T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *VİNCA* TÜRLERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ

M.Sc. MEHMET BOĞA

DANIŞMAN
DOÇ. DR. UFUK KOLAK

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
GENEL KİMYA PROGRAMI

İSTANBUL-2007

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek lisans / Doktora. Tezi olarak kabul edilmiştir.

17 / 07 / 2007

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Genel Kimya
Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ( )
Anabilim Dalı : Genel Kimya Bilim Dalı / Analitik Kimya Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Mehmet Boğa
Tez Başlığı : Türkiye'de Yetişen *Vinca* Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini
Sınav Yeri : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Sınav Tarihi :

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1.Prof.Dr. Nezhun GÖREN, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

2.Prof.Dr. Keriman GÜNAYDIN, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

3.Prof.Dr. Gülaçtı TOPÇU, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü

4.Doç.Dr. Ufuk KOLAK (Tez Danışmanı), İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Genel Kimya Bilim Dalı

5.Doç.Dr. Zeynep AYDOĞMUŞ, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Mehmet BOĞA



Anneme ve Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Tezimin bütün aşamalarında bilgileri, sabırları ve yol göstericilikleri ile yakından ilgilenen değerli hocalarım Prof.Dr. Gülaçtı Topçu ve Doç.Dr. Ufuk Kolak'a,

Bitkileri toplayan ve teşhis eden Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Murat Kartal'a,

Laboratuar çalışmalarımda öğretici ve yardımcı olan arkadaşlarım Arş.Gör. Mehmet Öztürk ve Abdülselam Ertaş'a ve bölümümüzün diğer çalışanları Emel Yuvarlak ve Ali Aslan'a,

Tezimin botanik kısımları ile ilgili bilgilerin yazılmasında yardımlarını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı araştırma görevlileri arkadaşlarım Mine Koçyiğit ve Yeter Yeşil'e,

Maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan Anneme, nişanlım Azize Erkut'a ve ailemin diğer fertlerine, ev arkadaşım Makina Mühendisi Çetin Alabey'e sonsuz teşekkürler.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-974/06102006

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ X
ÖZET ..... Xİİ
ABSTRACT ..... Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Botanik Bilgiler 4
2.1.1. Apocynaceae Familyası 4
2.1.2. *Vinca* L. Cinsi 4
2.1.3. *Vinca minor* L. 5
2.1.4. *Vinca major* L. 6
2.1.5. *Vinca herbacea* Waldst. & Kit. 7
2.1.6. *Vinca soneri* M. Koyuncu (*Vinca* sp. nova) 8
2.2. *Vinca* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı 10
2.3. *Vinca* L. Türleri Üzerinde Yapılan Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları 10
2.4. Antioksidanlar 15
2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması 16
2.4.1.1. Birincil Antioksidanlar 16
2.4.1.2. İkincil Antioksidanlar 20
3. GEREÇ VE YÖNTEM 21
3.1. Bitkisel Materyaller 21
3.2. Ekstrelerin Hazırlanışı 21
3.3. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi 23
3.3.1. Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi 23

3.3.2. Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi.....24
3.4. Antioksidan Tayin Yöntemleri 25
3.4.1. β-Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Toplam Antioksidan Aktivite Tayini).....25
3.4.2. DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi 25
3.4.3. Metal Bağlama Yöntemi 26
3.4.4. İstatistik Hesaplamalar.....26
3.5. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler.....27
3.5.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler.....27
3.5.2. Çözeltilerin Hazırlanması 27
3.5.2.1. β-Karoten-Linoleik Asit Çözeltisinin Hazırlanması 27
3.5.2.2. 0,1 mM DPPH Çözeltisinin Hazırlanması 27
3.5.2.3. 2 mM $FeCl_2$ Çözeltisinin Hazırlanması 27
3.5.2.4. 5 mM Ferrozin 3-(2-piridil)-5,6-bis-(4-fenilsülfonik asit)-1,2,4-triazin mono sodyum tuzu Çözeltisinin Hazırlanması 27
3.5.2.5. %2'lik Na_2CO_3 Çözeltisinin Hazırlanması.....27
3.5.2.6. %10'luk Alüminyum Nitrat Çözeltisinin Hazırlanması.....27
3.5.2.7. 1 M Potasyum Asetat Çözeltisinin Hazırlanması.....28
3.5.2.8. Standart Çözeltilerinin Hazırlanması 28
3.5.3. Dragendorf Belirtecinin Hazırlanması 28
3.6. Cihazlar ve Diğer Gereçler 28
4. BULGULAR.....30
4.1. Toplam Fenolik ve Flavonoit İçerikleri 31
4.2. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi 32
4.3. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi 37
4.4. Metal Bağlama Etkisi.....42
5. TARTIŞMA 47
KAYNAKLAR 48
ÖZGEÇMİŞ 51

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4-1: Kuru bitki miktarları, ekstre miktarları ve % verimleri 30
Tablo 4-2: *Vinca* bitkilerinin metanol, alkaloit içermeyen ve alkaloit içeren ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri [a] 31
Tablo 4-3: *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin β-karoten–linoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivitesi (%inhibisyon)[a] 32
Tablo 4-4: *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%inhibisyon)[a] 37
Tablo 4-5: *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin metal bağlama etkisi (% inhibisyon)[a] 42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: *V. minor* L. 5
Şekil 2-2: *V. major* L. subsp. *major* 6
Şekil 2-3: *V. herbacea* Waldst. & Kit. 7
Şekil 2-4: *V. soneri* M. Koyuncu 8
Şekil 2-5: *V. minor*, *V. major* subsp. *major*, *V. herbacea* ve *V. soneri* bitkilerinin Türkiye' de yetiştiği yerler 9
Şekil 2-6: İndol alkaloitleri iskelet türleri 11
Şekil 2-7: *Vinca* türlerinde en çok rastlanan indol alkaloit türleri 12
Şekil 3-1: Ekstrelerin hazırlanılışı 22
Şekil 3-2: Pirokatekolün ölçü grafiği 23
Şekil 3-3: Kersetinin ölçü grafiği 24
Şekil 4-1: *Vinca minor*'ün β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi 33
Şekil 4-2: *Vinca major* subsp. *major*'ün β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi 34
Şekil 4-3: *Vinca herbacea*'nin β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi 35
Şekil 4-4: *Vinca soneri*'nin β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi 36
Şekil 4-5: *Vinca minor*'ün DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi 38
Şekil 4-6: *Vinca major* subsp. *major*'ün DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi 39
Şekil 4-7: *Vinca herbacea*'nin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi 40
Şekil 4-8: *Vinca soneri*'nin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi 41
Şekil 4-9: *Vinca minor*'ün Metal Bağlama Etkisi 43
Şekil 4-10: *Vinca major* subsp. *major*'ün Metal Bağlama Etkisi 44
Şekil 4-11: *Vinca herbacea*'nin Metal Bağlama Etkisi 45
Şekil 4-12: *Vinca soneri*'nin Metal Bağlama Etkisi 46

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

DPPH : 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

DNA : Deoksiribo nükleik asit

UV : Ultraviyole

$O^{\cdot}_2^-$: Süper oksit anyon radikali

$OH^{\cdot}$: Hidroksil radikali

$HOO^{\cdot}$: Peroksi radikali

$RO^{\cdot}$: Alkoksi radikali

$NO^{\cdot}$: Azot monoksit radikali

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

O_3: Ozon

$^1O_2$: Singlet oksijen

HNO_2 : Nitröz asit

NO^+: Nitrozil katyonu

NO^- : Nitroksi anyonu

$RS^{\cdot}$: Tiyol radikali

$R^{\cdot}$: Alkil radikali

$FeCl_2$: Demir (II) klorür

Na_2CO_3 : Sodyum karbonat

$Al(NO_3)_3.9H_2O$: Alüminyum nitrat nona hidrat

Ferrozin : 3-(2-piridil)-5,6-bis-(4-fenilsülfonik asit)-1,2,4-triazin mono sodyum tuzu

α-Toc : α-Tokoferol

Q : Kersetin

PEs : Pirokatekole eşdeğer

QEs : Kersetine eşdeğer

FCR : Folin-Ciocalteu reaktifi

BHA : Bütillenmiş hidroksi anisol

BHT : Bütillenmiş hidroksi toluen

TBHQ : *tersiyer*-Bütilhidrokinon

PG : Propil gallat

EDTA : Etilendiamintetraasetik asit

A : *Vinca* türlerinin metanol ekstreleri

B : *Vinca* türlerinin alkaloit içermeyen ekstreleri

C : *Vinca* türlerinin alkaloit içeren ekstreleri

I : *Vinca minor*

II : *Vinca major* subsp. *major*

III : *Vinca herbacea*

IV : *Vinca soneri*

µL : Mikrolitre

mL : Mililitre

L : Litre

nm: Nanometre

mm: Milimetre

cm: Santimetre

m: Metre

µg : Mikrogram

g : Gram

ºC : Santigrat derece

ln : Doğal logaritma

dak : Dakika

ppm : Milyonda bir birim

mM : Milimolar

M : Molar

ÖZET

Boğa, M. (2007). Türkiye'de Yetişen *Vinca* Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Bilim Dalı, Genel Kimya Programı.Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin vücuda verdiği zararları önlediği veya en aza indirdiği için çeşitli hastalıklardan koruyucu özelliğe sahiptirler. Bu nedenle son yıllarda antioksidan madde içeren yiyeceklerin tüketilmesi ve doğal kaynaklı antioksidan maddelerin gıdalarda koruyucu olarak kullanılması artmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye'de yetişen dört *Vinca* türünün (*V. minor* L., *V. major* L. subsp. *major*, *V. herbacea* Waldst. & Kit., *V. soneri* M. Koyuncu) toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinin, alkaloit içermeyen ve alkaloit içeren ekstrelerinin ilk defa antioksidan aktivite potansiyelleri üç farklı yöntemle saptanmıştır. Toplam antioksidan kapasitesi beta-karoten-linoleik asit yöntemiyle, radikal giderim potansiyeli DPPH ile, metal ile kelat oluşturma potansiyeli ise demir (II) klorür ve ferrozin ile tayin edilmiştir. Ayrıca bu ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri de belirlenmiştir. Bu testler sonucunda *V. minor*, *V. major* subsp. *major* ve *V. herbacea*'nın alkaloit ekstrelerinin her üç test sisteminde de yüksek aktivite gösterdikleri, *V. soneri*'nin alkaloit ekstresinin ise iki test sisteminde yüksek aktivite gösterirken metal bağlama yönteminde çok düşük etki gösterdiği saptanmıştır. Alkaloit içeren ekstrelerin toplam fenolik içeriklerinin de diğer ekstrelerden daha zengin olduğu dikkat çekicidir.

Anahtar Kelimeler: *Vinca* türleri, Antioksidan aktivite, beta-karoten-linoleik asit, DPPH serbest radikal giderimi, Metal bağlama

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-974/06102006

ABSTRACT

Boğa, M. (2007). Determination of Antioxidant Activity of *Vinca* Species Grown in Turkey. İstanbul University, Institute of Health Sciences, Depertment of Analytical Chemistry, General Chemistry Programme. Thesis of Master. İstanbul.

Since antioxidants have prevented or delayed detriments of reactive oxygen species, they have a protective role against various diseases. In recent years, consumption of nutrients containing antioxidants and usage of natural antioxidants in foods as preservatives have therefore been increasing. In this study, antioxidant activity of methanol, non-alkaloidal and alkaloidal extracts of the aerial parts of four *Vinca* species (*V. minor* L., *V. major* L. subsp. *major*, *V. herbacea* Waldst. & Kit., *V. soneri* M. Koyuncu), grown in Turkey, was determined for the first time by using three different methods. Total antioxidant capacity by beta-carotene-linoleic acid method, radical scavenging activity by DPPH test system, metal chelating potential by iron (II) chloride and ferrozin were established. In addition, total phenolics and total flavonoid contents of these extracts were determined. The results indicated that high antioxidant activity of the alkaloidal extracts of *V. minor*, *V. major* subsp. *major* and *V. herbacea* in the three test systems. However, the alkaloidal extract of *V. soneri* showed very low effect in the metal chelating assay although it also possessed high antioxidant effect in other two test systems. It is noteworthy that the total phenolic contents of the alkaloidal extracts were richer than the other extracts.

Key Words: *Vinca* species, Antioxidant activity, beta-carotene-linoleic acid, DPPH free radical scavenging, Metal chelating

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. T-974/06102006

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda ortaklanmamış bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri denilmektedir [1].

Serbest radikaller, hem vücudumuzun normal metabolik faaliyetleri sırasında, hem de kimyasal ajanlar, radyasyon, alkol, sigara, ağır metaller gibi pek çok dış kaynaklı etkenlerle oluşabilen moleküllerdir. Kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve oldukça reaktiftirler. Serbest radikallerin yüksek oranda reaktif bileşikler olmaları, en dış yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içermelerinden dolayı kolayca diğer organik ve anorganik moleküllerle reaksiyona girmelerinden ileri gelir. Aslında serbest radikaller, hücrelerin enerji üretiminde rol oynadıkları gibi, vücudun normal metabolik faaliyetleri sırasında gerçekleşen pek çok yararlı biyokimyasal süreçlerin içinde de yer alırlar. Oksidasyon sonucu kısa süreli oluşan serbest radikaller vücudumuzun antijenlerle savaşmasında bağışıklık sistemine yardımcı olurlar. Ancak çevresel ajanların da etkisiyle aşırı miktarlarda oluştuklarında durum değişir ve hücre hasarına neden olabilirler [2].

Oksijen kaynaklı olan reaktif radikallerin hücrede aşırı miktarda oluşmaları "oksidatif stres" olarak tanımlanır. Bu olay, tüm hücre bileşenleri (karbonhidratlar, proteinler, yağlar) üzerinde tahrip edici etkiye sahiptir. Aynı zamanda "hidroksil radikali" başta olmak üzere birçok serbest radikal, genetik materyalimiz olan DNA'daki nükleik asit bazlarının değişimine ve DNA zincirinde kırılmalara neden olarak kanser oluşumu, hücresel yaşlanma ve hücre ölümüne kadar giden süreçleri başlatıp ilerletebilirler [2].

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir [1]. Antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini azaltarak veya ortadan kaldırarak onların neden oldukları dejeneratif hastalıkları ve erken yaşlanma süreçlerini başlatan zincirleme reaksiyonları engelleyen moleküllerdir. Serbest radikaller kararsız ve reaktif moleküller olmalarına yol açan elektron açığını

kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmak üzere onlara saldırırlar. Antioksidanlar ise, serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluştururlar. Eğer serbest radikaller almak istedikleri elektronu antioksidanlardan sağlarlarsa başka bir yapıya zarar vermezler. Antioksidanlar, organizma tarafından sentezlenen ya da dışardan besinlerle alınan maddeler olup, oksidan moleküllerin hücreye zarar vermesini engellerler [2].

Oksidatif stres süreci, normal biyolojik reaksiyonlarda dahi sürekli oluşum içinde olan serbest radikallerle bu moleküllerin etkilerini ortadan kaldırmaya çalışan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulmasıyla oluşan bir durumdur [2].

Serbest radikallerle antioksidanlar dengede olduğu sürece oksidatif stresten kaynaklanan zararlar ortaya çıkmaz. Ancak sigara, alkol, pestisitler, gıda katkı maddeleri, petrokimya ürünleri, otomobil egzozlarından çıkan ağır metaller, çok çeşitli endüstriyel kimyasallar, x- ışınları, UV ışınları, hatta stres ve egzersiz yapılmaması gibi serbest radikal oluşumuna neden olan pek çok etken bulunmaktadır. Bu anlamda serbest radikallerle antioksidan moleküller arasındaki dengenin korunması ve sürdürülmesi çok önemlidir. Antioksidan bakımından zengin yiyeceklerin tüketilmesi ya da antioksidan ilaçların kullanılması bu dengenin korunması ve sürdürülmesini sağlamaktadır. Bu nedenle bitkilerin antioksidan içeriklerinin araştırılması oldukça önem kazanmıştır [2].

