T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİSTEİN BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Sebahat YILMAZ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Bertan Boran BAYRAK

II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

İSTANBUL-2019

Bu çalışma 18.06.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Dr.Öğr.Üyesi Bertan Boran BAYRAK
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Özlem SAÇAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ayşe CAN
İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa'nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'nin 31299 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca benden desteğini ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Bertan Boran BAYRAK'a, engin bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmamın her döneminde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a, Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya, Dr. Öğr. Üyesi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Arş. Grv. Onur ERTİK'e ve Arş. Grv. Eda DAĞSUYU'na teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım ve tüm yaşamım boyunca ilgi ve anlayışlarıyla daima arkamda duran maddi ve manevi yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen babam Selahattin YILMAZ, annem Saliha YILMAZ, kardeşlerim Serap YILMAZ'a ve Sinem YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2019 Sebahat YILMAZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**
TABLO LİSTESİ ..... **x**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **xi**
ÖZET ..... **xiii**
SUMMARY ..... **xv**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **3**
2.1. SERBEST RADİKALLER 3
2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) 5
2.1.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-•) *6*
2.1.1.2. Singlet Oksijen ($^1O_2$) *7*
2.1.1.3 Hidrojen Peroksit (H_2O_2) *7*
2.1.1.4. Hidroksil Radikali (HO•) *8*
2.1.1.5. Peroksil (ROO•) ve Alkoksil Radikalleri (RO•) *8*
2.1.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNT) 8
2.1.2.1. Nitrik Oksit Radikali (NO•) *8*
2.1.2.2. Peroksinitrit ($ONOO^-$) *9*
2.1.3. Reaktif Sülfür Türleri (RST) 9
2.1.3.1. Tiyil Radikalleri *9*
2.2. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI 10
2.3. SERBEST RADİKALLERİN FİZYOLOJİK ETKİLERİ 11
2.3.1. Serbest Radikallerin Yararları 11
2.3.2. Serbest Radikallerin Zararları 11
2.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri *12*
2.3.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri *13*
2.3.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri *14*
2.3.2.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlara Etkileri *14*
2.4. ANTİOKSİDANLAR VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ 14

2.5. ANTİOKSİDANLARIN SINIFLANDIRILMASI 16
2.5.1. Doğal Antioksidanlar 17
2.5.1.1. Enzimatik Doğal Antioksidan Savunma Sistemi *17*
2.5.1.2. Enzimatik Olmayan Doğal Antioksidan Savunma Sistemi *19*
2.5.2. Sentetik Antioksidanlar 22
2.5.2.1. Bütillenmiş Hidroksianisol (BHA) *23*
2.5.2.2.Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT) *24*
2.5.2.3. Propil Gallat (PG) *24*
2.5.2.4. Tersiyer Bütil Hidrokinon (TBHQ) *25*
2.5.2.5. Nordihidroguayeretik Asit (NDGA) *25*
2.6. SÜLFÜR 26
2.6.1. Sülfür İçeren Amino Asitler 26
2.6.1.1. Metiyonin *27*
2.6.1.2. Sistin *29*
2.6.1.5. Taurin *30*
2.7. ORGANOSÜLFÜR BİLEŞİKLERİ 32
3. MALZEME VE YÖNTEM 34
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER 34
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER 34
3.3. SİSTEİN BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ 36
3.3.1. İndirgeme Gücü Yöntemi 36
3.3.2. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Yöntemi 37
3.3.3. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Yöntemi 38
3.3.4. DMPD Radikal Giderme Yöntemi 39
3.3.5. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Parametre (FRAP) Yöntemi 40
3.3.6. Metal Kelatlama Aktivitesi Yöntemi 41
3.3.7. Nitrit Giderme Aktivitesi Yöntemi 42
3.3.8. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi 42
4. BULGULAR 45
4.1. İNDİRGEME GÜCÜ 45
4.2. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ 46
4.3. DPPH RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ 47
4.4. DMPD RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ 49
4.5. FERRİ İYONU REDÜKLEYİCİ ANTİOKSİDAN PARAMETRE DENEYİ 51

4.6. METAL KELATLAMA AKTİVİTESİ.....53
4.7. NİTRİT GİDERME AKTİVİTESİ.....54
4.8. OKSİJEN RADİKALİ ABSORBANS KAPASİTESİ (ORAC).....56
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....58
KAYNAKLAR.....64
ÖZGEÇMİŞ.....85

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Oksijen molekülünün suya redüksiyonu ve oksijenden diğer radikal türlerin meydana gelmesi (İşbilir, 2008). 5

Şekil 2.2: Singlet oksijenin oluşumu (Halliwell ve Gutteridge, 1990). 7

Şekil 2.3: Fagositlerde ROT üretimi (Özcan ve diğ., 2015). 10

Şekil 2.4: Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Onat ve diğ., 2002; Lambeth, 2004). 12

Şekil 2.5: Lipitlerin peroksidasyonu (Murray ve diğ., 1996). 13

Şekil 2.6: Oksidatif strese karşı enzimatik koruma sistemleri (Kavas, 2008). 18

Şekil 2.7: C vitamini indirgenme reaksiyonu (Antmen, 2005). 19

Şekil 2.8: β-karoten'in yapısı (Green ve Fascetti, 2016). 20

Şekil 2.9: Flavonoidlere ait olan gruplar ve bu gruba dahil olan bazı moleküller (Panche ve diğ., 2016). 20

Şekil 2.10: Tokoferol ve tokotrienollerin kimyasal yapısı (Abidi, 2000). 21

Şekil 2.11: Gallik asidin kimyasal yapısı (Strlic ve diğ., 2002). 22

Şekil 2.12: Kuersetinin kimyasal yapısı (Sakanashi ve diğ., 2008). 22

Şekil 2.13: Epikateşinin kimyasal yapısı (Schroeder ve diğ., 2001). 22

Şekil 2.14:BHA'nın izomerleri (Uğuzlar, 2009) 23

Şekil 2.15: BHT'nin kimyasal yapısı (Çöllü, 2007). 24

Şekil 2.16: PG'ın kimyasal yapısı (Özyürek, 2005). 24

Şekil 2.17: TBHQ'nun kimyasal yapısı (Wanasundara ve Shadidi, 1998). 25

Şekil 2.18: NDGA'nın kimyasal yapısı (Rahman ve diğ., 2011). 26

Şekil 2.19: Diyetsel SİAA'ların organizmadaki döngüsü (Hermes-Lima ve diğ., 1991; Atmaca, 2004; Townsend ve diğ., 2004). 27

Şekil 2.20: Metiyonin'in kimyasal yapısı (Fong ve diğ., 1981) 27

Şekil 2.21: Sistein'den sistin oluşumu ve sistin'in kimyasal yapısı (Kalatzis ve diğ., 2001).....29

Şekil 2.22: Taurin'in kimyasal yapısı (Jacobsen ve Smith, 1968).....30

Şekil 3.1: ABTS'nin $K_2S_2O_8$ ile yükseltgenmesi (Büyüktuncel, 2013).....37

Şekil 3.2: DPPH'ın antioksidan bileşikler ile arasında gerçekleşen reaksiyon (AH: Antioksidan) (Kandi ve Charles, 2019).....38

Şekil 3.3: DMPD radikalinin indirgenmesi (AH: Antioksidan) (Güder, 2016).....39

Şekil 3.4: Fe (III)-TPTZ kompleksinin Fe (II)-TPTZ kompleksine redüksiyonu (Büyüktuncel, 2013).....40

