tubives.com
- www.turkiyebitkileri.com
- Yağcı, C., Toker, M.C., Toker, G., 2008, Bitki Doku Kültürü Yoluyla Üretilen Flavonoidler, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 1 (1), 47-58.
- Yıldırım, A., 2003, İntakt ve Adrenalektomili Sıçanların Eritrosit ve Mide Dokularında Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı*, Erzurum.
- Yıldırımoğlu, F., 2009, *Kolesterol tayini için yeni bir biyosensör hazırlanması*, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 42-43, 17-19.

- Yılmaz, A., 2011, *Nepeta sorgerae* ve *nepeta obtusirena* bitkilerinin antioksidan ve anti-alzheimer bileşenlerinin izolasyonu ve yapılarının belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Yoon, S.H., Robyt, J.F., 2003, Study of the inhibition of four alpha amylases by acarbose and its 4IV-alpha-maltohexaosyl and 4IV-alpha-maltododecaosyl analogues. *Carbohydr. Res.*, 338 (19), 1969-1980.
- Zengin, G., Sarıkürkçü, C., Aktümsek, A., Ceylan, R., 2014, Sideritis Galatica Bornm.: A Source Of Multifunctional Agents For The Management Of Oxidative Damage, Alzheimer's's And Diabetes Mellitus, *Journal of Functional Foods*, 11, 538-547.
- Zimmet, P., Alberti, K.G., Shaw, J., 2001, Global and societal implications of the diabetes epidemic, *Nature*, 414 (6865), 782-787.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zahide TEKİN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri : KONYA
Telefon : -
Faks : -
e-mail : ztekin12@hotmail.com

EĞİTİM

Derece **Adı, İlçe, İl**
Lise : Konya İHL
Üniversite : Selçuk Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Konya
Yüksek Lisans : Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya
Doktora :

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2011	Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Biyolog

UZMANLIK ALANI**YABANCI DİLLER****BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER****YAYINLAR**