Diğer taraftan yiyeceklerin üretimi ve depolama sürecinde bozulmasını geciktiren veya önleyen sentetik antioksidanların çeşitli yan etkileri vardır. Daha sağlıklı yiyecekler üretmek için sentetik antioksidanlara alternatif olarak doğal kaynaklı antioksidan maddeler bulabilmek amacıyla bitkilerin bu özelliklerinin incelenmesi yönündeki araştırmalar artmıştır [2].

Bu yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye'de yetişen, tıbbi açıdan önemli olan ve indol alkaloitleri içeren *Vinca* türlerinin (*V. minor* L.*, V. major* L. subsp. *major* , *V. herbacea* Waldst. & Kit.*, V. soneri* M. Koyuncu) metanol ekstrelerinin, alkaloit içermeyen ve alkaloit içeren ekstrelerinin antioksidan aktivitelerinin üç farklı yöntemle belirlenmesi amaçlandı. Antioksidan aktivite β-karoten-linoleik asit sistemi, DPPH serbest radikal giderim ve metal bağlama yöntemleri kullanılarak belirlendi. Ayrıca bu dört *Vinca*

türünden hazırlanan tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri de tayin edildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Apocynaceae Familyası

Genellikle lateksli, çok yıllık çalılar ya da küçük ağaçlar. Yapraklar genellikle karşılıklı, halka şeklinde veya alternan dizilişte, basit, kenarları düz ve tabanında herhangi bir ek taşımaz. Çiçekler tek tek ve yaprağın koltuğunda ya da bazen 5 çiçekli salkım halinde. Kaliks hemen hemen tabana kadar parçalanmış, 5 parçalı ve kalıcı. Korolla çan, huni ya da yayık laminalı boru şeklinde ve 5 parçalı. 5 adet stamen korolla tübüne bağlıdır. Ovaryum 2 karpelden oluşmuş, karpeller serbest ya da latta bağlantılıdır. Ovaryum, büyük ve farklı şekillerde stigmaya sahip tek stilus ile yukarda birleşir. Meyve 2 folikülle ayrılır, bazen olgunlaşmadan 1 folikül ile de ayrılabilir. Bu familya çok zehirlidir, çeşitli tipte alkaloitler taşır [3].

Ülkemizde Apocynaceae familyasına ait *Vinca, Nerium, Trachomitum* ve *Amsonia* cinsleri yetişmektedir [3].

2.1.2. *Vinca* L. Cinsi

Alçak, sürünücü, herdem yeşil ya da yaprak döken, çok yıllık, yarı çalımsı ya da otsu bitkiler. Yapraklar karşılıklı. Çiçekler büyük, uzun saplı, yaprağın koltuğunda, tek tek. Korolla huni şeklinde, korolla boğazında ekler yok fakat stamenlerin bağlandığı kısmın üstünde tüylü bir bölge ve tabanda korolla parçalarının bağlantı yerlerinde alçak çıkıntılar bulunur. Petaller yaygın durumdadır. Stamenler korolla tübünün yaklaşık yarısına kadar bağlı ve korolla tübünün içinde, filamentler kısa, geriye doğru eğik. Anterler yassı, dil şeklinde, uçta bir ek taşır. Çiçek tablası 2 adet gland taşır. Tohumlar pürüzsüz, oblong ve tepede tüy demeti taşımaz [3].

Türkiye'de 3 *Vinca* türü yetişmektedir [3].

1. Bitki kışın tamamen kurur, yaprak damarları orta damardan 10-35º açıyla ayrılır, çoğunlukla göze çarpar…….***herbacea***

*1***.** Bitki herdem yeşil, yaprak damarları orta damardan 40-60º açıyla ayrılır.

2. Yapraklar ve kaliks kirpimsi tüylü, yaprak ayasının tabanı hemen hemen subcordat ya da dairemsi, sepaller 6-18 mm…..……..……..***major***

*2***.** Yapraklar ve kaliks pürüzsüz, yaprak ayasının tabanı kuneat, sepaller 3-4 mm……..…….……***minor***

Ayrıca 2005 yılında Prof.Dr. Mehmet Koyuncu ve Dr. Osman Soner tarafından yeni bir *Vinca* türü bulunmuş ve bu yeni türe *Vinca soneri* adı verilmiştir. Henüz Flora of Turkey'de kaydı bulunmamaktadır.

2.1.3. *Vinca minor* L.

Yarı çalımsı, herdem yeşil, yoğun olarak birbirine dolaşmış gibi görünen bitkiler. Yapraklar herdem yeşil, yaprak ayası çoğunlukla eliptik ya da lanseolat, laminanın ucu akut ya da obtus, kenarları pürüzsüz, yaprak sapı 2-10 mm. Kaliks 3-4 mm, pürüzsüz. Korolla genellikle mavimsi-pembemsi, bazen beyaz ya da kırmızımsı-mor. Korolla tübü 9-11 mm, korolla parçaları 10-15 mm. Meyve 1,5-2 cm boyunda folikül, tohumlar 6-9 mm. Çiçeklenme dönemi 4. ay. Yükseklik yaklaşık 1200 m. Avrupa'da tanımlanmıştır. Türkiye'de kültürü yapılmaktadır, bazı bölgelerde doğallaşmıştır [3]. (Şekil 2-1)



Şekil 2-1: ***V. minor*** **L.**

2.1.4. *Vinca major* L.

Herdem yeşil, yarı çalımsı, yay şeklinde kıvrık. Yapraklar herdem yeşil, yaprak ayası çoğunlukla ovat-geniş ovat-lanseolat gibi değişik şekillerde, tepesi akut ya da obtus şeklinde, kenarları kirpimsi tüylü. Yaprak sapı 5-15 mm. Kaliks 6-18 mm, sepaller kirpimsi tüylü, korolla menekşe renginde, korolla tübü 1,2-2 cm, petaller 1,2-2 cm. Meyve 2,5-3,5 cm boyutlarında foliküldür [3]. (Şekil 2-2)

1. Yaprak sapı ve genç sürgünler hemen hemen pürüzsüz, sepallerin tüyleri 0,5 mm'ye kadar……...subsp. ***major***
1. Yaprak sapı ve genç sürgünler bol miktarda tüylü, sepalin tüyleri 1 mm'ye kadar…….subsp. ***hirsuta***

subsp. *major* L. Orta Avrupa Floarsı'nda ve Fransız Florası'nda kayıtlıdır. Çiçeklenme dönemi 3.-4. ay. Doğallaşmış. Alttür tanımı Avrupa'da yapılmıştır. Süs bitkisi olarak yetiştirilir, bazı bölgelerde doğallaşmıştır. Akdeniz elementi. Güney Fransa, İtalya, Kuzey Batı Yugoslavya' da yetişir [3].
subsp. *hirsuta* (Boiss.) Stearn Öksin elementidir [3].



Şekil 2-2: *V. major* L. subsp. *major*

2.1.5. *Vinca herbacea* Waldst. & Kit.

Her kış rizomlarına kadar tamamen kuruyan, otsu, çok yıllık bitkiler. Yapraklar otsu, düşücü, dar eliptik, eliptik, lanseolat, ovat gibi çok değişik şekillerde, tepesi akut, kenarları düz, sert kısa tüylü ya da kısa kirpimsi tüylü. Yaprak sapı 1-4 mm. Sepaller 3-10 mm, kısa sert tüylü ya da tüysüz ve pürüzsüz. Petaller soluk mavi-morumsu mavi, korolla tübü 1-2 cm, petaller 1-2 cm. Meyve 2,5-3,5 cm boyutlarında foliküldür. Tohumlar 11-14 mm. Çiçeklenme dönemi 3-5. aylar. Açık güneşli yamaçlar, kumlu çakıllı, taşlı toprak yığınlarında, nadasa bırakılmış tarlalarda, kayalık, çalılık ve çok açık ormanlık alanlarda, 400-2000 m'de yetişir [3].

Dağınık halde Türkiye ve Ege Adalar'ında boydan boya yayılış gösterir [3]. (Şekil 2-3)



Şekil 2-3: *V. herbacea* Waldst. & Kit.

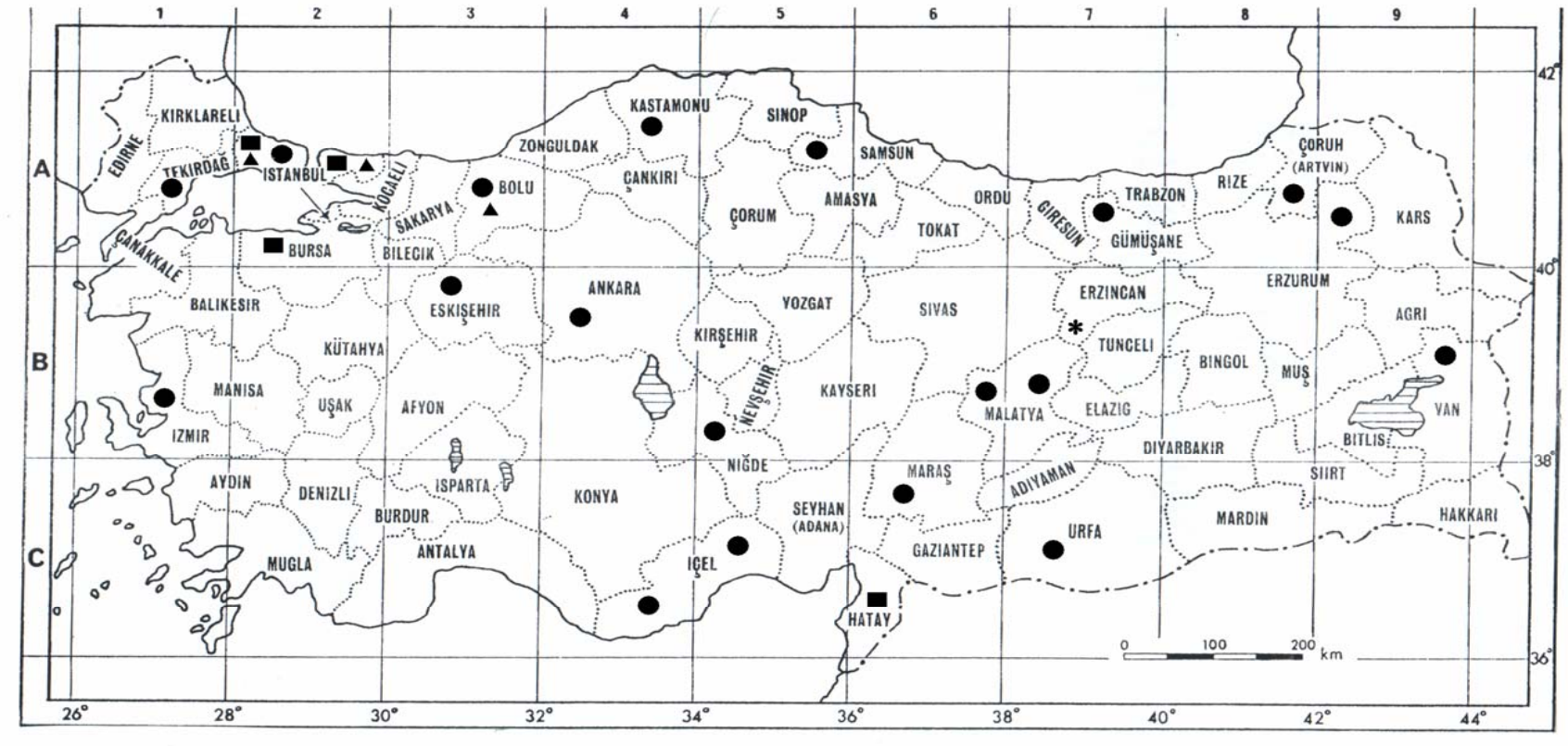
2.1.6. *Vinca soneri* M. Koyuncu (*Vinca* sp. nova)

Yarı çalımsı, dik bitkiler. Yapraklar karşılıklı, yaprak ayası çoğunlukla ovat, tabanda kuneat, tepede akut veya obtus. Korolla tüpü violet-lila renginde, petaller beyazımsı-lila renginde. Tip örneği Erzincan-Kemaliye'den toplanmıştır. Bilim dünyası için yeni tanımlanan ve *Vinca soneri* olarak isimlendirilen bu tür ile ilgili hazırlanan yayın Karaca Arboretum Dergisi'ne M. Koyuncu tarafından gönderilmiştir (Şekil 2-4).



Şekil 2-4: *V. soneri* M. Koyuncu

Şekil 2-5'de *Vinca* türlerinin Türkiye'de yetiştiği yerler gösterilmektedir.



Şekil 2-5: ***V. minor*****,** ***V. major*** **subsp.** ***major*****,** ***V. herbacea*** **ve** ***V. soneri*** **bitkilerinin Türkiye' de yetiştiği yerler**

▲*Vinca minor* L.

■*Vinca major* L. subsp. *major*

●*Vinca herbacea* Waldst. & Kit.

✱*Vinca soneri* M. Koyuncu

2.2. *Vinca* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

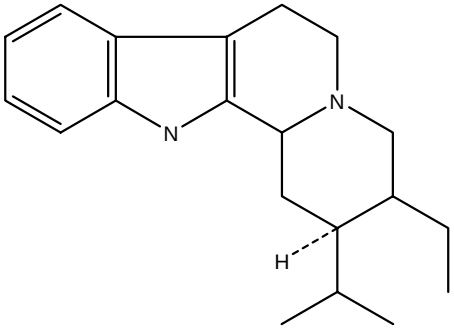
Ülkemizde *Vinca* türleri süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. *Vinca minor*'e halk arasında küçük cezayir menekşesi, *Vinca major*'e ise büyük cezayir menekşesi denir [4]. Ülkemizde halk arasında *V. minor* ve *V. major* bitkilerinin yaprakları kabız, idrar söktürücü, ateş düşürücü ve iştah açıcı olarak kullanılmaktadır [4].

Dünyada halk arasında *V. minor* diş ağrısında, yılan ısırmasında, hipertansiyonda, gaz çıkarıcı, kusturucu, hemostatik ve astrenjan olarak kullanılmaktadır. *V. major* ise Fransa'da çocuk düşürücü ve antigalaktagog olarak, Amerika'da kuvvet verici olarak, ayrıca yapraklarından hazırlanan ekstreler Güney Afrika ve Fransa'da astrenjan olarak kullanılmaktadır [5]. *V. herbacea* ve *V. soneri* halk arasında kullanılmamaktadır.