Şekil 3.5: AAPH'ın termal bozunması ve peroksil radikalinin antioksidan bileşik ile reaksiyonu (AH: Antioksidan) (Cao ve diğ., 1993).....43

Şekil 4.1: Sistein bileşiklerininin ve standart maddelerin indirgeme güçleri.....46

Şekil 4.2: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin ABTS radikal giderme aktiviteleri.....46

Şekil 4.3: Sistein bileşiklerininin serbest radikal giderme aktiviteleri.....48

Şekil 4.4: Standart maddelerin serbest radikal giderme aktiviteleri.....48

Şekil 4.5: Sistein bileşiklerinin DMPD radikal giderme aktiviteleri.....50

Şekil 4.6: Standart maddelerin DMPD radikal giderme aktiviteleri.....50

Şekil 4.7: $FeSO_4.7H_2O$ kullanılarak elde edilen standart grafiği.....51

Şekil 4.8: Sistein bileşiklerininin ve standart maddenin metal kelatlama aktiviteleri.....53

Şekil 4.9: Sistein bileşiklerinin ve standart olarak kullanılan kuersetin'in nitrit giderme aktiviteleri.....55

Şekil 4.10: Sistein bileşiklerinin ve standart maddenin % inhibisyon cinsinden ORAC değerleri.....56

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Çeşitli serbest radikal ve radikal olmayan reaktif türleri (Halliwell ve Gutteridge, 1990).....4

Tablo 2.2: Serbest radikal oluşturan bazı endojen ve eksojen kaynaklar (Heves, 2008). 10

Tablo 2.3: Oksidatif hasara bağlı bazı hastalıklar (Busciglio ve Yankner, 1995; Good ve diğ.,1996; Smith ve diğ., 1996; Taddei ve diğ., 1998; Cohen, 2000; Rao ve diğ., 2000; Tak ve diğ., 2000; Kumar ve diğ., 2002; Chang ve diğ., 2003; Gardes-Albert ve diğ., 2003).....15

Tablo 2.4: Antioksidanların sınıflandırılması (Pradedova ve diğ., 2010). 16

Tablo 2.6: Çeşitli organlarda bulunan taurin miktarları (Sturman, 1988). 31

Tablo 4.1: Sistein bileşiklerinin indirgeme güçleri.....45

Tablo 4.2: Standart maddelerin indirgeme güçleri. 45

Tablo 4.3: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin ABTS radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri. 47

Tablo 4.4: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin DPPH radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri. 49

Tablo 4.5: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin DMPD radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri. 51

Tablo 4.6: S-benzil-Cys, S-fenil-Cys, S-metil-Cys, metiyonin ve taurin'e ait FRAP değerleri.....52

Tablo 4.7: Standart maddelerin FRAP değerleri. 53

Tablo 4.8: Sistein bileşiklerininin ve standart maddenin metal kelatlama aktivitelerine ait IC_{50} değerleri. 54

Tablo 4.9: Sistein bileşiklerininin ve kuersetin'in nitrit giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri.....55

Tablo 4.10: Sistein bileşiklerininin veTroloks'un ORAC yöntemi ile belirlenen ait IC_{50} değerleri.....57

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	**Açıklama**
Da	: Dalton
g	: Gram
L	: Litre
mL	: Mililitre
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

Kısaltmalar	**Açıklama**
AAPH	: 2,2′-azobis (2-metilpropionamidin) dihidroklorür
ABTS	: 2,2-azinobis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
AH	: Antioksidan
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHMT	: Betain homosistein metiltransferaz
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	: Katalaz
CBS	: Sistatiyonin β-sentaz
CDO	: Sistein sülfinik asit dekarboksilaz
Cys	: L-Sistein
DMPD	: N,N-dimetil-1,4-fenilendiamin
DNA	: Deoksiribonükleik asid
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
Ferrozin	: 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4′,4″-disülfonik asit
FRAP	: Ferri iyonu indirgeyici antioksidan parametre
GA	: Gallik asit
GNMT	: Glisin N-metiltransferaz

GP_x : Glutatyon peroksidaz

GR : Glutatyon redüktaz

GSH : İndirgenmiş glutatyon

GSSG : Yükseltgenmiş glutatyon

GST : Glutatyon-S-transferaz

IC_{50} : Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu

LDL : Düşük yoğunluklu lipoprotein

MAT : Metiyonin adenosil-transferaz

MS : Metiyonin sentaz

MTHFD : 5,10-metilen tetrahidrofolat dehidrojenaz

MTHFR : 5,10-metilen tetrahidrofolat redüktaz

NAD : Yükseltgenmiş nikotinamit adenin dinükleotit

NADH : İndirgenmiş nikotinamit adenin dinükleotit

NADP : Yükseltgenmiş nikotinamit adenin dinükleotit fosfat

NADPH : İndirgenmiş nikotinamit adenin dinükleotit fosfat

ORAC : Oksijen radikali absorbans kapasitesi

PG : Propil gallat

RNA : Ribonükleik asit

RNT : Reaktif nitrojen türleri

ROT : Reaktif oksijen türleri

RST : Reaktif sülfür türleri

SİAA : Sülfür içeren amino asitler

SOD : Süperoksit dismutaz

TBHQ : Tersiyer bütil hidrokinon

TCA : Triklorasetik asit

THF : Tetrahidro folat

TPTZ : 2,4,6-tri(2-piridil)-S-triazin

Troloks : 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit

UV : Ultraviyole

γ-CYS : γ-sistatiyonin

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİSTEİN BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Sebahat YILMAZ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Bertan Boran BAYRAK

II. Danışman : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Son yıllarda serbest radikaller ve antioksidanlarla ilgili çalışmaların önemi daha fazla artmaktadır. Biyolojik sistemde serbest radikaller devamlı olarak üretilmektedir. Organizma serbest radikallerin vücutta meydana getirdiği hasara karşı savunma yapabilmek için antioksidanlara ihtiyaç duyar. Bu antioksidanlar vücutta üretilen endojen ya da dışardan alınan eksojen antioksidanlardır. Antioksidanların vücuttaki en önemli özelliklerinden biri serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresi önlemektir. Bu şekilde hücrelerdeki biyolojik molekülleri koruyarak çeşitli hastalıkların meydana gelmesini engeller.

Bu çalışmada sistein bileşiklerinin (S-benzil-L-sistein, S-fenil-L-sistein, S-metil-L-sistein, metiyonin, sistein ve taurin) antioksidan aktiviteleri indirgeme gücü, ABTS radikal giderme aktivitesi, DPPH radikal giderme aktivitesi, DMPD radikal giderme aktivitesi, ferri iyonu redükleyici antioksidan parametre (FRAP), metal kelatlama aktivitesi, nitrit giderme aktivitesi, oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) yöntemleriyle tayin edildi. Sonuçlar sentetik ve doğal standart antioksidanlarla karşılaştırıldı.

Çalışmada, antioksidan aktivitelerin genel olarak bileşiklerin konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı gözlendi. Test edilen sistein bileşikleri arasında, metiyoninin en yüksek antioksidan aktiviteyi indirgeme gücü, DPPH radikal giderme ve ORAC yöntemlerinde gösterdiği bulundu. Sistinin ise ABTS radikal giderme, FRAP ve nitrit giderme yöntemlerinde en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlendi. En düşük antioksidan aktiviteye sahip olan sistein bileşiğinin ise S-benzil sistein olduğu belirlendi.

İncelenen sistein bileşikleri üzerine yapılan antioksidan aktivite denemeleri sonucunda bu bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve antioksidan kaynağı olabileceği sonucuna varıldı.

Haziran 2019, 101 sayfa.

Anahtar kelimeler: Sistein bileşikleri, antioksidan aktivite, serbest radikaller

SUMMARY

M.Sc. THESIS

ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF CYSTEINE COMPOUNDS

Sebahat YILMAZ

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Bertan Boran BAYRAK

Co-Supervisor : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

In the past few years, researches on the importance of free radicals and antioxidants have increased. Free radicals are produced continuously in the biological system; therefore, organisms need antioxidants to defend against damage caused by these free radicals in the body. These antioxidants can be exogenous antioxidants being taken with nutrients and endogenous antioxidants being produced in the body. One of the most important features of antioxidants in the body is to prevent oxidative stress. In this way, they prevent the occurrence of various diseases via protecting biomolecules in the cells.

In this study, antioxidant activities of cysteine compounds (e.g. S-benzyl-L-cysteine, S-phenyl-L-cysteine, S-methyl-L-cysteine, methionine, cysteine and taurine) were examined by reducing power, ABTS radical scavenging activity, DPPH radical scavenging activity, DMPD radical scavenging activity, ferric ion reducing antioxidant parameter (FRAP), metal chelating activity,

nitrite scavenging activity and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) methods. The results were compared with synthetic antioxidants and natural antioxidants.

In this study, it was observed that antioxidant activities of all cysteine compounds increased with increase in concentration of the tested compounds. Among the tested cysteine compounds, methionine was found to have the highest antioxidant activity of reducing power, DPPH radical scavenging and ORAC methods. Cystine had the highest antioxidant activity in ABTS radical scavenging, FRAP and nitrite scavenging methods. S-benzyl cysteine was the cysteine compound with the lowest antioxidant activity. It was concluded that cysteine compounds have antioxidant activity and these compounds may be the source of antioxidant as a result of the antioxidant activity of this study.

June 2019, 101 pages.

Keywords: Cysteine compounds, antioxidant activity, free radicals

1. GİRİŞ

Serbest radikaller üzerine yapılan ilk araştırma Gomberg'in 19. asırın başlarında trifenilmetil radikalinin yapısını ispatlamasıyla ortaya çıkmıştır (Gomberg, 1900). Son yıllarda ise yapılan çalışmalarda bir çok hastalığın temelinde serbest radikallerin var olması bu çalışmaların büyük önem kazanmasına sebep olmuştur.

En fazla önem arz eden serbest radikaller, reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleridir. Bu moleküller, sahip oldukları yüksek reaktivite özelliklerinden dolayı organizmadaki biyolojik makromoleküller olan lipitlere, proteinlere ve DNA'ya oksidatif hasarlar vererek hücrelerin ölümüne sebep olurlar (Yin ve diğ., 2014). Bununla birlikte, hem reaktif oksijen türleri hem de reaktif azot türleri hücre içi sinyalleşme ve redoks homeostazında (redokstasis) elzem bir rol oynamaktadır (Pajares ve diğ., 2018). Serbest radikaller organizmadaki metabolik reaksiyonlar sonucunda sürekli üretilirler. Ayrıca sigara tüketimi, radyasyona maruz kalınması, hava kirliliği, endüstriyel kirleticiler gibi çevresel faktörler ile insanın zihinsel ve duygusal durumu, stres ve çeşitli hastalıklar gibi fizyolojik faktörlere bağlı olarak da oluşurlar. İnsan organizmasında en fazla hasara yol açan reaktif oksijen türleridir (Lobo ve diğ., 2010; Kumar, 2011). Organizmada serbest radikal üretimi belirli bir dengede ve sürekli olarak devam etmektedir. Eğer vücutta reaktif oksijen türlerinin üretimi çok fazla miktarda gerçekleşirse ve korunan bu denge bozulursa oksidatif stres meydana gelir (Wiernsperger, 2003). Serbest radikallerin biyolojik sistemde oluşturabileceği en büyük hasar oksidatif strestir. Oksidatif stresin, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, inflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma ve diğer çeşitli hastalıklar ile ilişkisi vardır (Pisoschi ve Pop, 2015; Mirończuk-Chodakowska ve diğ., 2018).

Organizma bu oksidatif stresten antioksidanlar sayesinde korunur (Shinde ve diğ., 2012). Antioksidanlar reaktif oksijen türlerinin aşırı üretilmesi sonucunda ortaya çıkan oksidatif hasarı engellemek ve detoksifikasyonunu sağlamak için organizmada görev alan kimyasal yapılardır (Şener ve Çağlayan Yeğen, 2009). Antioksidanlar, serbest radikallerin reaktivitesini azaltarak o molekülü kararlı hale getirebilen, böylece reaktif türlerin oluştuğu bölgedeki biyomoleküllerin oksidasyonunu engelleyebilen veya geciktiren bileşiklerdir (Sánchez, 2017).

Bu antioksidanlar, endojen ve eksojen olarak sınıflandırılabilir. Eksojen antioksidanlara örnek olarak diyetle alınan polifenoller, A vitamini (karotenoidler) ve E vitamini (α-tokoferol) verilebilir. Endojen antioksidanlara örnek olarak ise metal kelatlayıcı bazı proteinler (albumin, transferrin, metallotiyonein vb.), hücre içi bazı enzimler (süperoksit dismutaz, katalaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz vb.) ve düşük molekül ağırlıklı bilirubin, ürik asit ve ɣ-glutamil-sisteinil-glisin (glutatyon) gibi serbest tiyol grubuna (-SH) sahip bazı biyomoleküller verilebilir (Khatua ve diğ., 2013; Sánchez, 2017).

Kükürt, yaşam için gerekli olan proteinlerin, vitaminlerin ve diğer önemli biyomoleküllerin bir bileşeni olarak bitkisel, hayvansal ve insan organizmalarında önemli bir rol oynayan ve çok miktarda bulunan bir elementtir. İnsanlar için ana kükürt kaynağı, anorganik kükürt kullanan bitkilerdir. Diyet yoluyla alınan bitkilerdeki bu besinler, kükürt içeren amino asitlerin sentezi amacıyla organizmada kullanılmaktadır. Kükürt içeren amino asitler sülfidril (tiyol) grubu içeren proteinlerin yapısında, metabolizma reaksiyonlarında ve bağışıklık sisteminde çok önemli bir rol oynarlar. Bu amino asitler arasında metiyonin, sistein, homosistein ve taurin bulunur (Bin ve diğ., 2017). Bunlar arasında metiyonin ve sistein, protein yapısında bulunan proteinojenik amino asitler olarak sınıflandırılır. Ek olarak, kükürt içeren amino asitler, glutatyon ve N-asetil sistein gibi hücre içi antioksidanların sentezinde görev alırlar (Čolović ve diğ., 2018). Sarımsak ve soğan gibi *Allium* cinsi bitkilerde fazla miktarda bulunan dialil sülfit, dialil disülfit, N-asetil sistein (Hsu ve diğ., 2004), S-allil sistein, S-metil sistein, S-etil sistein ve S-propil sistein (Amagase, 2006; Corzo-Martínez ve diğ., 2007) gibi bazı sistein içeren organosülfür bileşikleri, indirgeme gücü, metal kelatlama kabiliyeti ve süperoksit iyon temizleyici kabiliyetine sahip olup (Huang ve diğ., 2004), reaktif oksijen türlerinin etkili temizleyicileridir ve oksidatif stres ve çeşitli indüklenmiş bozuklukların tedavisinde yer alırlar.