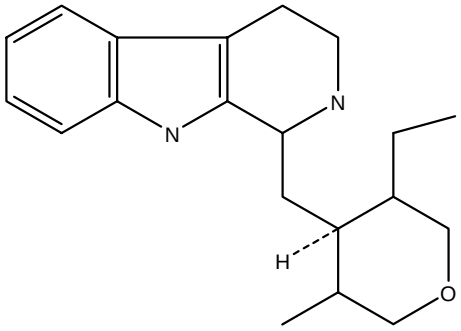
2.3. *Vinca* L. Türleri Üzerinde Yapılan Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Vinca L. türleri indol tipi alkaloitler içermektedirler. İndol alkaloitleri 8 iskelet sınıfına ayrılmaktadır [6]. (Şekil 2-6);

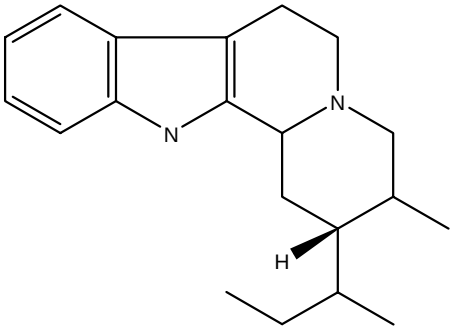
a) Corynanthean
b) Vincosan
c) Vallesiachotaman
d) Strychan
e) Aspidospermatan
f) Eburnan
g) Plumeran
h) Ibogan



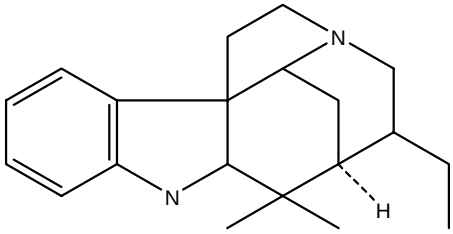
Corynanthean



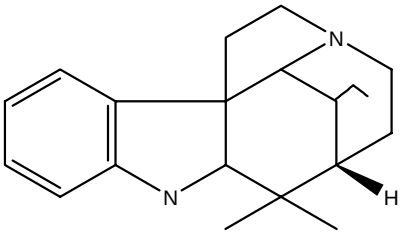
Vincosan



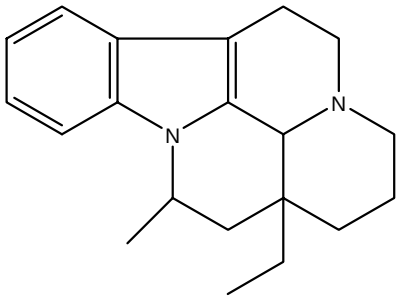
Vallesiachotaman



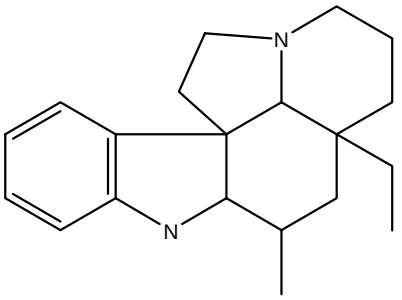
Strychan



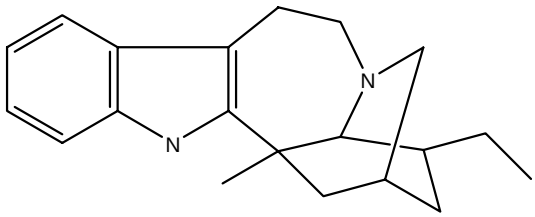
Aspidospermatan



Eburnan



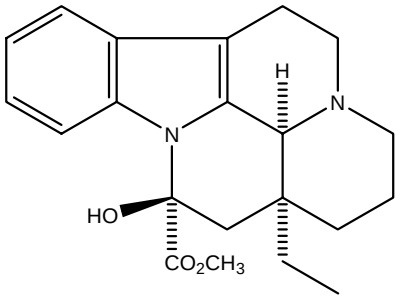
Plumeran



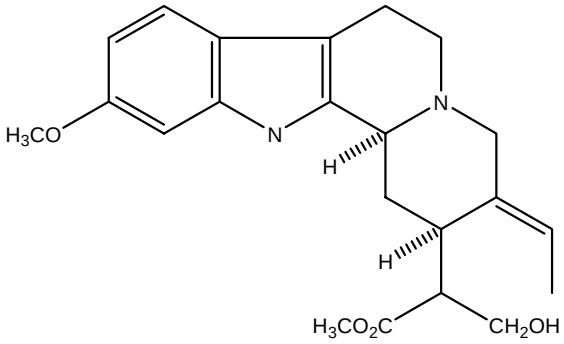
Ibogan

Şekil 2-6: İndol alkaloitleri iskelet türleri

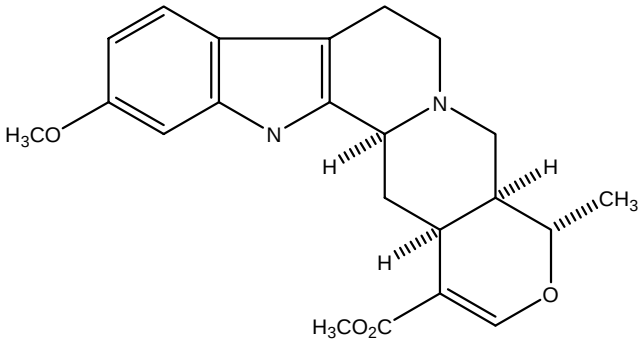
Vinca türleri indol alkaloitlerinden en çok corynanthean, plumeran, eburnan ve aspidospermatan tipi alkaloitleri içermektedir. Şekil 2-7'de *Vinca* türlerinde en çok rastlanan indol alkaloitleri gösterilmektedir [7].



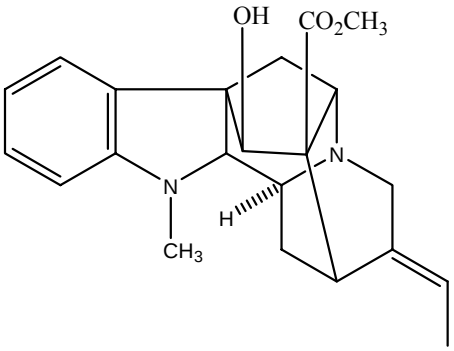
Vincamin



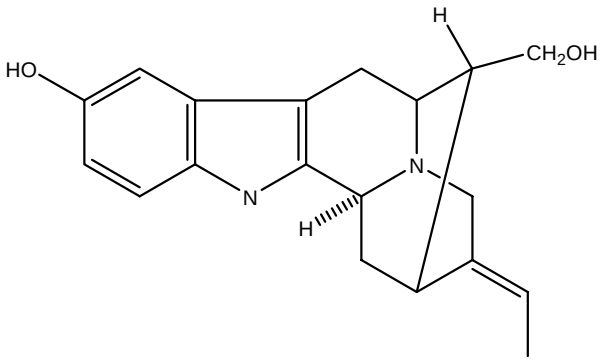
Hervin



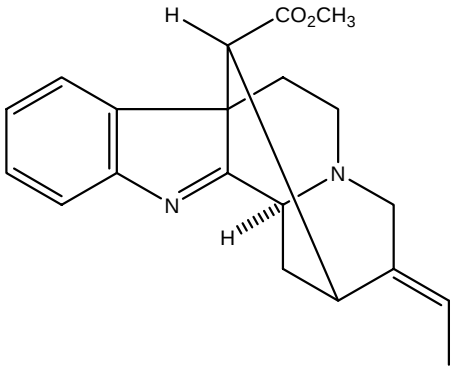
Reserpinin



Vincamajin

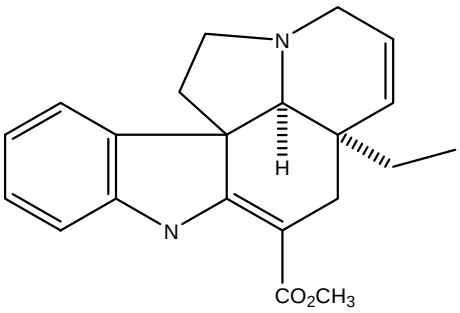


Sarpagin

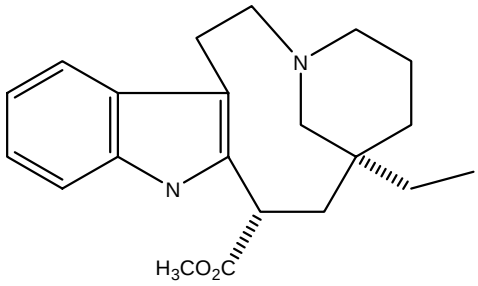


Strictamin

Şekil 2-7: *Vinca* türlerinde en çok rastlanan indol alkaloit türleri



(-)-Tabersonin



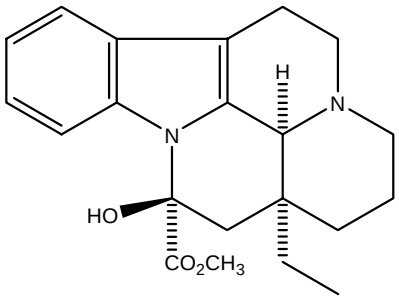
Vincadin

Şekil 2-7: *Vinca* türlerinde en çok rastlanan indol alkaloit türleri (Devamı)

Ayrıca *Vinca* türleri glikozitler, terpenler, steroller, saponinler ve hidrokarbonlar da içermektedirler [5].

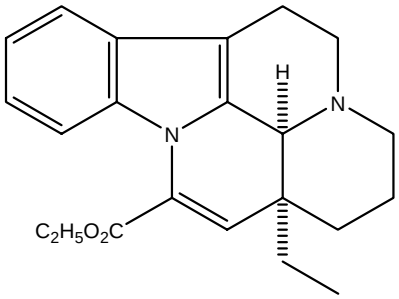
V. minor yapraklarından hazırlanan ekstrenin *Staphyllococcus aureus*'u inhibe edici etki gösterdiği belirlenmiştir [5].

Vincamin (Şekil 2-8) ilk olarak *V. minor*'den elde edilen ve diğer *Vinca* türlerinde sıklıkla rastlanan biyolojik açıdan çok önemli bir alkaloittir. Avrupa ülkelerinde özellikle Macaristan'da hipertansiyon tedavisinde, boğaz iltihabında, migren tipi baş ağrılarında kullanılmaktadır [5]. Günümüzde vincamin vasodilator preparatların terkibinde yer almaktadır [8].



Şekil 2-8: Vincamin

Vinpocetin (Şekil 2-9), *V. minor* L. yapraklarından elde edilen vincamin alkaloitinden sentezlenmiştir. Vinpocetin Cavinton ticari adı altında piyasaya sürülmüştür. İlaç 1978 yılında satışa çıkarıldığından beri birçok ülkede çeşitli serebrovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisi amacıyla nöroprotektif ajan olarak kullanılmaktadır [9].



Şekil 2-9: Vinpocetin

Serebrovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan pentoksifillin, piracetam ve vinpocetin ilaçlarının antioksidan kapasitelerinin araştırıldığı çalışmada vinpocetin'in diğerlerinden daha iyi antioksidan etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [10].

Reaktif oksijen türleri sinir hücrelerini tahrip eder ve öldürürler, bunun sonucunda Alzheimer gibi çeşitli hastalıklar meydana gelir. İn vitro oksidatif stres modelleri kullanılarak yapılan çalışmada vinpocetinin reaktif oksijen türlerine karşı hücreleri koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir [11].

Vinpocetin'in hidroksil radikalini süpürücü kapasitesi aromatik hidroksilasyon ve deoksiriboz degredasyon metodlarıyla in vitro olarak araştırılmış ve vinpocetinin antioksidan etkisi vitamin E'ye yakın, mannitolden ise daha yüksek bulunmuştur [12].

*V. major'*den elde edilen vinin'in hayvanlarda hipotensif etki ortaya çıkardığı, reserpinin ve perivincin'in (vincamin+vincin) ise geçici hipotensif etki gösterdiği belirlenmiştir [5].

*V. herbacea'*den elde edilen alkaloitlerin antimikrobiyal, hipotensif ve kas gevşetici özellik gösterdiği tesbit edilmiştir. *V. herbacea'*den elde edilen lochnerinin isimli alkaloitin sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. [5].

2.4. Antioksidanlar

Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler oksidasyona uğrayabilmekte ve böylece canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşabilmektedir. Bu durum "Oksidatif Stres" şeklinde ifade edilmektedir [13].

Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir. Reaktif oksijen ve azot türleri radikalik ve radikalik olmayan türleri içermektedir [14, 15]. Radikalik oksijen türlerine, süperoksit anyon ($O^{\cdot}{}_2^-$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksit ($HOO^{\cdot}$) ve alkoksi ($RO^{\cdot}$) radikalleri; azot türlerine, azot monoksit ($NO^{\cdot}$) radikalleri örnek verilebilir. Radikalik olmayan oksijen türlerine ise, hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3) ve singlet oksijen ($^1O_2$); azot türlerine ise, nitröz asit (HNO_2), nitrozil katyonu (NO^+) ve nitroksi anyonu (NO^-) örnek olarak verilebilir [15]. Ayrıca bu radikallerin yanı sıra tiyol radikalleri ($RS^{\cdot}$) ve karbon merkezli radikaller de mevcuttur [16].

Reaktif oksijen ve reaktif azot türleri insan vücudunda değişik nedenlerle meydana gelmektedir. Bazıları, biyokimyasal döngü içerisinde olmaması gereken kimyasal reaksiyonlar neticesinde meydana gelmektedir. Örneğin, süperoksit ve hidrojen peroksit miktarı, bazı biyomoleküllerde (adrenalin, dopamin, tetrahidrofolat ile mitokondrial ve sitokrom P450) oksijen tarafından doğrudan oksidasyonla artmaktadır. Yabancı organizmalara karşı koruyucu görev yapan fagositler (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eosinofiller) yabancı organizmayı öldürmek için süperoksit ve hidrojen peroksit üretmektedirler. Bu önemli savunma sisteminin bozulması bazı hastalıklara sebep olmaktadır. Azot monoksit (NO) kan basıncının ve platelet fonksiyonun düzenlenmesi gibi birçok faydalı işleve sahiptir. Fakat aşırı azot monoksit üretimi kronik iltihaplanma, felç ve septik şoka sebep olmaktadır. Ayrıca serbest radikaller dışarıdan da alınabilirler; sigara dumanı, iyonize olmuş radyasyon, organik çözücüler ve pestisitler. Serbest radikaller yiyeceklerde lipit peroksidasyonuna neden olurlar, bu da

yiyeceklerin bozulmasına yol açar. Reaktif oksijen ve reaktif azot türleri DNA hasarına neden olabilirler, DNA hasar gördüğünde mutasyon meydana gelebilir. Buna ilaveten reaktif oksijen ve reaktif azot türleri sıtma, kalp hastalıkları, arterio sklerosis, şeker ve kanser gibi 100'den fazla hastalığa yol açmaktadırlar. Antioksidanlar insan vücudunda reaktif oksijen türlerinin verebileceği zararları yok ederler veya en aza indirgerler [13, 15]. Antioksidan madde bakımından zengin olan sebze ve meyvelerin tüketilmesi reaktif oksijen türlerinin neden olduğu doku hasarına bağlı hastalıklardan insanları korumaktadır [17, 18].

Diğer taraftan işlenmiş gıdaların bozunmasını önlediği ve raf ömrünü uzattığı için sentetik antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Günümüzde BHA (Bütillenmiş hidroksi anisol), BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütilhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidan maddelerdir. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli kanser hastalıklarına neden oldukları tesbit edilmiştir [19-21]. Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidanların bulunması için yapılan çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır.

Askorbik asit ve tokoferoller ticari amaçla kullanılan en önemli doğal antioksidanlardır. Karotenoitler, fenolik bileşikler, flavonoitler, amino asitler ve enzimatik antioksidanlar (glukoz oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz) diğer doğal antioksidan kaynaklarıdır [16].

2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, reaksiyon mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Bazı antioksidanlar birden fazla aktivite mekanizması gösterirler ve bunlar çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır [16].