Bazı sistein bileşiklerinin *in vivo* antioksidan aktivitelerinin araştırılmasına yönelik literatürde bazı çalışmalar olmasına rağmen, bu bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktivitlerine yönelik oldukça sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda sistein bileşikleri olarak seçilen S-benzil-L-sistein, S-fenil-L-sistein, S-metil-L-sistein, metiyonin, sistin ve taurin'in antioksidan aktiviteleri hem elektron hem de hidrojen transferine dayanan spektrofotometrik ve florometrik bazı yöntemlerle tayin edildikten sonra sonuçlar doğal ve sentetik bazı standart antioksidan maddelerle karşılaştırılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron bulunduran, oldukça kararsız, aktivasyon enerjisi düşük, ömürleri kısa olan olan atom ya da moleküllerdir (Koca ve Karadeniz, 2013). Eşleşmemiş elektronlar, serbest radikallere reaktivite kazandırdığı taktirde vücutta bulunan birçok makromoleküle zarar vermektedir. Bu makromoleküllere örnek olarak protein, lipit ve DNA verilebilir. Serbest radikallerin verdiği zararlardan bazıları kanser türleri, yaşlanma, kalp-damar rahatsızlığı ve birçok hastalığa neden olur (Delibaş ve Özcankaya, 1995; Gümüştaş ve Atukeren, 2008).

Serbest radikaller temelde 3 yolla ortaya çıkar (Kılınç ve Kılınç, 2002):

1. Kovalent bağ taşıyan molekülün homolitik kırılması

Sıcaklığın çok yüksek olması ve yüksek enerji içeren elektromanyetik dalgaların bulunması kimyasal bağların yıkımına sebep olur. Bu esnada bağ yapısında bulunan iki elektron, ayrı ayrı olarak bağa katılan atomlarda bulunuyorsa, bu tip kırılma homolitik kırılma olarak adlandırılır.

$$X{:}Y \longrightarrow X\bullet + Y\bullet$$

2. Heterolitik bölünme ya da normal bir molekülün elektron kaybı

Normal bir molekülün elektron kaybetmesi sonucunda dış orbitalinde eşleşmemiş elektron bulundurması ile meydana gelen radikal formudur.

$$X{:}Y \longrightarrow X{:}^{-} + Y^{+}$$

3. Normal bir moleküle elektron eklenmesi

Radikal olmayan moleküle bir elekton eklenmesi ile dış orbitalinde eşleşmemiş elektron meydana geliyorsa radikal oluşumuna sebep olur.

$$A + e^{-} \longrightarrow A\bullet$$

İnsan vücudunda radikal ve radikal olmayan reaktif türler bulunur. Bunlardan bazıları Tablo 2.1'de belirtilmiştir. İçlerinden en önemlileri reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleridir (RNT) (Halliwell ve Auroma, 1998).

Tablo 2.1: Çeşitli serbest radikal ve radikal olmayan reaktif türleri (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

SERBEST RADİKALLER	RADİKAL OLMAYAN REAKTİF TÜRLER
Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	**Reaktif Oksijen Türleri (ROT)**
O_2^{-}•	H_2O_2
HO•	HOCl
RO_2•	HOBr
RO•	O_3
HO_2•	$\Delta g\ ^1O_2$
Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)	**Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)**
NO•	HNO_2
NO_2•	NO^+
	NO^-
	N_2O_4
	N_2O_3
	$ONOO^-$
	ONOOH
	NO_2^-
	ROONO
Reaktif Sülfür Türleri (RST)	**Reaktif Sülfür Türleri (RST)**
RS•	RSH
RSO•	RSSR
RSO_2•	RSOH
$RSSR•^-$	RS(O)SR
	$RS(O)_2SR$

Organizmada reaktif türlerden bazıları biyokimyasal reaksiyonlar sonucu kendiliğinden oluşur. Örneğin canlılarda meydana gelen O_2'nin tam olarak indirgenmesi sonucu;

$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$

suya dönüşürken, tek elektron alarak indirgenmesi ile;

$O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$•

süperoksit radikalini oluşturur. İki elektron alarak indirgenmesi ile ;

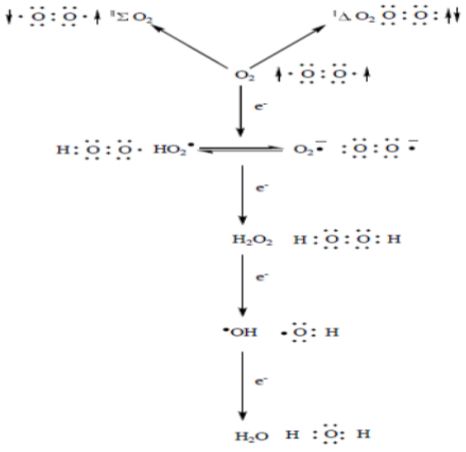
$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$

hidrojen peroksit meydana gelir.

Bu reaksiyonlar sonucunda açığa çıkan su, canlı hücre üzerine zararlı etki oluşturmazken, süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit hücrede toksik etki meydana getirir. Bunlar içinde en zararlı olanı hidroksi radikaldir. Organizmada ROT ve RNT'lerin oluşumlarına engel olunamaz. Canlı organizmada bu radikallerin istemli üretimleri de meydana gelir. Örnek olarak vücutta bulunan savunma hücreleri yabancı organizmalara karşı süperoksit radikali ve hidrojen peroksit üreterek savaşırlar. Fakat bu üretimin fazla olması canlı organizmada hasar meydana getirebilir.

2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

İnsan vücudunda oksijen, vazgeçilmez elementlerden biridir. Oksijen organizmada birçok organik molekülün temel yapı taşıdır (Pham-Huy ve diğ., 2008). Aynı zamanda oksijenin çok büyük bir kısmı oksidatif fosforilasyon için hücrede meydana gelen metabolik reaksiyonlarda harcanır (Cankurtaran, 2005). Harcanan bu oksijenin % 2'si mitokondride ROT'ları meydana getirir (Muller ve diğ., 2004). ROT'lar, radikal olan ve radikal olmayan oksijen merkezli olarak iki başlık altında incelenir. Radikal olan ROT'lar, süperoksit radikali ($O_2^{-}\bullet$), hidroksil radikali (HO•), alkoksil radikali (RO•) ve peroksil (ROO•) radikalidir. Radikal olmayan ROT'lar ise singlet oksijen ($^1O_2$) ve hidrojen peroksiddir (H_2O_2) (Halliwell ve diğ., 1995; Simon ve diğ., 2000). Oksijenin normal metabolizmasında bir, iki veya üç elektron ile tepkimeye girmesiyle birlikte süperoksit radikali, H_2O_2 ve en zararlı ROT olan hidroksil radikali meydana gelir (İşbilir, 2008) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Oksijen molekülünün suya redüksiyonu ve oksijenden diğer radikal türlerin meydana gelmesi (İşbilir, 2008).