2.4.1.1. Birincil Antioksidanlar

Birincil antioksidanlar (tip-1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali ($R^{\cdot}$) oluşturmak için, doymamış yağdan α-metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar [16].

$$R\text{-}H \xrightarrow{{}^1O_2} R\text{-}O\text{-}O\text{-}H$$

$$R\text{-}O\text{-}O\text{-}H \longrightarrow RO^{\bullet} + {}^{\bullet}OH$$

$$RH \longrightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Oluşan lipit radikali çok reaktiftir, ilerleyen aşamalarda peroksi radikali ($ROO^{\cdot}$) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer [16].

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Reaksiyonun ilerleyen aşamalarında peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar [16].

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

Daha sonra bu lipit radikali başka peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Bu oksidatif mekanizma kendiliğinden katalizlenir ve böylece otooksidasyon devam eder [16].

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Hidroperoksitler (ROOH) kararsızdırlar ve bozunarak radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına neden olur [16].

$$ROOH \longrightarrow RO^{\bullet} + HO^{\bullet}$$

$$RO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROH + R^{\bullet}$$

Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikali ($R^{\cdot}$) ve peroksi radikallerle ($ROO^{\cdot}$) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipit türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler ($A^{\cdot}$). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi ($ROO^{\cdot}$) ve oksi ($RO^{\cdot}$) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipit radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler [16].

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet}$$

$$RO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROH + A^{\bullet}$$

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet}$$

Hidrojenin verilmesiyle oluşan antioksidan radikali lipitlerle çok az reaksiyona girer. Oksijen veya lipitlerle antioksidan radikalinin reaksiyonu çok yavaş olduğundan reaksiyon hızı azalır. Kararlı rezonans hibritler oluşturmak için fenol halkasının çevresindeki ortaklanmamış elektronun delokalizasyonu ile antioksidan radikali kararlı hale getirilir. Antioksidan radikaller peroksi, oksi ve diğer antioksidan radikaller ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilme yeteneğine sahiptirler [16].

$$ROO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROOA$$

$$RO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROA$$

$$A^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow AA$$

Katı ve sıvı yağlarda antioksidan dimerlerin oluşumu göze çarpar ve bu oluşum fenolik antioksidan radikallerin kolayca sonlandırma reaksiyonlarına uğradığını gösterir. Antioksidan, radikal olmayan şeklinde ne kadar uzun süre kalırsa antioksidan dimerler otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar [16].

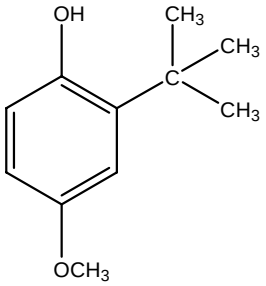
Otooksidasyonun başlangıcından önce, antioksidanların tüketildiği ve serbest radikallerin oluştuğu indüksiyon zamanı olmalıdır. Bu yüzden birincil antioksidanlar, otooksidasyon basamakları meydana gelmeden oksidasyonun indüksiyon ve başlangıç aşamalarında ilave edilirlerse daha etkili olurlar [16].

Radikal gidermeye ilaveten birincil antioksidanlar, hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilirler. Bununla beraber birincil antioksidanların esas antioksidatif mekanizması radikal gidermedir [16].

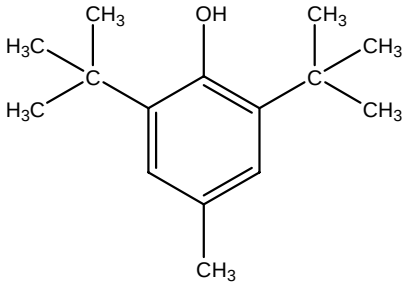
Birincil antioksidanlar, çeşitli halka sübstitüsyonlarına sahip mono veya polihidroksi fenollerdir. Fenoldeki hidroksil grubuna göre orto ve para konumuna elektron veren grupların sübstitüsyonundan oluşan indüktif etki bileşiğin antioksidan aktivitesini arttırır. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütil grupların sübstitüsyonu, antioksidan aktiviteyi arttırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlarındaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı

antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının sübstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırırlar ve antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltır [16].

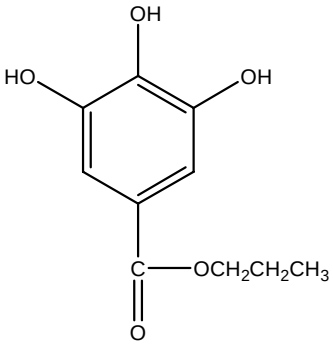
Sentetik birincil antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve t-bütil hidrokinon (TBHQ) verilebilir (Şekil 2-10). Tokoferoller ve karotenoitler doğal kaynaklı birincil antioksidanlardır [16].



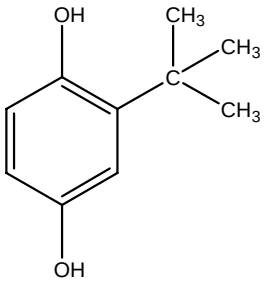
Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)



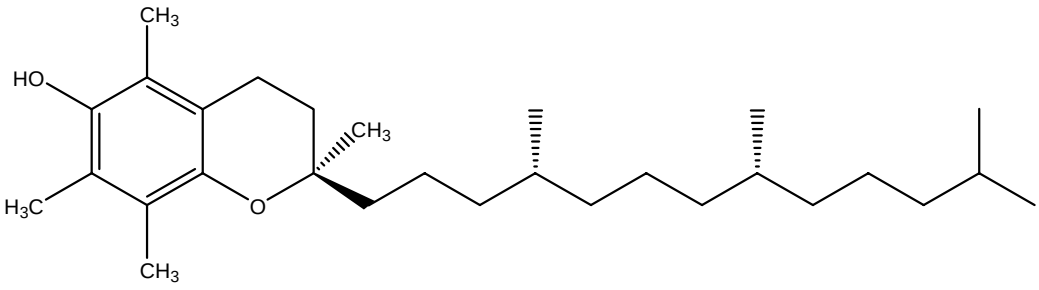
Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT)



Propil gallat



***t*-Bütil hidrokinon (TBHQ)**



α-Tokoferol (Vitamin E)

Şekil 2-10: Birincil antioksidanlar

2.4.1.2. İkincil Antioksidanlar

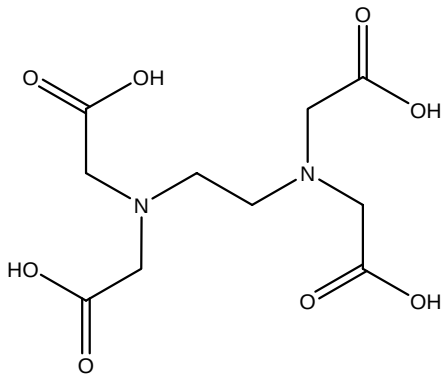
İkincil (tip-2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar prooksidan metallerle kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet oksijeni deaktive edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar sıklıkla birincil antioksidanların antioksidan aktivitesini arttırırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β-karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilirler [16] (Şekil 2-11).

İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre 3 gruba ayrılabilir [16]:

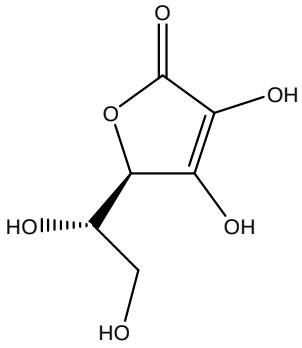
a) Kelat Yapıcılar: Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit

b) Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları: Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfitler.

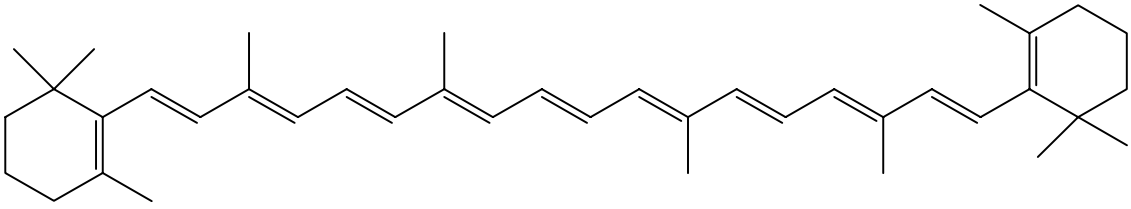
c) Singlet Oksijen Gidericiler: Karotenoitler (β-Karoten, likopen ve lutein)



Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)



Askorbik asit



β-Karoten (A vitamini)

Şekil 2-11: İkincil antioksidanlar

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyaller

Vinca minor L. (Herbaryum No: AEF 22950) ve *Vinca major* L. subsp. *major* (Herbaryum No: AEF 23802) bitkileri Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi bahçesinden 29.05.2006 tarihinde Doç.Dr. Murat Kartal ve Mahmoud Abu-Asaker tarafından toplandı. Doç.Dr. Murat Kartal tarafından teşhis edilen bitki örnekleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'unda kayıtlıdır.

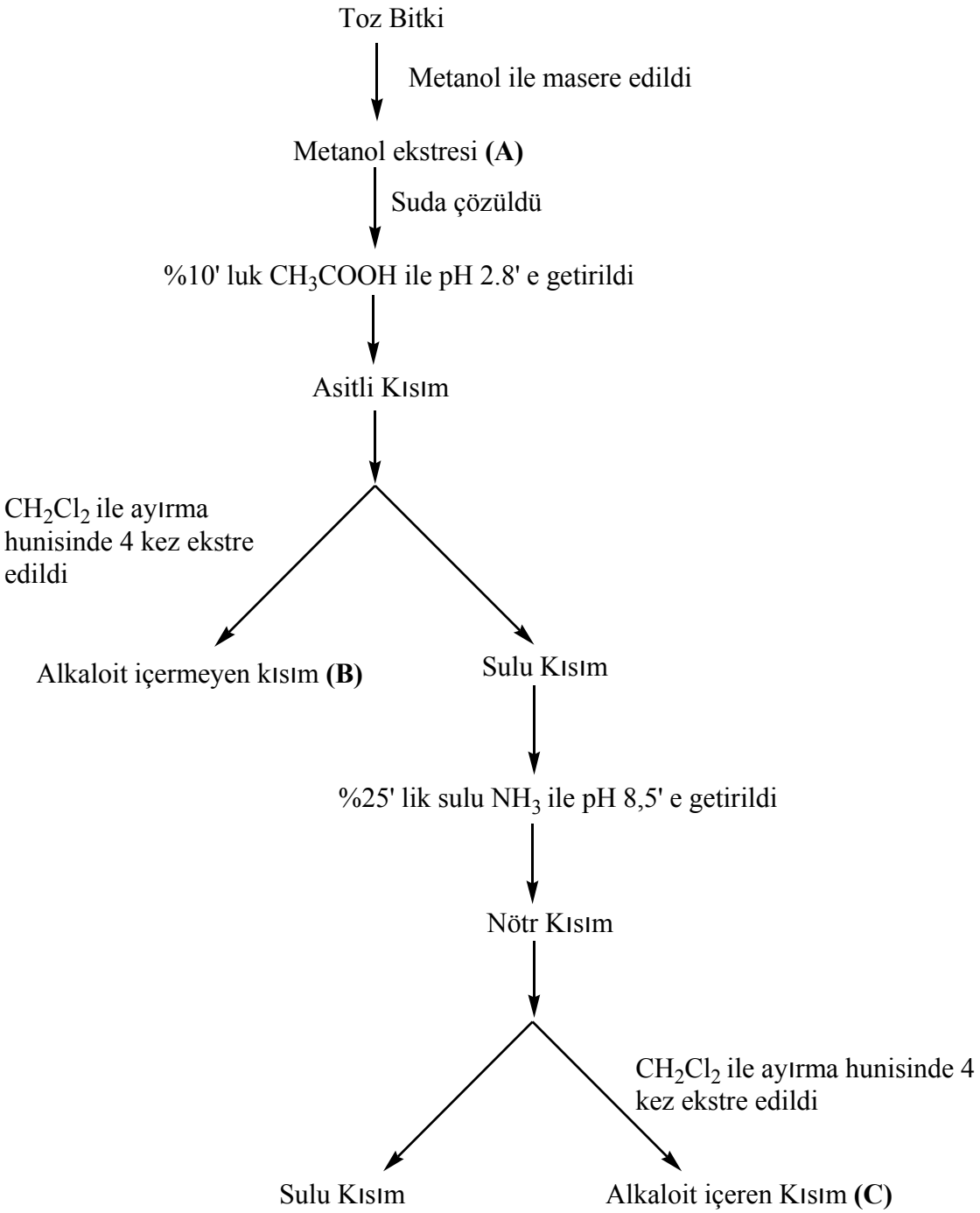
Vinca herbacea Waldst & Kit. (Herbaryum No: AEF 22947) Çubuk 1 barajı Yamaçlar Ankara'dan 08.06.2006 tarihinde Doç.Dr. Murat Kartal ve Mahmoud Abu-Asaker tarafından toplandı ve Doç.Dr. Murat Kartal tarafından teşhis edildi. Bitki örnekleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'unda kayıtlıdır.

Vinca soneri M. Koyuncu (Herbaryum No: AEF 22948) bitkisi Sırakonaklar Köyü, Kemaliye Erzincan'dan 21.05.2006 tarihinde Mahmoud Abu-Asaker tarafından toplandı. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'unda bulunan örnek Prof. Dr. Mehmet Koyuncu tarafından teşhis edilerek botanik tanımlaması ve adlandırılması yapıldı.

3.2. Ekstrelerin Hazırlanışı

Bitkilerin toprak üstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra toz edildi. Toz edilen bitkiler *V. minor* (250 g) (**I**) 1,5 L, *V. major* subsp. *major* (250 g) (**II**)1,5 L, *V. herbacea* (300 g) (**III**) 1,5 L ve *V. soneri* (1200 g) (**IV**) 5 L metanol ile üçer kez (24 saat) masere edildi. Rotaevaporatörde çözücüleri uçurulduktan sonra elde edilen metanol ekstrelerine **A** sembolü verildi ve sırasıyla (**AI** 31,45 g, **AII** 32,37 g, **AIII** 40 g, **AIV** 112,47 g) olarak tartıldı. Bu ekstreler az miktarda suda çözüldükten sonra %10'luk asetik asit ile pH 2,8'e getirildi ve ayırma hunisinde diklorometan ile ekstre edildi. Diklorometan fazına geçen kısım alkaloit içermemektedir. Diklorometan rotaevaporatörde uçuruldu, elde edilen ekstrelere **B** sembolü verildi (**BI** 10,74 g, **BII** 10,08 g, **BIII** 8,60 g, **BIV** 41,77 g). Daha sonra ayırma hunisinde kalan sulu kısım %25'lik amonyak ile pH 8,5'a ayarlandı ve diklorometan ile ekstre edildi. Bu işlem sulu fazda alkaloit kalmayıncaya kadar tekrar edildi. Alkaloit teşhisi, sulu kısmın ince tabaka kromatografisinde

alüminyum oksit plaklar kullanılarak Dragendorf belirteci ile turuncu renk vermesiyle yapıldı. Diklorometan fazına geçen kısım alkaloit içermektedir. Diklorometan rotaevaporatörde uçuruldu, böylece elde edilen ekstrelere **C** sembolü verildi (**CI** 0,56 g, **CII** 1,54 g, **CIII** 1,66 g, **CIV** 1,29 g). Şekil 3-1'de ekstrelerin hazırlanışı gösterilmektedir [22].