ROT'ların vücutta yol açtığı bazı hasarlar (Pisoschi ve Pop, 2015; Mirończuk-Chodakowska ve diğ., 2018);

- Kalp Hastalığı
- Şeker Hastalığı
- Kanser
- Alzheimer Hastalığı
- Astım
- Yaşlanma

2.1.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-•)

Süperoksit radikali (O_2^-•) oksijenli solunum yapan tüm hücrelerde oksijenin çevresinden bir elektron aldıktan sonra redüksiyonuyla meydana gelir. En kolay oluşan radikal türüdür. Biyolojik açıdan önemli olan süperoksit radikalleri toksik etki gösterir ve mikroorganizmaları hedef alarak saldırır. Organizmada NADH oksidaz enzimi, ksantin oksidaz enzimi gibi birçok enzim tarafından üretilir. Süperoksit radikalleri enzimatik yollarla üretilebildiği gibi enzimatik olmayan yollarla da üretilebilir (Ak, 2006).

Zayıf bir oksidan olmasına karşın güçlü bir indirgen özelliği bulunan süperoksit radikalleri, hücresel koşullarda üretildiği zaman oksitleyici ve indirgeyici özellik gösterebilir. Süperoksit radikalinin diğer bir önemli fonksiyonu ise süperoksit dismutaz enzimi (SOD) ile aerobik canlılarda aktivitesi oldukça yüksek olan H_2O_2 kaynağını oluşturmasıdır (Uğuzlar, 2009).

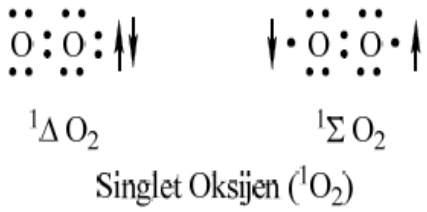
$$2O_2^-\bullet + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Süperoksit radikallerinin temelde üretildiği yollar şunlardır (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Halliwell, 1994):

- Fagositik hücreler vücutta meydana gelen virüs veya bakteriyi yok etmek için süperoksit radikali üretmektedirler.
- Katekolaminlerin, hidrokinonların ve tiyollerin aerobik ortamda otooksidasyonu ile,
- İndirgenen geçiş metallerinin otooksidasyonu ile,
- Mitokondrideki enerji metabolizmasında tüketilen enerji kaynağının % 1-3 kadarı ile süperoksit radikali oluşur.

2.1.1.2. Singlet Oksijen ($^1O_2$)

Singlet oksijen radikal olmayan bir oksijen molekülüdür ve yapısında eşleşmemiş elektron bulundurmaz. Oldukça reaktif bir moleküldür. Sigma (σ) ve delta (δ) olmak üzere 2 formu bulunmaktadır.



Şekil 2.2: Singlet oksijenin oluşumu (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Singlet oksijen organizmada, bilirubin gibi pigmentlerin oksijen varlığında ışığı absorplamasıyla, dismutasyon tepkimeleriyle ve porfirin metabolizması hastalıklarında meydana gelebilir (Halliwell ve Gutteridge, 1990) (Şekil 2.2).

2.1.1.3 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, moleküler oksijenin etrafından iki elektron elde etmesi veya süperoksit radikalinin çevresindeki moleküllerden bir elektron kazanması sonucu oluşmaktadır.

$$O_2 + 2\ e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$$

$$O_2^{-}\bullet + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$$

H_2O_2'nin yapısında ortaklanmamış elektron bulunmadığından dolayı toksisitesi düşük ve radikal özelliği yoktur. Ancak, ekstraselüler boşluğa rahat bir şekilde geçebilmesi ve uzun ömürlü olması, zararlı etkisini arttırmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Halliwell, 1994).

H_2O_2'nin serbest radikal olmamasına rağmen ROT sayılmasının nedeni, Fenton reaksiyonu ile Fe^{+2} mevcudiyetinde ve Haber-Weiss reaksiyonu ile süperoksit mevcudiyetinde en zararlı radikal olan hidroksil radikalini meydana getirmesidir (Halliwell ve diğ., 2000).

$$Fe^{3+} + O_2^{-}\bullet \rightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^- + HO\bullet \quad \text{(Fenton Reaksiyonu)}$$

$$\text{(Net)}\ O_2^{-}\bullet + H_2O_2 \rightarrow HO^- + HO\bullet + O_2 \quad \text{(Haber-Weiss Reaksiyonu)}$$

2.1.1.4. Hidroksil Radikali (HO•)

Hidroksil radikali, canlı organizmada en fazla hasar veren ve en reaktif olan ROT grubu üyesidir. Kısa yarı ömre sahip olmasına rağmen bulunduğu her ortamda reaksiyona girerek hücrede ciddi hasar meydana getirir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Akkuş, 1995).
Organizmada hidroksil radikali;

- Ozona elektron transferi ile
- H_2O_2'nin fotolizi ile
- İyonlaştırıcı radyasyonun su molekülüne olan etkisi ile
- Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile oluşur.

Hidroksi radikali her biyolojik molekülle tepkimeye girmesine rağmen asıl tercihi elektronca zengin bileşiklerdir.

2.1.1.5. Peroksil (ROO•) ve Alkoksil Radikalleri (RO•)

Peroksil radikalleri, oksijenin alkil radikalleri ile reaksiyona girmesi sonucunda meydana gelir. Oksijen ve lipit radikalleri arasında gerçekleşen tepkime buna örnek olarak verilebilir. Ortamda geçiş metallerinin varlığı ya da UV ışınlarının etkisi ile peroksidlerin hemolizi sonucunda alkoksil ve peroksil radikallerini meydana gelir (Lee ve diğ., 2004).

2.1.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)

RNT'ler peroksi nitrit ve azotun oksitleri gibi nitrik oksidin oksijen ve süperoksitle tepkimesi sonucu oluşurlar (Saleem ve Ohshima, 2004).

2.1.2.1. Nitrik Oksit Radikali (NO•)

Nitrik oksit organizmada, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi katalizörlüğünde oksijen ve L-argininden oluşur. Nitrik oksitin fizyolojide ve patofizyolojide rolü önemlidir. Vücutta meydana gelen enfeksiyon ve inflamasyon durumlarında sitokinler tarafından üretilerek mikroorganizmaların öldürülmesini sağlar (Halliwell, 1994; Murray ve diğ., 1996).

Nitrik oksitin süperoksit ile gerçekleştirdiği tepkimede peroksinitrit (ONOO•) oluşur. Meydana gelen peroksinitritler oksidatif DNA hasarlarına sebep olmaktadır. Peroksinitritin, nitrik okside bağlı bir toksisiteye de sebebiyet verdiği öngörülmektedir (Ak, 2006). Nitrik oksit radikalinin

vücut için sağladığı yararlar da vardır. Yapılan araştırmalara göre nitrik oksit radikalinin kan basıncını düşürdüğü, kan dolaşımını düzenlediği, kalp krizi riski gibi birçok rahatsızlıkları engellediği ya da yavaşlattığı görülmektedir. Bu sebeple nitrik oksit radikali insan vücudu için önemli bir radikaldir (Uğuzlar, 2009).

2.1.2.2. Peroksinitrit ($ONOO^-$)

Geçiş metallerinin varlığında nitrik oksit ve süperoksit radikalinin reaksiyona girmesiyle peroksinitrit oluşur ve bunun sonucunda nitrit ve nitratlar meydana gelir. Bu tepkime sonucunda proteinlerin yapılarında bozulma meydana gelir ve fonksiyonlarını kaybederler (Pryor ve Squadrito, 1995).

2.1.3. Reaktif Sülfür Türleri (RST)

Sülfür merkezli radikallerin biyolojik sistemlerdeki rolleri üzerine yapılan araştırmaların sayısı kayda değer şekilde artmaktadır.