Şekil 3-1: Ekstrelerin hazırlanılışı

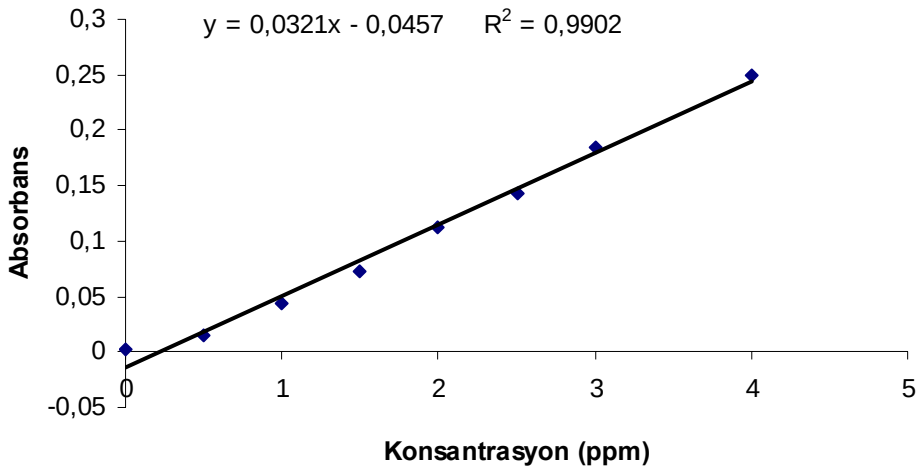
3.3. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

3.3.1. Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi

Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi [19]. Metanol (**AI**, **AII**, **AIII**, **AIV**), alkaloit içermeyen (**BI**, **BII**, **BIII**, **BIV**) ve alkaloit içeren ekstrelerin (**CI**, **CII**, **CIII**, **CIV**) 1000 ppm konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı. 1 mg ekstre içeren örnek çözeltileri distile su ile 46 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 1 mL Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ve 3 dak sonra %2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Karışım 2 saat süresince oda sıcaklığında çalkalandı ve örneklerin absorbansları 760 nm'de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart pirokatekol grafiğinden (Şekil 3-2) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi [19]:

Absorbans = 0,0321(µg) - 0,0457 (R^2: 0,9902)

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı.



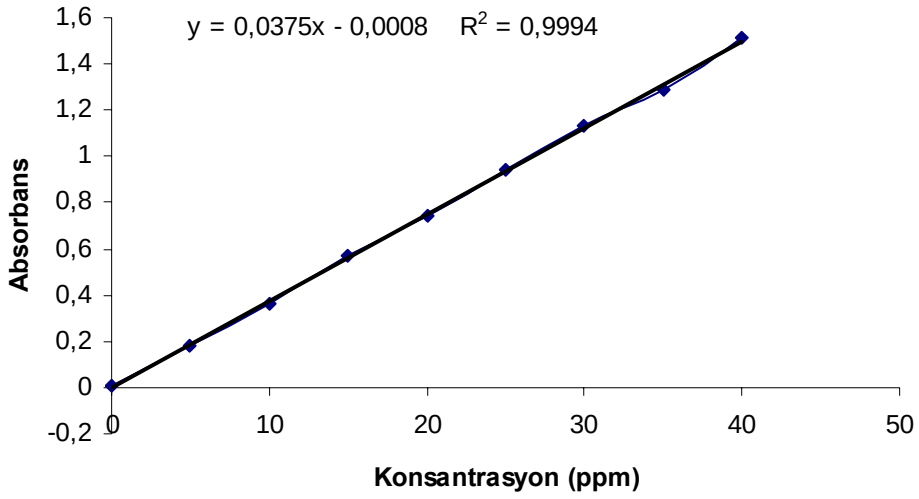
Şekil 3-2: Pirokatekolün ölçü grafiği

3.3.2. Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

Hazırlanan ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat metodu ile belirlendi [23]. 1000 ppm'lik kersetin çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 ve 200 µL alınarak hacimleri %80'lik etanol ile 4,8 mL'ye tamamlandı. 0,1 mL 1 M potasyum asetat eklendi ve bir dakika sonra 0,1 mL %10'luk alüminyum nitrat ilave edildi. 40 dakika inkübasyon süresinden sonra 415 nm'de kontrole karşı UV spektrofotometresinde absorbansları okundu. Aynı şekilde metanol (**AI**, **AII**, **AIII**, **AIV**), alkaloit içermeyen (**BI**, **BII**, **BIII**, **BIV**) ve alkaloit içeren ekstrelerin (**CI**, **CII**, **CIII**, **CIV**) tek konsantrasyonda (100 ppm) hazırlanan çözeltilerinin de absorbans değerleri okundu. Ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri, standart kersetin grafiğinden (Şekil 3-3) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi [23]:

Absorbans = 0,0375(µg) -0,0008 (R^2 : 0,9994)

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı.



Şekil 3-3: Kersetinin ölçü grafiği

3.4. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için bitkilerin metanol ekstreleri, alkaloit içermeyen ekstreleri ve alkaloit içeren ekstrelerinde β-karoten-linoleik asit test sistemi ile toplam antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi tayini ve metal bağlama aktiviteleri tayin edildi. Önce hazırlanan tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit içeriklerinin tayini yapıldı.

3.4.1. β-Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Toplam Antioksidan Aktivite Tayini)

β-Karoten-linoleik asit test sistemi, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır [24]. Bitkilerin 10 mg metanol ekstreleri (**AI**, **AII**, **AIII**, **AIV**), 10 mg alkaloit içermeyen ekstreleri (**BI**, **BII**, **BIII**, **BIV**) ve 10 mg alkaloit içeren ekstreleri (**CI**, **CII**, **CIII**, **CIV**) 10 mL etanolde çözerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 50, 125, 250 ve 500 µL alınarak distile su ile hacimleri 1 mL'ye tamamlandı ve üzerlerine β-karoten-linoleik asit çözeltisinden her bir örneğe 4 mL ilave edilir edilmez ultraviyole spektrofotometresi kullanılarak başlangıç absorbansları 490 nm'de ölçüldü. Hazırlanan çözeltiler 50 ^{o}C'de 120 dakika bekletildi [24]. Bu süre sonunda absorbanslar tekrar ölçüldü. β-Karotenin renk açılım oranı aşağıdaki formül ile hesaplandı [25].

$R = \ln (a/b)/t$

ln=doğal logaritma

a=başlangıç absorbansı

b= t zaman (dakika) inkübasyonundan sonraki absorbans.

Toplam antioksidan aktivite, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

Toplam Antioksidan Aktivite (%İnhibisyon) = $[(R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}] \times 100$

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT ve α-Toc kullanıldı.

3.4.2. DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi

Ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil serbest radikali (DPPH) kullanılarak belirlendi. Bitkilerin 10 mg metanol ekstreleri (**AI**, **AII**, **AIII**, **AIV**), 10 mg alkaloit içermeyen ekstreleri **(BI**, **BII**, **BIII**, **BIV**) ve 10 mg alkaloit içeren ekstreleri (**CI**, **CII**, **CIII**, **CIV**) 10 mL etanolde çözerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 50, 125, 250 ve 500 µL alınarak etanol ile hacimleri 1

mL'ye tamamlandı ve üzerlerine 0,1 mM DPPH çözeltisinden 4 mL ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen bu absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandı. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi [26]. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı [27].

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

A: Absorbans

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT ve α-Toc kullanıldı.

3.4.3. Metal Bağlama Yöntemi

Metal bağlama aktivitesi Fe(II)-Ferrozin metoduna göre belirlendi. Bitkilerin 10 mg metanol ekstreleri (**AI**, **AII**, **AIII**, **AIV**), 10 mg alkaloit içermeyen ekstreleri (**BI**, **BII**, **BIII**, **BIV**) ve 10 mg alkaloit içeren ekstreleri (**CI**, **CII**, **CIII**, **CIV**) 10 mL etanolde çözerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 125, 250, 500 µL alınarak distile su ile hacimleri 4700 µL'ye tamamlandı ve üzerlerine 100 µL 2 mM'lık Fe(II) ve 200 µL 5 mM'lık ferrozin reaktifleri eklendi. 10 dakika inkübasyondan sonra 562 nm'de absorbansları okundu [28]. Metal bağlama aktivitesi (% İnhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

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

A: Absorbans

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı. Standart olarak kersetin ve EDTA kullanıldı.

3.4.4. İstatistik Hesaplamalar

Sonuçlar 5 paralel testin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Sonuçlar Student *t* testine göre %95 güven sınırları içinde bulunmuştur. Paralel ölçümler arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapılmıştır.

3.5. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

3.5.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

β-karoten, linoleik asit, kersetin, pirokatekol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen (BHT), potasyum iyodür, Folin-Ciocalteu reaktifi ve α-tokoferol Sigma firmasından (St. Louis); demir (II) klorür tetrahidrat, ferrozin (3-(2-piridil)-5,6-bis-(4-fenilsülfonik asit)-1,2,4-triazin monosodyum tuzu), Tween-40, kloroform, diklorometan, metanol, etanol, alüminyum nitrat, potasyum asetat, asetik asit, %25'lik amonyak ve alüminyum oksit plak (1.05550) E. Merck (Darmstadt, Almanya), sodyum karbonat, bizmut (III) nitrat Riedel-de-Haen firmasından temin edildi. Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.5.2. Çözeltilerin Hazırlanması

3.5.2.1. β-Karoten-Linoleik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

β-Karoten çözeltisi, 0,2 mg β-karotenin 1 mL kloroformda çözülmesiyle hazırlandı. Bu çözeltiye 20 μg linoleik asit ve 200 mg Tween 40 ilave edildi. Kloroform rotaevaporatörde uçurulduktan sonra 50 mL oksijen gazı ile doyurulmuş destile su ilave edildi ve kuvvetlice karıştırıldı.

3.5.2.2. 0,1 mM DPPH Çözeltisinin Hazırlanması

4 mg DPPH 100 mL etanolde çözülerek DPPH çözeltisi hazırlandı.

3.5.2.3. 2 mM $FeCl_2$ Çözeltisinin Hazırlanması

0,0096 g $FeCl_2$ 25 mL suda çözülerek $FeCl_2$ çözeltisi hazırlandı.

3.5.2.4. 5 mM Ferrozin 3-(2-piridil)-5,6-bis-(4-fenilsülfonik asit)-1,2,4-triazin mono sodyum tuzu Çözeltisinin Hazırlanması

0,06156 g ferrozin 25 mL suda çözülerek ferrozin çözeltisi hazırlandı.

3.5.2.5. %2'lik Na_2CO_3 Çözeltisinin Hazırlanması

2 g Na_2CO_3 su ile 100 mL'ye tamamlanarak %2'lik Na_2CO_3 çözeltisi hazırlandı.

3.5.2.6. %10'luk Alüminyum Nitrat Çözeltisinin Hazırlanması

1,76 g $Al(NO_3)_3.9H_2O$ bileşiği su ile 10 mL'ye tamamlandı. Böylece %10'luk alüminyum nitrat çözeltisi hazırlandı.

3.5.2.7. 1 M Potasyum Asetat Çözeltisinin Hazırlanması

0,9615 g potasyum asetat 10 mL suda çözülerek potasyum asetat çözeltisi hazırlandı.

3.5.2.8. Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

a) Kersetin Çözeltisinin Hazırlanması

25,8 mg kersetin 25 mL etil alkolde çözülerek 1000 ppm'lik konsantrasyonda kersetin çözeltisi hazırlandı.

b) Pirokatekol Çözeltisinin Hazırlanması

10 mg pirokatekol 100 mL su ile çözülerek 100 ppm'lik pirokatekol çözeltisi hazırlandı.

c) BHT (2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen) Çözeltisinin Hazırlanması

10 mg BHT 10 mL etanol içide çözülerek 1000 ppm'lik BHT çözeltisi hazırlandı.

d) EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) Çözeltisinin Hazırlanması

10 mg EDTA 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm'lik EDTA çözeltisi hazırlandı.

e) α-Tokoferol Çözeltisinin Hazırlanması

%97'lik 10,31 mg α-tokoferol 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm'lik α-tokoferol çözeltisi hazırlandı.

3.5.3. Dragendorf Belirtecinin Hazırlanması

Çözelti A:

4,25 g Bizmutsubnitrat 250 mL su ile çözüldü. Hazırlanan çözeltinin üzerine 50 mL glasiyel asetik asit ilave edildi.

Çözelti B:

40 g potasyum iyodür 100 mL suda çözüldü.

25 mL çözelti A, 25 mL çözelti B, 100 mL glasiyel asetik asit ve 350 mL su karıştırılarak 500 mL Dragendorf belirteci hazırlandı.

3.6. Cihazlar ve Diğer Gereçler

UV Spektrofotometresi (Shimadzu UV-1601, Japonya)

Rotaevaporator (Büchi, İsviçre)

Otomatik pipetler (20-200 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL) (Eppendorf, Almanya)

Hassas terazi (Scaltec SBA 31)

Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)

pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)

Ultra saf su cihazı (Younglin Instrument, aquaMAX-Ultra, Kore)

Hesap makinası (Casiofx-3600 PA, Japonya)

Pulverizatör

Azot tüpü

Oksijen tüpü

1cm'lik cam küvetler

Balon jojeler (10, 25, 50, 100 mL)

Magnetler

Armudi cam balonlar

Tanklar

Ayırma hunileri (1 L'lik)

4. BULGULAR

Bitki örneklerinin toprak üstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra toz edildi, metanol ile üçer kez masere edildi (24 saat). Rotaevaporatörde çözücüleri uçuruldu, elde edilen metanol ekstrelerine **A** sembolü verildi. Bu ekstreler az miktarda suda çözüldükten sonra %10'luk asetik asit ile pH 2,8'e getirildi ve ayırma hunisinde diklorometan ile ekstre edildi. Diklorometan fazına geçen kısımda alkaloit bulunmamaktadır. Diklorometan rotaevaporatörde uçuruldu, elde edilen ekstrelere **B** sembolü verildi. Daha sonra ayırma hunisinde kalan sulu kısım %25'lik amonyak ile pH 8,5'a ayarlandı ve diklorometan ile ekstre edildi. Diklorometan fazına geçen kısım alkaloit içermektedir. Diklorometan rotaevaporatörde uçuruldu, böylece elde edilen ekstrelere **C** sembolü verildi. Tablo 4-1'de kuru toz halindeki bitki örneklerinin ve bunlardan hazırlanan ekstrelerin miktarları ve % verimleri verilmiştir.

Tablo 4-1: Kuru bitki miktarları, ekstre miktarları ve % verimleri

***Vinca* Türleri**	**Kuru Toz Bitki (gram)**	**Ekstreler**	**Ekstre miktarları (gram)**	**% Verim**
V. minor (**I**)	250	AI	31,45	%12,58
		BI	10,74	%4,30
		CI	0,56	%0,22
V. major subsp. *major* (**II**)	250	AII	32,37	%12,95
		BII	10,08	%4,03
		CII	1,54	%0,62
V. herbacea (**III**)	300	AIII	40,00	%13,33
		BIII	8,60	%2,87
		CIII	1,66	%0,55
V. soneri (**IV**)	1200	AIV	112,47	%9,37
		BIV	41,77	%3,48
		CIV	1,29	%0,11

4.1. Toplam Fenolik ve Flavonoit İçerikleri

Fenolik bileşikler serbest radikallerin giderimi aşamasında önemli rol oynamaktadır. Fenollerdeki hidroksil grupları, radikalleri yok ederler ve sistemin antioksidan etkisine doğrudan katkıda bulunurlar [29].

Toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi [19], toplam flavonoit içerikleri ise kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat metodu ile belirlendi [23].

Vinca herbacea bitkisinin alkaloit içeren ekstresi (**CIII**) diğer ekstrelere göre en yüksek miktarda fenolik madde içermektedir. Alkaloit içermeyen ekstrelerin (**BI, BII, BIII, BIV**) diğer ekstrelerden (**A** ve **C** ekstreleri) daha yüksek flavonoit içeriğe sahip olduğu belirlendi. Tablo 4-2'de görüldüğü gibi *Vinca major* subsp. *major* bitkisinin alkaloit içermeyen ekstresi (**BII**) en yüksek flavonoit içeriğe sahiptir.

Tablo 4-2: *Vinca* bitkilerinin metanol, alkaloit içermeyen ve alkaloit içeren ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri [a]

***Vinca* Türleri**	**Eksreler**	**Fenolik içerik (μg PEs/mg ekstre)[b]**	**Flavonoit içerik (μg QEs/mg ekstre)[c]**
V. minor (**I**)	AI	124,30±0,62	42,72±1,73
	BI	131,41±0,24	97,07±1,22
	CI	263,14±7,34	8,46±1,23
V. major subsp. *major* (**II**)	AII	115,06±4,81	121,65±0,51
	BII	121,03±15,29	212,74±4,19
	CII	279,85±8,51	28,24±0,61
V. herbacea (**III**)	AIII	177,34±0,86	65,12±0,27
	BIII	144,55±0,16	125,45±0,52
	CIII	287,23±9,03	45,81±0,37
V. soneri (**IV**)	AIV	125,62±12,23	77,33±0,75
	BIV	127,41±6,61	153,23±1,84
	CIV	240,81±14,32	31,23±1,97

[a]Değerler 5 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.
[b] Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik miktarı
[c] Kersetine eşdeğer flavonoit içerik miktarı

4.2. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

β-Karoten-linoleik asit ve DPPH serbest radikal giderim test sistemleri birbirlerinin tamamlayıcısı olan yöntemlerdir [30]. Bu nedenle *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla bu iki yöntem kullanılmıştır.

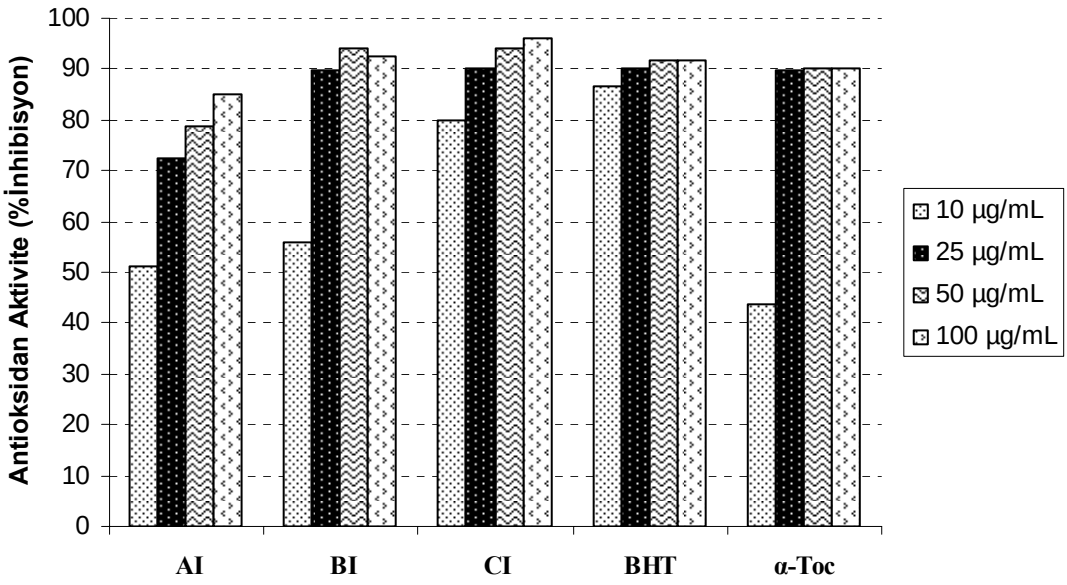
Vinca türlerinin toplam antioksidan aktiviteleri β-karoten-linoleik asit test sistemine göre belirlendi. Bu yöntemde *Vinca minor*'ün alkaloit içermeyen (**BI**) ve alkaloit içeren ekstrelerinin (**CI**) toplam antioksidan aktivitelerinin, 10 μg/mL konsantrasyon dışındaki diğer konsantrasyonlarda, standart olarak kullanılan BHT ve α-Toc'den ayrıca diğer üç türün **A**, **B** ve **C** ekstrelerinden daha yüksek olduğu tesbit edildi. Tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla antioksidan etki de artmaktadır. Tablo 4-3'te *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin β-karoten-linoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivitesi % inhibisyon olarak verilmiştir.

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT ve α-Toc kullanıldı.

Tablo 4-3: *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin β-karoten –linoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivitesi (% inhibisyon)[a]

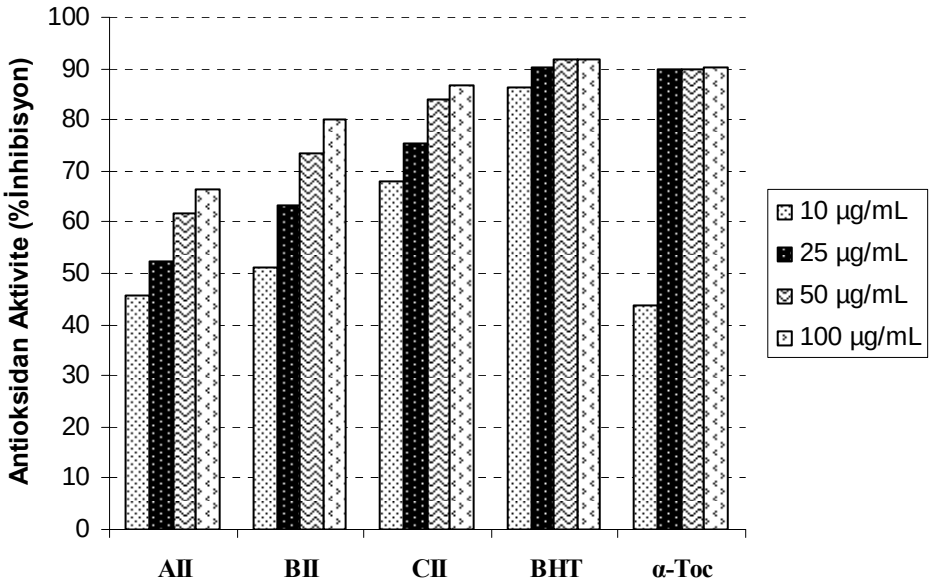
***Vinca* Türleri**	**Ekstreler**	**10 μg/mL**	**25 μg/mL**	**50 μg/mL**	**100 μg/mL**
V. minor (**I**)	AI	51,01±2,18	72,38±1,06	78,60±6,77	85,16±2,50
	BI	55,89±0,99	89,74±0,70	94,02±0,18	92,61±1,57
	CI	80,00±3,93	90,33±0,84	94,22±0,33	96,24±0,70
V. major subsp. *major* (**II**)	AII	45,60±3,15	52,36±0,28	61,73±0,11	66,59±1,08
	BII	51,20±2,44	63,21±6,50	73,38±4,52	80,04±2,60
	CII	67,93±1,57	75,27±2,69	84,06±0,17	86,69±1,58
V. herbacea (**III**)	AIII	51,98±3,69	66,30±3,66	77,10±2,38	80,41±0,01
	BIII	47,61±4,60	71,83±0,28	76,96±0,88	79,74±0,53
	CIII	67,26±1,99	80,02±0,36	84,72±0,81	83,87±0,08
V. soneri (**IV**)	AIV	53,11±1,58	56,61±3,03	64,00±2,32	66,95±0,28
	BIV	58,57±2,69	69,35±4,13	77,85±0,28	78,36±0,33
	CIV	72,96±2,28	80,81±0,14	84,34±0,46	84,41±0,08
BHT		86,51±0,12	90,14±0,10	91,84±0,03	91,92±0,33
α-Toc		43,84±2,67	89,85±0,04	89,98±0,76	90,20±0,20

[a] Değerler 5 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.



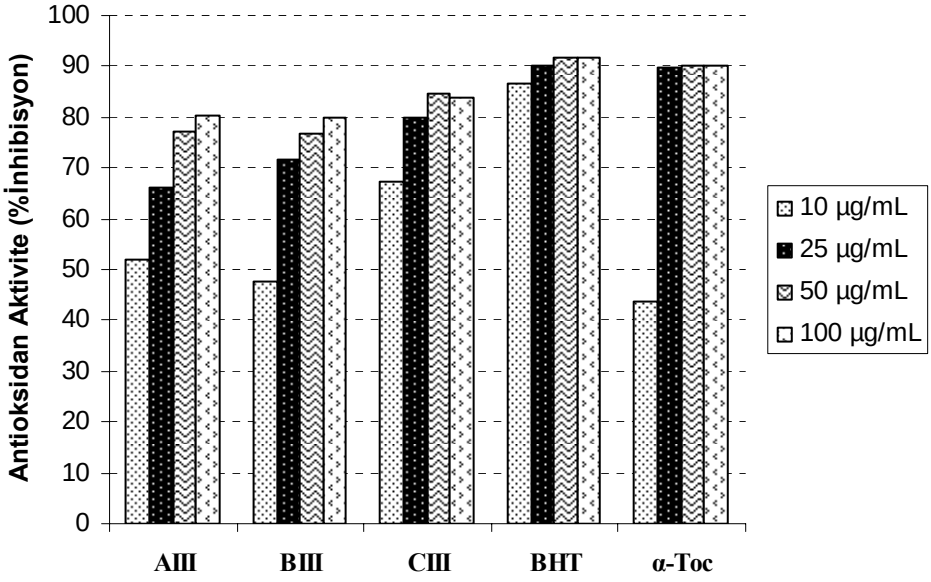
Şekil 4-1: *Vinca minor*'ün β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi

V. minor'ün **CI** ekstresinin 4 farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltisi **AI, BI,** BHT (10 µg/mL konsantrasyondaki değeri hariç) ve α-Toc'den daha yüksek % inhibisyon göstermiştir. Ayrıca *V. minor*'ün **BI** ekstresinin BHT ve α-Toc'ün 50 ile 100 µg/mL konsantrasyondaki değerinden daha fazla %inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4-1).



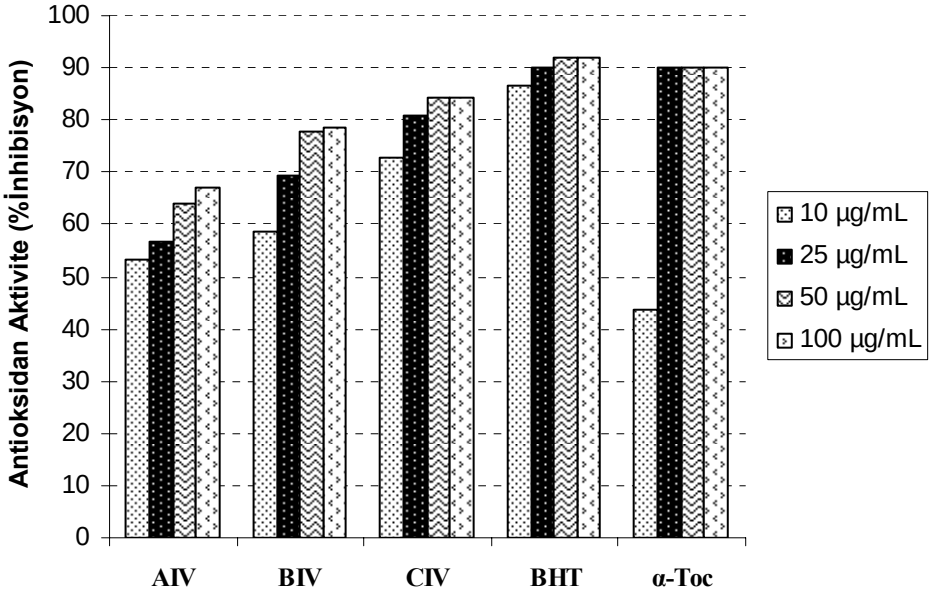
Şekil 4-2: ***Vinca major*** **subsp.** ***major*****'ün β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi**

V. major subsp. *major'*ün **CII** ekstresi **AII, BII** ekstrelerinin % inhibisyon değerlerinden yüksek, BHT ve α-Toc'den daha düşük aktivite göstermiştir. En düşük aktiviteye **AII** ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-2).



Şekil 4-3: ***Vinca herbacea*****'nin β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi**

*V. herbacea'*nin **CIII** ekstresi **AIII, BIII** ekstrelerinden daha yüksek, BHT ve α-Toc'den daha düşük aktivite göstermiştir. En düşük aktiviteye **BIII** ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-3).



Şekil 4-4: ***Vinca soneri*****'nin β-Karoten-Linoleik Asit Sistemindeki Antioksidan Aktivitesi**

*V. soneri'*nin **CIV** ekstresi **AIV, BIV** ekstrelerinden yüksek, BHT ve α-Toc'den daha düşük aktivite göstermiştir. En düşük aktiviteye A**IV** ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-4).

4.3. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) 517 nm'de karakteristik absorbsiyonu olan kararlı serbest bir radikaldir. Antioksidanlar radikallere proton vererek absorbsiyonu azaltırlar. DPPH'ın rengi açıldığı için absorbsiyonda azalma olur [29]. Reaksiyon karışımının düşük absorbsiyon göstermesi serbest radikal giderim aktivitesinin yüksek olduğunu belirtir [26, 31]. Serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil serbest radikali (DPPH) kullanılarak belirlenmiştir.

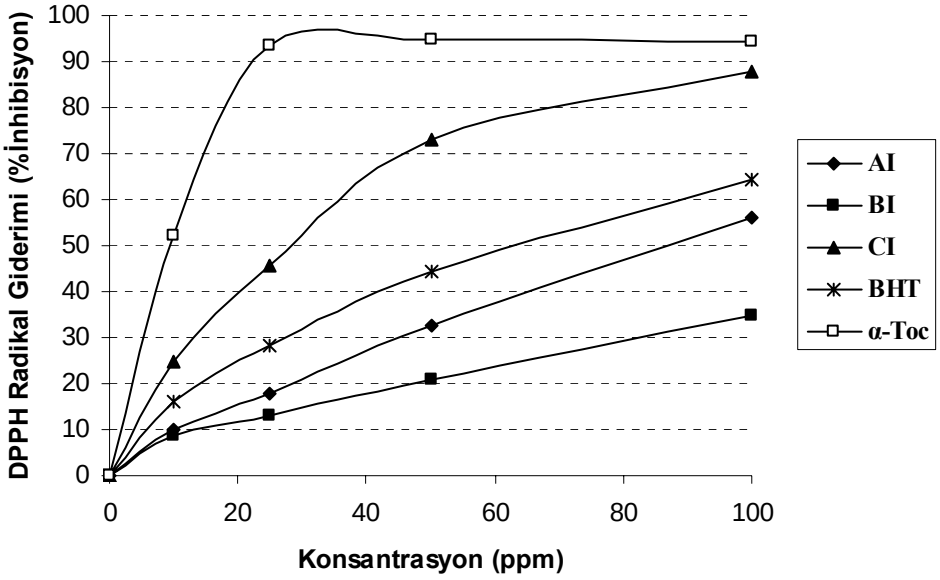
V.minor, *V. major* subsp. *major*, *V. herbacea* ve *V. soneri* türlerinin alkaloit içeren ekstrelerinin (**CI, CII, CIII, CIV**) DPPH serbest radikal giderim aktivitelerinin, standart olarak kullanılan BHT'den ve diğer ekstrelerden (**A**, **B**) daha yüksek oldukları belirlenmiştir. Ayrıca dört *Vinca* türü arasında *V. major* subsp. *major*'ün alkaloit içeren ekstresinin (**CII**) 10 ve 25 μg/mL konsantrasyonlarda, *V. soneri*'nin **CIV** ekstresinin 50 ve 100 μg/mL konsantrasyonlarda en yüksek aktiviteye sahip olduğu tesbit edilmiştir. Tablo 4-4'te *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) verilmektedir.