2.1.3.1. Tiyil Radikalleri

Tiyol grubu (R-SH) içeren glutatyon ve sistein gibi biyomoleküller her canlı türünde fazla miktarda bulunurlar. Özellikle protein yapısına katılan kükürtlü amino asitler, disülfit köprüsü (-S-S-) oluşturmak sureti ile yapıya önemli derecede kararlılık sağlarlar. Öte yandan proteinlerdeki R-SH grupları, hücredeki redoks sinyal yolaklarında, bazı enzimlerin aktivasyonunda ve inaktivasyonunda, ROT'ların detoksifikasyonunda oldukça önemli rollere sahiptirler (Garcia-Santamarina ve diğ., 2014; Winterbourn, 2015). R-SH grupları, serbest radikallerle karşılaştıklarında, bir elektronu kolaylıkla o serbest radikale verir ve kendisi tiyil radikaline (RS•) dönüşür. Tiyil radikali, elektron transferi ile oluşabildiği gibi hidrojen atomu transferi ile de oluşabilmektedir (Nauser ve diğ., 2015). Oluşan tiyil radikalleri de özellikle peptitlerdeki ve proteinlerdeki karbon-hidrojen (C-H) bağlarına saldırarak, bu molekülleri karbon merkezli radikaller (-C•) olan protein-tiyil radikallerine dönüştürür. Sonuç olarak ilgili peptitlerde veya proteinlerde geri dönüşümsüz hasarlar meydana gelir (Schöneich, 2016).

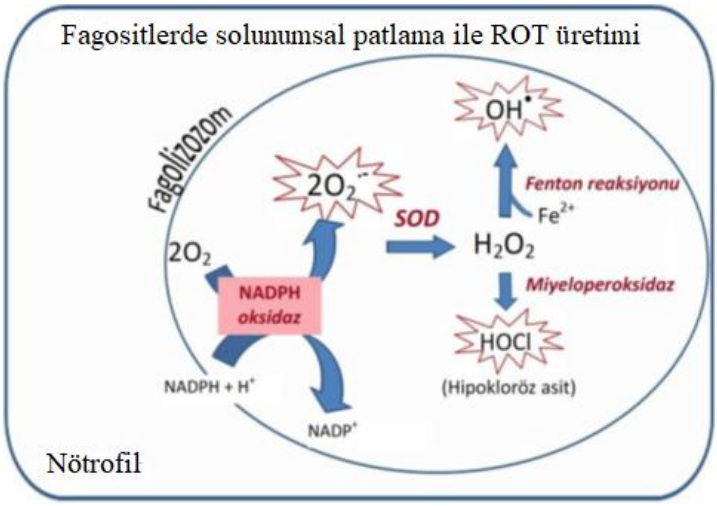
2.2. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI

İnsan vücudunda serbest radikaller iki şekilde meydana gelir. Bunlar endojen ve eksojen kaynaklı serbest radikallerdir ve bu serbest radikaller hücrede ve çevrede devamlı olarak üretilmektedir (Sarma ve diğ., 2010; Sen ve diğ., 2010). Serbest radikal oluşturan bazı kaynaklar Tablo 2.2'de belirtilmiştir (Heves, 2008).

Tablo 2.2: Serbest radikal oluşturan bazı endojen ve eksojen kaynaklar (Heves, 2008).

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Elektron Transport Zinciri	Çözücüler
Oksidan Enzimler	Anestezikler
Proteinler	İlaçlar
Oksidatif Stres	İyonize Radyasyon
Peroksizomlar	X-Işını
Fagositik Hücreler	Güneş Işığı (UV)
Egzersiz	Sigara Dumanı

Organizmada enfeksiyonlara karşı ilk savunmanın yapıldığı yer solunum patlaması olarak adlandırılır. Burada makrofajlar, nötrofiller ve fagositik hücreler, vücutta savunma amacıyla mitokondri dışında oksijenin harcandığı yerde bir solunum patlaması gerçekleştirir. Bu sırada ortamda serbest radikaller meydana gelir. Böylece ortamda bulunan mikroorganizmalar yok edilir; ancak, bu esnada açığa çıkan oksidan ürünler antioksidan koruma sınırını aşarsa diğer hücrelere zarar verir (Özcan ve diğ., 2015) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Fagositlerde ROT üretimi (Özcan ve diğ., 2015).

2.3. SERBEST RADİKALLERİN FİZYOLOJİK ETKİLERİ

2.3.1. Serbest Radikallerin Yararları

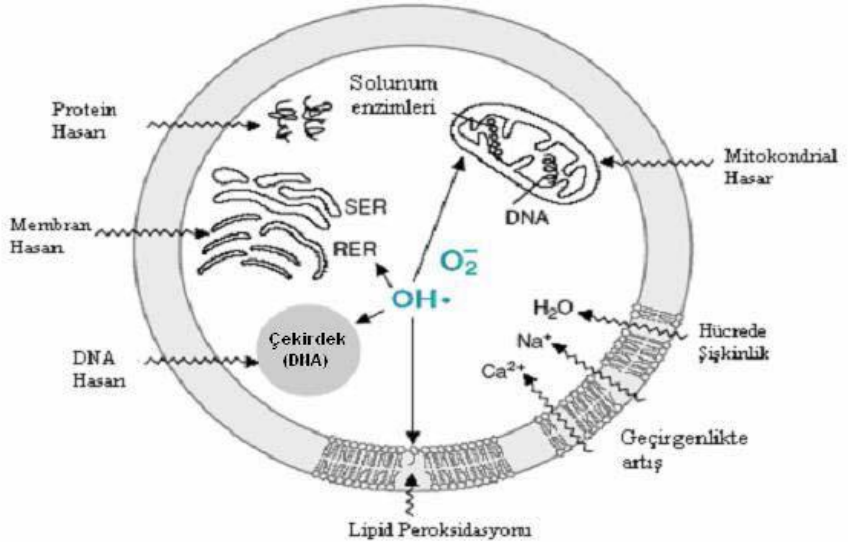
ROT ve RNT'ler fizyolojik koşullarda düşük yoğunluklarda bulunduğunda yararlı etkileri olduğu söylenebilir. Bunlar;

- Fagositoz yardımı ile enfeksiyonlara karşı koruma
- Kanser hücreleri ile savaşma
- Detoksifikasyon
- Mitokondride ATP üretimi
- Hücre büyümesi
- Kalsiyumun intrasellüler depolardan aktarımı

Bunlara ek olarak ROT'lar hücrede çözünerek gen transkripsiyonunda da önemli role sahiptir. Damar düz kaslarındaki kan basıncının düzenlenmesinde NO lökosit adezyonunda görevlidir. Makrofajlardan üretilen NO immun yanıt oluşturmada, nöronlardan üretilen NO ise transmitter madde olarak önemlidir (Schreck ve Baeuerle, 1991; Lander, 1997; Droge, 2002; Fang ve diğ., 2002; Devasagayam ve diğ., 2004; Valko ve diğ., 2007).