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT ve α-Toc kullanıldı.

Tablo 4-4: *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon)[a]

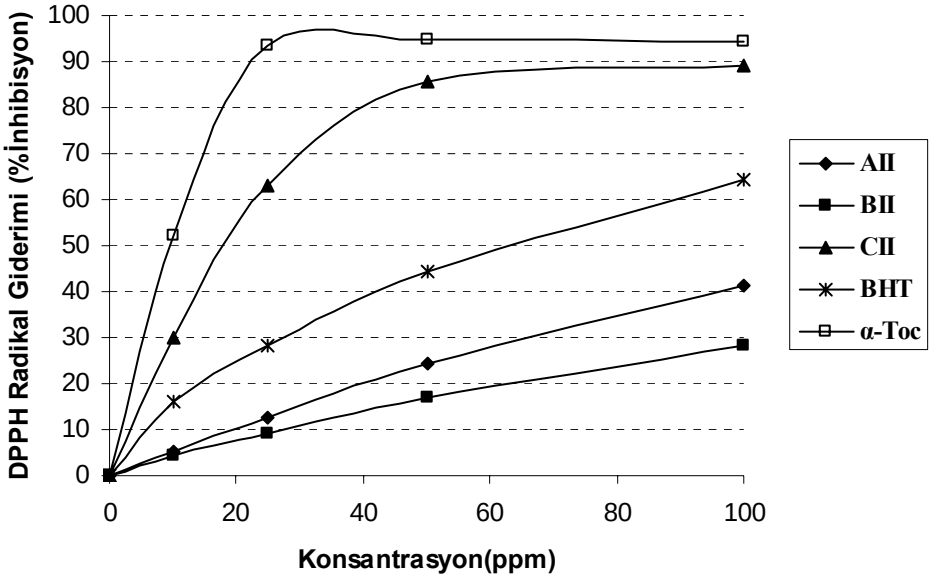
***Vinca* Türleri**	**Ekstreler**	**10 μg/mL**	**25 μg/mL**	**50 μg/mL**	**100 μg/mL**
V. minor (**I**)	AI	9,96±1,78	17,67±1,78	32,71±0,17	56,16±0,43
	BI	8,52±0,21	13,19±0,63	20,86±0,07	34,77±0,88
	CI	24,66±0,56	45,51±3,46	72,87±0,08	87,81±0,03
V. major subsp. *major* (**II**)	AII	5,28±0,45	12,49±2,01	24,25±0,05	41,42±0,83
	BII	4,36±0,23	9,18±0,60	16,74±0,03	28,40±0,66
	CII	29,89±1,20	63,07±0,59	85,74±0,81	89,08±0,39
V. herbacea (**III**)	AIII	12,85±0,21	25,74±2,27	51,46±0,87	76,88±0,33
	BIII	4,42±0,41	10,13±0,15	19,89±0,45	33,73±0,45
	CIII	24,84±2,43	56,23±0,63	82,27±0,82	85,66±0,04
V. soneri (**IV**)	AIV	4,02±0,04	10,61±0,40	20,19±0,21	34,90±0,24
	BIV	3,37±0,27	11,25±0,02	20,00±0,03	32,98±0,44
	CIV	24,08±0,17	50,01±2,95	88,17±0,27	92,00±0,05
BHT		15,95±0,36	28,06±0,93	44,43±1,00	64,30±0,21
α-Toc		52,23±2,06	93,55±0,33	94,66±0,30	94,43±0,17

[a] Değerler 5 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.



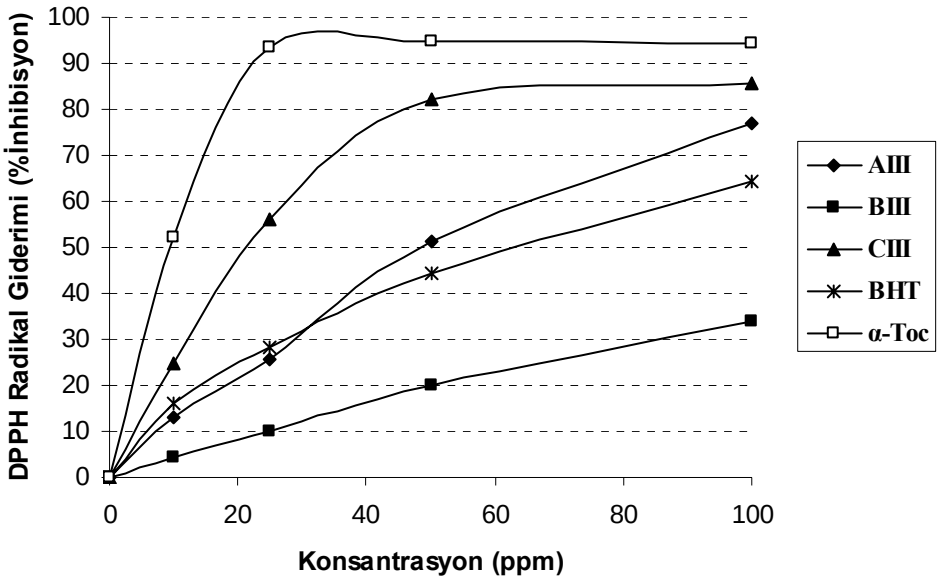
Şekil 4-5: ***Vinca minor*****'ün DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi**

*V. minor'*ün **CI** ekstresinin dört farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltisi **AI, BI** ve BHT'den daha yüksek, α-Toc'den ise daha düşük aktivite göstermiştir. En düşük aktiviteye **BI** ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-5).



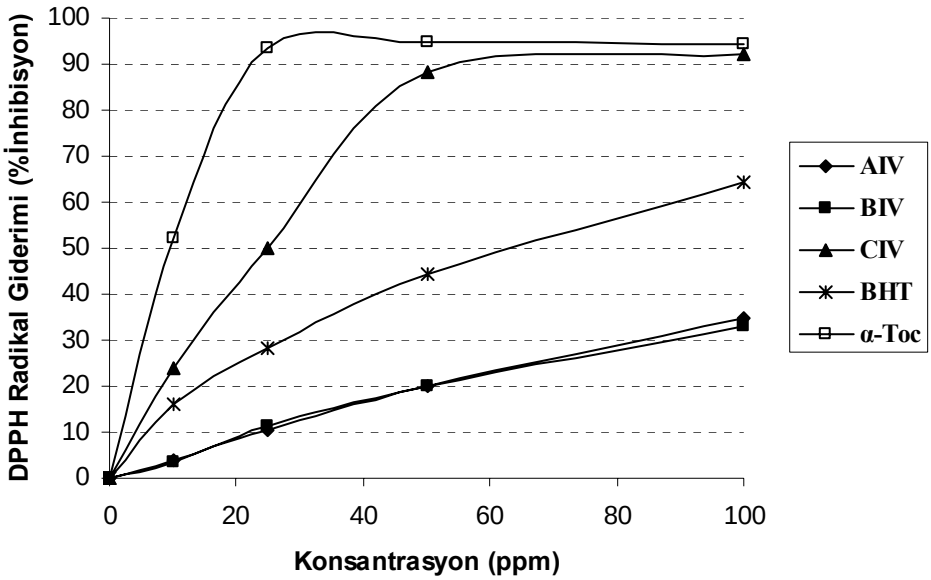
Şekil 4-6: *Vinca major* subsp. *major*'ün DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi

V. major subsp. *major'*ün **CII** ekstresinin dört farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltisi **AII, BII** ve BHT'den daha yüksek, α-Toc'den ise daha düşük aktivite göstermiştir. *V. major* subsp. *major* bitkisinde de en düşük etkiye yine alkaloit içermeyen **BII** ekstresinin sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-6).



Şekil 4-7: *Vinca herbacea*'nin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi

V. herbacea'nin **CIII** ekstresinin dört farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltisinin **AIII, BIII** ve BHT'den daha yüksek, α-Toc'den ise daha düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. **BIII** ekstresi, **AIII, CIII** ve standartlardan daha düşük aktivite göstermiştir (Şekil 4-7).



Şekil 4-8: ***Vinca soneri*****'nin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi**

*V. soneri'*nin **CIV** ekstresinin dört farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltisinin **AIV, BIV** ve BHT'den daha yüksek etki gösterdiği saptandı. 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonda *V. soneri*'nin **CIV** ekstresinin α-Toc'ün aynı konsantrasyondaki % inhibisyon değerlerine yakın bir inhibisyon gösterdiği görüldü. *V. soneri*'nin **AIV** ve **BIV** ekstrelerinin DPPH serbest radikalini giderme etkileri birbirine yakın değerlerde bulundu. Her iki ekstrenin bu değerleri **CIV**, BHT ve α-Toc değerlerine göre oldukça düşüktür (Şekil 4-8).

Sonuç olarak dört *Vinca* türünün alkaloit içeren ekstreleri (**CI, CII, CIII, CIV**) DPPH serbest radikaline karşı benzer şekilde davranmışlardır.

4.4. Metal Bağlama Etkisi

Ferrozin, Fe^{+2} ile nicel olarak kırmızı renkli kompleksler oluşturur. Analiz örneği antioksidan özellik gösteriyorsa kelat yapıcı ajan olarak davranır, bunun sonucunda ferrozin-Fe^{+2} kompleksinin bozulmasıyla kırmızı renk açılır [31].

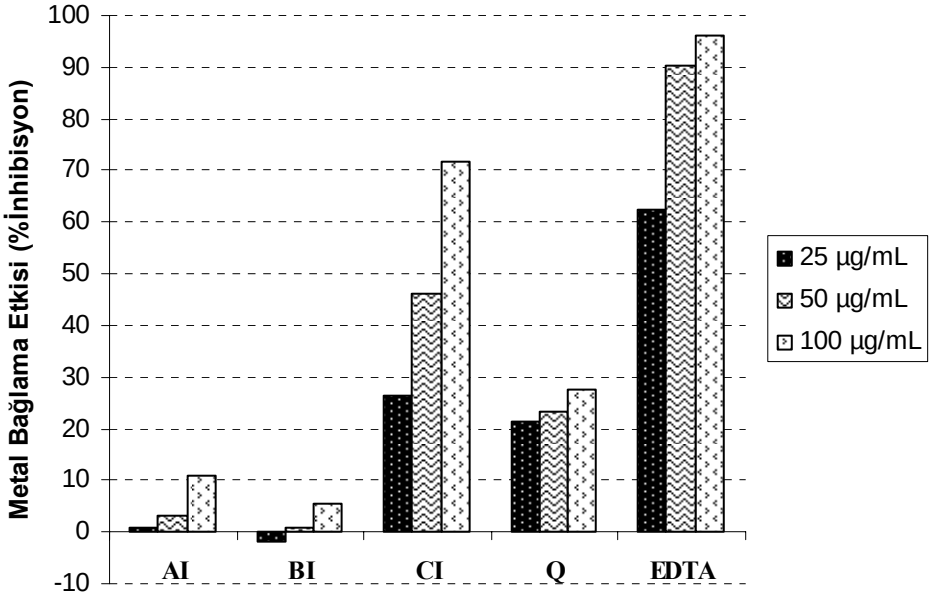
Bu çalışmada *V. minor*'ün alkaloit içeren ekstresinin (**CI**) metal bağlama aktivitesinin standart olarak kullanılan kersetin ve diğer bütün ekstrelerden (**A**, **B**, **C**) daha yüksek değerde olduğu belirlenmiştir. *V. major* subsp. *major* ve *V. herbacea* türlerinin alkaloit içeren ekstrelerinin (**CII**, **CIII**) metal bağlama aktivitesi, 25 μg/mL konsantrasyon dışındaki diğer konsantrasyonlarda standart olarak kullanılan kersetinden daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Tüm ekstrelerin metal bağlama etkisi EDTA'nınkinden düşüktür. Tablo 4-5'te *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin metal bağlama etkisi % inhibisyon olarak verilmiştir.

Her bir örnekten beş paralel çalışma yapıldı. Standart olarak kersetin ve EDTA kullanıldı.

Tablo 4-5: *Vinca* türlerinden hazırlanan ekstrelerin metal bağlama etkisi (% inhibisyon)[a]

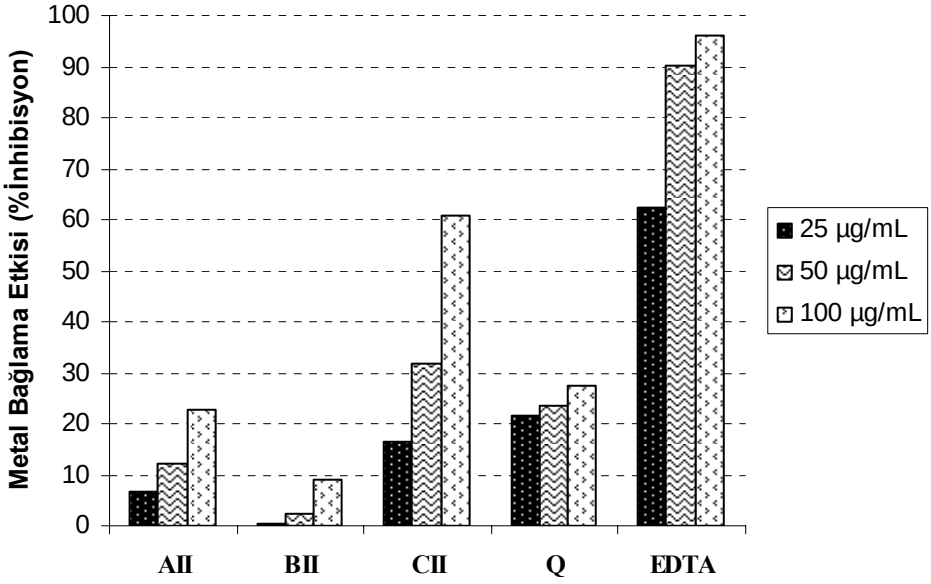
***Vinca* Türleri**	**Ekstreler**	**25 μg/mL**	**50 μg/mL**	**100 μg/mL**
V. minor (**I**)	AI	0,76±0,79	2,99±0,71	10,87±1,22
	BI	-1,69±1,99	0,94±2,00	5,31±3,27
	CI	26,24±0,09	46,30±1,81	71,67±0,70
V. major subsp. *major* (**II**)	AII	6,59±0,17	12,12±1,12	22,58±1,03
	BII	0,34±1,85	2,45±2,25	8,90±2,44
	CII	16,44±0,46	31,61±1,68	60,61±1,97
V. herbacea (**III**)	AIII	6,59±2,48	13,48±2,20	23,30±0,05
	BIII	1,81±0,04	5,04±0,04	10,96±1,64
	CIII	18,73±0,03	35,42±1,53	57,54±0,56
V. soneri (**IV**)	AIV	-1,42±0,56	2,09±3,62	7,33±0,87
	BIV	1,71±2,62	4,33±2,88	10,83±1,98
	CIV	-0,62±0,68	0,82±1,53	4,24±2,11
Kersetin		21.49±0.00	23.50±0.19	27.51±0.11
EDTA		62.42±0.22	90.34±0.55	96.01±0.24

[a] Değerler 5 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.