2.3.2. Serbest Radikallerin Zararları

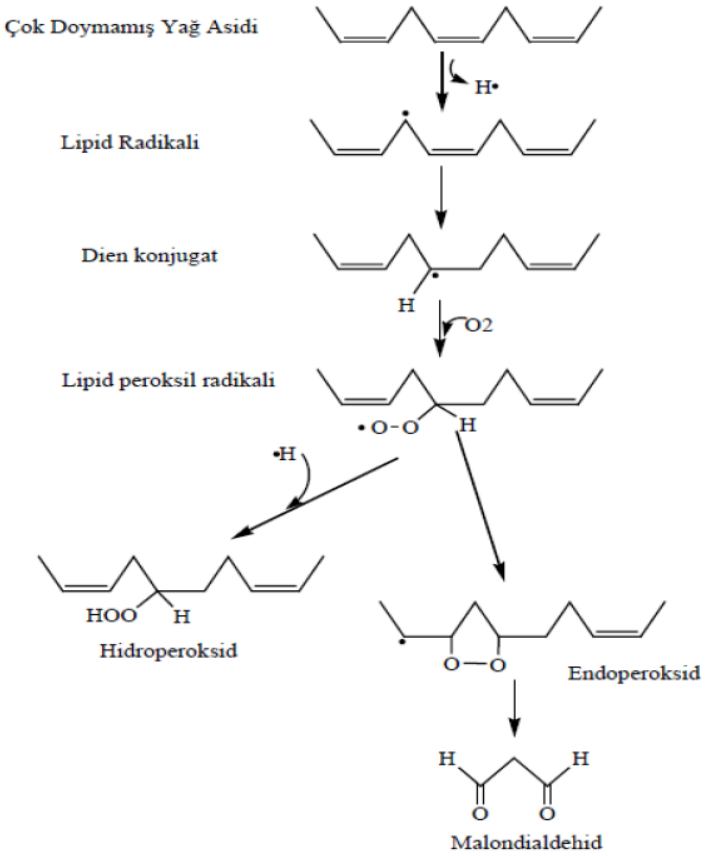
Canlı organizmada ROT ve RNT'ler devamlı olarak üretilirler. Bu üretim antioksidan sistem tarafından kontrol altına alınır. Organizmada bu şekilde bir denge söz konusudur. Bazı hastalık durumlarında denge bozulabilir ve bu dengenin bozulması ile vücutta oksidatif stres olarak adlandırılan bir durum söz konusu olur. Bu durum organizmada ROT ve RNT miktarının üretiminde artışa sebep olur. Bu istenmeyen bir durumdur ve organizma bu durumdan olumsuz etkilenir. Organizmada oksidatif stresten etkilenen sistemler lipitler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Bunların etkilenmesi sonucu diğer pek çok sistem de olumsuz olarak etkilenir (Onat ve diğ., 2002; Lambeth, 2004) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Onat ve diğ., 2002; Lambeth, 2004).

2.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Serbest radikallerin zarar verici özelliklerine karşı en duyarlı moleküller lipitlerdir. Biyolojik sistemde serbest radikallerin etkisi ile oluşan lipit peroksidasyonu, çift tabakalı hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir hidrojen atomu ayrılması ile başlar (Bu durum radikal özellikteki reaksiyonun ilk basamağıdır). Bu şekilde yağ asidi zinciri bir lipit radikali (L•) kazanmış olur. Molekül içinde gerçekleşen yeniden yapılanma ile daha kararlı olan konjuge dienler meydana gelir. Oksijenli ortamda, konjuge dienin moleküler oksijenle birleşmesi lipit peroksil radikallerini (LOO•) oluşturur. Lipit peroksil radikal oluşumu, hücre zarında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asitlerine de tesir ederek, yeni lipit radikallerinin meydana gelmesine neden olduğu için önemlidir. Lipit peroksil radikali aynı zamanda reaksiyonda ortaya çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit peroksidi (LOOH) oluşturur. Bu şekilde lipit peroksidayonu ilerler (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Lipit peroksidasyonunun son basamağı ise lipit peroksitlerinin aldehit ve karboksil grubuna yıkımı ile tamamlanır (Murray ve diğ., 1996) (Şekil 2.5). Lipit peroksidasyonu hücrelere zarar verir ve geri dönüşümü yoktur (Onat ve diğ., 2002).



Şekil 2.5: Lipitlerin peroksidasyonu (Murray ve diğ., 1996).

2.3.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Serbest radikallerden direkt olarak etkilenen proteinlerin, içerdiği amino asitler ile etkilenme derecesi belirlenir. Bileşiminde triptofan, tirozin, fenilalanin ve histidin gibi aromatik amino asitler ile metiyonin ve sistein gibi sülfür içeren grupları (-SH veya -S- grupları) bulunduran amino asitlerin olması, proteinlerin serbest radikallerle daha kolay bir şekilde tepkimeye girmelerine sebep olmaktadır. Çünkü aromatik ve sülfür içeren grupların reaktiviteleri yüksektir (Devasagayam ve diğ., 2003).

Serbest radikaller enzim aktivitesini engeller ve bu durum birçok proteinin zarar görmesine sebep olur. ROT ve RNT'lerin sebep olduğu protein oksidasyonu sonunda, kararlı reaktif ürünler oluşarak bu ürünlerin geçiş metal iyonları ile reaksiyonu sonucunda da radikaller meydana gelebilir. İşlevsel olarak inaktif olan çoğu okside protein hızlı bir şekilde uzaklaştırılsa da, bazıları zamanla kademeli olarak birikebilir ve böylece yaşlanmanın yanı sıra çeşitli hastalıkların neden olduğu hasara da katkıda bulunabilir (Devasagayam ve diğ., 2004; Sarma ve diğ., 2010).

2.3.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin en çabuk tesir ettikleri hedef molekül DNA'dır. Serbest radikal grubundan özellikle hidroksi radikalinin DNA ile etkileşiminden ciddi hasar meydana gelmektedir ve bu sebeple hidroksi radikali en zararlı radikal çeşididir. DNA'da bulunan pirimidinin 4. karbon ve 5. karbon arasındaki çift bağın hidroksi radikaline karşı hassasiyeti oldukça fazladır. ROT ve RNT'lerin saldırıları aynı zamanda organizmada bulunan polisentetaz enziminin aktif hale geçmesine neden olur. Bu enziminin aktif hale geçmesi ise DNA'nın parçalanmasına ve hücre ölümüne sebep olur. Tüm bu süreçler elektron transport sisteminde de hasara neden olarak NAD^+ miktarını azaltır (Kuraoka ve diğ., 2001; Fang ve diğ., 2002; Devasagayam ve diğ., 2004; Sarma ve diğ., 2010).

Serbest radikallerin sebep olduğu hücre ölümüne karşı, organizma kendisini enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi sayesinde korumaktadır (Thomas, 1995; Blomhoff, 2005).

2.3.2.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlara Etkileri

Serbest radikaller ve karbohidratların etkileşimiyle ortaya çıkan ürünler, organizmada farklı patolojik süreçlerde rol alırlar. Bu etkileşim temelde monosakkaritlerin otooksidasyonu ile süperoksitler ve okzalaldehitler meydana getirmesidir. Ortaya çıkan bu ürünler sigara kullanımı ve diyabette önemli rol alır. Aynı zamanda okzalaldehitler RNA, DNA ve proteinlere bağlanır ve hücre çoğalmasını engelleyerek yaşlanma ve kanser gibi olaylarda olumsuz rol oynar (Hawkins ve Davies, 1998; Young ve Woodside, 2001).