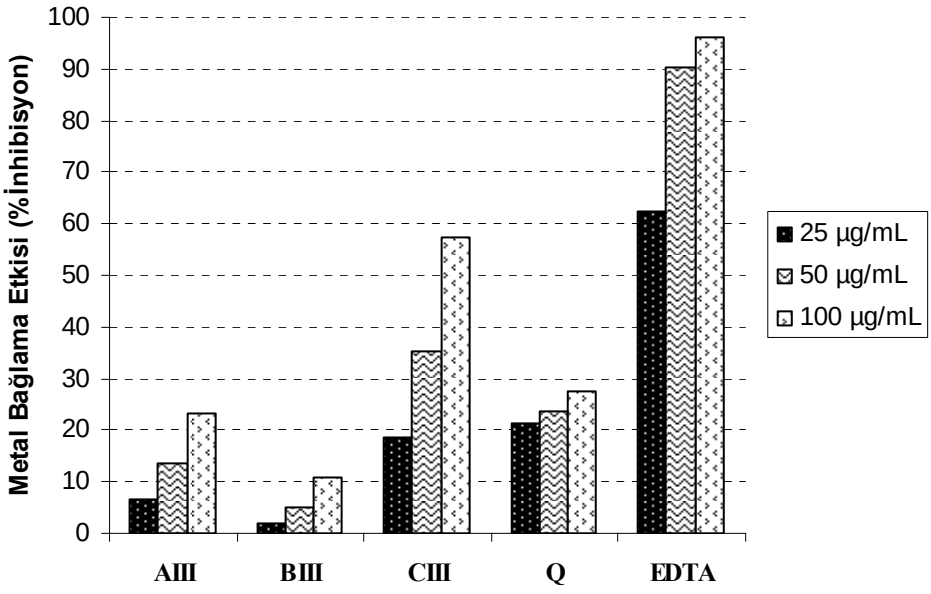
Şekil 4-9: ***Vinca minor*****'ün Metal Bağlama Etkisi**

*V. minor'*ün **CI** ekstresinin 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltisi **AI, BI** ve kersetinden daha yüksek, EDTA'dan ise daha düşük inhibisyon göstermiştir. **AI** ve **BI** ekstrelerinin metal bağlama etkisi göstermedikleri belirlenmiştir (Şekil 4-9).



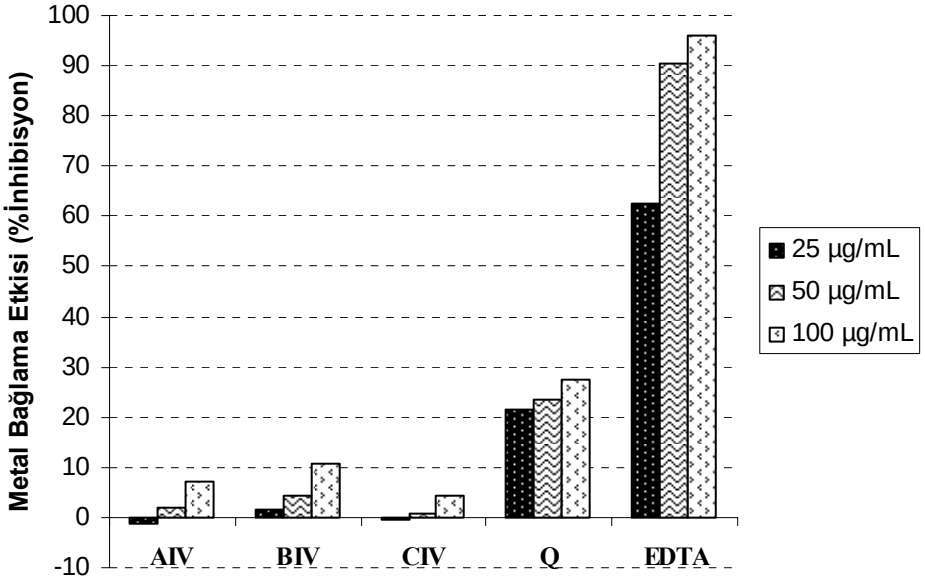
Şekil 4-10: ***Vinca major*** **subsp.** ***major*****'ün Metal Bağlama Etkisi**

V. major subsp. *major'*ün **CII** ekstresinin 25 µg/mL konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltileri **AII, BII** ve kersetinden daha yüksek, EDTA'dan ise daha düşük % inhibisyon değeri göstermiştir. **BII** ekstresinin metal bağlama etkisi göstermediği tesbit edilmiştir (Şekil 4-10).



Şekil 4-11: ***Vinca herbacea*****'nin Metal Bağlama Etkisi**

V. herbacea'nin **CIII** ekstresinin 25 µg/mL konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltileri **AIII, BIII** ve kersetinden daha yüksek, EDTA'dan ise daha düşük % inhibisyon değeri göstermiştir (Şekil 4-11).



Şekil 4-12: ***Vinca soneri*****'nin Metal Bağlama Etkisi**

*V. soneri'*nin 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan **AIV**, **BIV** ve **CIV** ekstrelerinin % inhibisyon değerleri kersetin ve EDTA'dan daha düşüktür. Ayrıca **AIV** ve **BIV** ekstrelerinin 10 µg/mL konsantrasyonda metal bağlama etkisi göstermediği tesbit edilmiştir. Diğer üç *Vinca* türünden farklı olarak *V. soneri*'nin **CIV** ekstresi metal bağlama etkisi göstermemiştir (Şekil 4-12).

5. TARTIŞMA

Bu yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye'de yetişen *V. minor* L., *V. major* L. subsp. *major*, *V. herbacea* Waldst. & Kit. ve *V. soneri* M. Koyuncu (endemik) bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinin (**A**), alkaloit içermeyen (**B**) ve alkaloit içeren (**C**) ekstrelerinin üç farklı yöntemle antioksidan özelliklerinin tayin edilmesi amaçlanmıştır. Bu yöntemler başlıca; toplam antioksidan aktivitenin β-karoten-linoleik asit test sistemiyle, serbest radikal gideriminin DPPH ile, kelat oluşturma kapasitesinin ise demir (II) klorür ve ferrozin ile belirlenmesidir. Ayrıca bu dört *Vinca* türünün fenolik içerikleri pirokatekole eşdeğer ve flavonoit içerikleri kersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

Vinca türlerinin alkaloit ekstrelerinin (**CI, CII, CIII, CIV**) fenolik madde içerikleri, metanol ekstrelerinin (**AI, AII, AIII, AIV**) ve alkaloit içermeyen ekstrelerinin (**BI, BII, BIII, BIV**) fenolik madde içeriklerinden daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu da *Vinca* türlerinin taşıdığı indol alkaloitlerinin Folin-Ciocalteu reaktifi ile reaksiyona girmesinin sonucu olarak düşünülmektedir. Ayrıca *V. minor*, *V. major* subsp. *major* ve *V. herbacea* türlerinin alkaloit ekstrelerinin (**CI, CII, CIII, CIV**) yapılan her üç antioksidan aktivite yönteminde de diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite göstermesi bu aktivitelerin her üç *Vinca* türünün içerdiği indol alkaloitlerinden ileri geldiğine işaret etmektedir. Yeni endemik bir tür olarak bilim dünyasına sunulan *V. soneri*'nin alkaloit içeren ekstresi (**CIV**) ise DPPH serbest radikal giderimi ve β-karoten-linoleik asit test sistemlerinde yüksek antioksidan aktivite gösterirken demir (II) klorür ve ferrozin ile yapılan metal bağlama yönteminde çok zayıf bir etki göstermiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasının konusunu oluşturan *Vinca* türlerinin alkaloit içeren ekstreleri diğer potansiyel biyolojik aktivitelerinin yanısıra şimdiye değin hiç araştırılmamış olan antioksidan aktivite özellikleriyle de önem kazanmışlardır.

KAYNAKLAR

1. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*1997;**3-4**: 92-95.
2. http://www.bitkiseleczane.com/Default.aspx?id=11374
3. Stearn WT. İçinde Davis PH, editör. *Flora of Turkey and the East Aegan Islands* **6**, Edinburgh: University Press; 1978. pp. 161-163.
4. Baytop T. editör. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları; 1984. pp. 423.
5. Farnsworth NR. İçinde Taylor WI, Farnsworth NR. editör. *The Vinca Alkaloids Botany, Chemistry and Pharmacology*, New York: Marcel Dekker, INC; 1973. pp. 95-179.
6. Kisakürek MV, Leeuwenberg AJM, Hesse M. İçinde Pelletier SW. editör. *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives* **1**, New York: John Wiley & Sons; 1983. pp. 211-279.
7. Cordell GA. editör. *Introduction to Alkaloids a Biogenetic Approach*. New York: John Wiley & Sons; 1981.
8. Kutchan TM. Strictosidine: From Alkaloid to Enzyme to Gene. *Phytochem* 1993; **32**(3): 493-506.
9. Gulyas B, Halldin C, Vas A, Banati RB, Shchukin E, Finnema S, Tarkainen J, Tihanyi K, Szilagyi G, Farde L. [^{11}C]Vinpocetine: A Prospective Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand for Primate PET Studies. *J Neurol Sci* 2005; **229-230**: 219-223.
10. Horvath B, Marton Z, Halmosi R, Alexy T, Szapary L, Vekasi J, Biro Z, Habon T, Kesmarky G, Toth K. In vitro Antioxidant Properties of Pentoxifylline, Piracetam and Vinpocetine. *Clin Neuropharmacol*. 2002; **25**(1): 37-42
11. Pereira C, Agostinho P, Moreira PI, Duarte AI, Santos MS, Oliveira CR. Neuroprotection Strategies: Effect of Vinpocetine in vitro Oxidative Strees Models. *Acta Med Port* 2003;**16**(6): 401-406.
12. Olah VA., Balla G, Balla J, Szabolcs A, Karmazsin L. An in vitro Study of the Hydroxyl Scavenger Effect of Cavinton. *Acta Pediatr Hung* 1990;**30**(2): 309-316.

13. Zhao G-R, Xiang Z-J, Ye T-X, Yuang Y-J, Guo Z-X. Antioxidant Activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. *Food Chem* 2006;**99**: 767-771.
14. Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Flerlage N, Burillo J, Codina C. Comparison Between the Radical Scavenging Activity and Antioxidant Activity of Six Distilled and Nondistilled Mediterranean Herbs and Aromatic Plants. *J Agric Food Chem* 2002;**50:** 6882-6890.
15. Özgen U, Mavi A, Terzi Z, Yıldırım A, Coşkun M, Houghton PJ. Antioxidant Properties of Some Medicinal Lamiaceae (Labiatae) Species. *Pharm Biol* 2006;**44**(2):107-112.
16. Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR. İçinde. Akoh CC, Min DB. editör. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc; 2002. pp. 489-516.
17. Rang R-Y, Tsou SCS, Lee T-C, Wu W-J, Hanson PM, Kuo G, Engle LM, Lai P-Y. Distribution of 127 Edible Plant Species for Antioxidant Activities by Two Assays. *J Sci Food Agric* 2006;**86**:2395-2403.
18. Acuna UM, Atha DE, Ma J, Nee MH, Kennelly EJ. Antioxidant Activity of Ten Edible North American Plants. *Phytother Res* 2002;**16**: 63-65.
19. Öztürk M, Aydoğmuş-Öztürk F, Duru ME, Topçu G, Antioxidant Activity of Stem and Root Extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An Edible Medicinal Plant. *Food Chem* 2007;**103**: 623–630.
20. Tepe B, Eminagaoglu O, Akpulat HA, Aydin E. Antioxidant Potentials and Rosmarinic Acid Levels of The Methanolic Extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and S. Verticillata (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chem* 2007;**100**: 985–989.
21. Yamazaki E, Inagaki M, Kurita O, Inoue T. Antioxidant Activity of Japanese Pepper (*Zanthoxylum piperitum*) Fruit. *Food Chem* 2007;**100**: 171-177.
22. Ur-Rahman A, Sultana A, Nighat F, Bhatti MK, Kurucu S, Kartal M. Alkaloids From *Vinca major*. *Phytochem* 1995;**38**(4): 1057–1061.
23. Topçu G, Ay M, Bilici A, Sarıkürkcü C, Öztürk M, Ulubelen A. A New Flavone From Antioxidant Extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chem* 2007;**103**(3): 816-822.

24. Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA, Linssen PH. Antioxidant Activity of Extracts Obtained by Different Isolation Procedures From Some Aromatic Herbs Grown in Lithuania. *J Sci Food Agric* 1998;**77**: 140-146.
25. Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. Antioxidant Activity and Total Phenolics of Edible Mushroom Extracts. *Food Chem* 2003;**81**: 249–255.
26. Kabouche A, Kabouche Z, Öztürk M, Kolak U, Topçu G, Antioxidant Abietane Diterpenoids From *Salvia barrelieri*. *Food Chem* 2007;**102**(4): 1281–1287.
27. Burits M, Asres K, Bucar F. The antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytother Res* 2001;**15**: 103-108.
28. Kolak U, Öztürk M, Özgökçe F, Ulubelen A, Norditerpene Alkaloids From *Delphinium linearilobum* and Antioxidant Activity. *Phytochem* 2006;**67**(19): 2170-2175.
29. Turkoglu A, Kıvrak I, Mercan N, Duru ME, Gezer K, Turkoglu H. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Morchella conica* Pers.. *Afr J Biotechnol* 2006;**5**(11): 1146-1150.
30. Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M. Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and Various Extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chem* 2005; **90**: 333-340.
31. Gülçin İ, Şat İG, Beydemir Ş, Elmastaş M, Küfrevioğlu Öİ. Comparison of Antioxidant Activity of Clove (*Eugenia caryophylata* Thunb) Buds and Lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem* 2004;**87**: 393-400.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mehmet	**Soyadı**	BOĞA
Doğ.Yeri	Diyarbakır	**Doğ.Tar.**	03.10.1980
Uyruğu	T.C	**TC Kim No**	22309735360
Email	mehmetboga1980@gmail.com	**Tel**	0505 265 89 26

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Yük.Lis.	İstanbul Üni. Sağlık Bil. Ens. Eczacılık Fak. Genel Kimya Programı	2005-
Yük.Lis.	Marmara Üni. Fen Bil. Ens. Organik Kimya Programı	2005
Lisans	Dicle Üniversitesi Fen Fak. Kimya Bölümü	2001
Lise	Atatürk Lisesi (Diyarbakır)	1997

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üni. Eczacılık Fakültesi	2005-
2.	Kimya Öğretmeni	Eğitimde Garanti Dershanesi	2005-2005
3.	Kimya Öğretmeni	Rekor Dershanesi	2004-2005
4.	Sınıf Öğretmenliği	Diyarbakır-Eğil-Sarıcak Köyü	2002-2003

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	Orta	Orta	Orta		50

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı	59.548	58.983	58.417

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft office programları (Word, Power Point, Excell)	İyi
Chem Draw	İyi
Isis Draw	İyi

Tez kabul edildikten sonra

Tebliğleri

1. Aslı Barla, Mehmet Öztürk, **Mehmet Boğa**, Şükran Kültür and Sevil Öksüz

Antioxidant Activities of *Euphorbia acanthothamnos, Euphorbia macroclada, Euphorbia rigida* from Turkey.

8. International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 13-16 June 2006 Ankara-TURKEY

2. Ufuk Kolak, Emine Alçıtepe ve **Mehmet Boğa**

Campanula tomentosa Lam. Bitkisinin Antioksidan Tayini.
21. Ulusal Kimya Kongresi 2007, 23-27 Ağustos 2007 Malatya