2.4. ANTİOKSİDANLAR VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizma, serbest radikallerin vücutta oluşturacağı hasarı ortadan kaldırmak için gerek hücre içerisinde gerekse hücre membranında birçok savunma mekanizması geliştirir. Organizmada İndirgenmiş glutatyon (GSH), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) en önemli antioksidanlardır. Bu antioksidanlar organizmada çeşitli reaksiyonlarla serbest radikal oluşumunu önler ya da ortaya çıkaracağı hasarı en aza indirger (Murray ve diğ., 2000; Akbari ve diğ., 2018). Yapılan birçok araştırmada antioksidanların, organizmada meydana gelen hasara karşı ilk savunmayı yaptığı ve sağlığın

korunmasında önemli yapıları oluşturduğu kanıtlanmıştır. Vücutta, sigara kullanımı, hava kirliliği ve çeşitli ilaçların kullanımı ile ortaya çıkaracağı serbest radikaller o bölgede bulunan antioksidan üretimini arttırmaktadır (Chen ve Yen, 2007).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller devamlı olarak üretilmekte ve bu üretim de antioksidan sistem tarafından kontrol edilmektedir. Vücutta serbest radikaller giderilmediği taktirde hücre membranında yer alan proteinlere zarar vererek hücrenin fonksiyonunu engeller ve DNA'da ciddi derecede hasar meydana getirir (Serteser ve Gök, 2003). Organizmada serbest radikal üretimi ve antioksidan sistem denge halindedir. Serbest radikal oluşumu artarsa ve antioksidan sistem bu kararsız molekülleri ortadan kaldırmada başarısız olursa, serbest radikal saldırısı ve lipit çift tabakalı hücre membranının zarar görmesi ile oksidatif stres denilen durum meydana gelir. Oksidatif stres tüm canlılarda görülebilir ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında oksidatif stresin neden olduğu bilinmektedir (Moldovan ve Moldovan, 2004). Bu hastalıkların bazıları Tablo 2.3'te gösterilmiştir (Busciglio ve Yankner, 1995; Good ve diğ.,1996; Smith ve diğ., 1996; Taddei ve diğ., 1998; Cohen, 2000; Rao ve diğ., 2000; Tak ve diğ., 2000; Kumar ve diğ., 2002; Chang ve diğ., 2003; Gardes-Albert ve diğ., 2003).

Antioksidanlar ROT'ların hasarını azaltmada dört farklı şekilde etki eder;

- **Toplayıcı Etki:** Serbest oksijen radikallerine etki ederek onları tutar ya da daha zayıf bir moleküle çevirir. Örnek olarak antioksidan enzimler verilebilir.
- **Onarıcı Etki:** Reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu hasarı önler.
- **Bastırıcı Etki:** Reaktif oksijen türleriyle etkileşim haline geçerek, bu moleküllere tek hidrojen aktarıp etkinliklerini azaltır ya da inaktif hale getirir. Vitaminler örnek olarak verilebilir.
- **Zincir Kırıcı Etki:** Reaktif oksijen türlerini bağlar ve zincirlerini kırarak fonksiyonlarını engeller. Örnek olarak hemoglobin verilebilir (Akkuş, 1995).

Tablo 2.3: Oksidatif hasara bağlı bazı hastalıklar (Busciglio ve Yankner, 1995; Good ve diğ.,1996; Smith ve diğ., 1996; Taddei ve diğ., 1998; Cohen, 2000; Rao ve diğ., 2000; Tak ve diğ., 2000; Kumar ve diğ., 2002; Chang ve diğ., 2003; Gardes-Albert ve diğ., 2003).

OKSİDATİF STRESE BAĞLI RAHATSIZLIKLAR		
Kardiyovasküler Hastalıklar	**Merkezi Sinir Sistemi Hastalıkları**	**Kanser**
Yapılan çalışmalara göre C ve E vitaminlerinin kardiyovasküler rahatsızlıklarda koruyucu etkilerinin olduğu saptanmıştır. C vitamini eksikliğinde NO üretiminde artış ve beraberinde damar tıkanıklığı, yüksek tansiyon gibi hastalıklar ortaya çıkmaktadır. E vitamini tüketen hastalarda LDL düzeyinin tüketmeyenlere göre daha iyi korunduğu gözlenmiştir.	Fazla oksijen tüketimi ve düşük glutatyon seviyesi ile serbest demir iyonlarının ve reaktif moleküllerinin derişimi artarak nöron hücrelerini oksidatif strese karşı savunmasız bırakır. Oksidatif stresin meydana gelmesi ile antioksidan savunma sistemi zayıflayarak çeşitli hastalıkları meydana getirir. Bunlar; *Alzheimer *Beyin Tümörü *Parkinson *Down Sendromu	Kanser ile ilgili yapılan araştırmaların gelişmesinde en önemli faktör DNA hasarına neden olan oksijen türevli radikal mekanizmalarının keşfi olmuştur. Serbest radikaller DNA sarmalını hasara uğratarak gen diziliminde önemli bozukluklar meydana getirir. Ayrıca aşağıda belirtilen bazı ciddi rahatsızlıklara da neden olmaktadır. *Yaşlanma *Böbrek Yetmezliği *Diyabet *İnflamasyon

2.5. ANTİOKSİDANLARIN SINIFLANDIRILMASI

Antioksidanlar, doğal antioksidanlar ve sentetik antioksidanlar olarak iki başlık altında toplanır. Sentetik antioksidanların birçoğu fenolik yapılıdır. Antioksidanların gösterdikleri aktiviteleri arasındaki fark kimyasal yapıları ile ilgilidir (Flora ve diğ., 2013).

Antioksidanların genel sınıflandırılması Tablo 2.4'te verilmiştir (Pradedova ve diğ., 2010).

Tablo 2.4: Antioksidanların sınıflandırılması (Pradedova ve diğ., 2010).

DOĞAL ANTİOKSİDANLAR		SENTETİK ANTİOKSİDANLAR
ENZİMATİK OLANLAR	ENZİMATİK OLMAYANLAR	

• Süperoksit dismutaz • Katalaz • Glutatyon peroksidaz • Glutatyon- S -transferaz • Glutatyon redüktaz • Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz	**Endojen Antioksidanlar** • Glutatyon • Seruloplazmin • Bilirubin • Ferritin • Laktoferrin • Ürik asit • Haptoglobinler • Albumin	**Eksojen Antioksidanlar** • E Vitamini (Tokoferoller) • β-Karoten • C Vitamini (Askorbik asit) • Flavonoidler	• Bütillenmiş hidroksi anisol • Bütillenmiş hidroksi toluen • Propil gallat

2.5.1. Doğal Antioksidanlar

2.5.1.1. Enzimatik Doğal Antioksidan Savunma Sistemi

Doğal antioksidanlar radikal reaksiyonlarda kararlılıkları, içeriğinde fenolik hidrojen bulundurmaları ve yapılarında kimyasal sübstitüe gruplarına bağlı olarak etki ederler (Hall, 2001).

A. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD, E.C.1.15.1.1) enzimi, süperoksit radikallerinin moleküler oksijen ve H_2O_2'ye dönüşüm tepkimesini katalizler. Bu yüzden bu antioksidan savunma sistemi oksijene maruz kalan tüm hücrelerin hemen hemen tümünde önemlidir. Hücrelerde oksijen hasarına karşı koruyucu olarak görev alır. SOD enziminin reaktifliği oldukça yüksektir (Özdemir, 2011).

$$M^{(n+1)+}\text{–SOD} + O_2^{-}\bullet \rightarrow Mn^{+} - \text{SOD} + O_2$$

$$Mn^{+}\text{–SOD} + O_2^{-}\bullet + 2H^{+} \rightarrow M^{(n+1)+} - \text{SOD} + H_2O_2$$

$$\text{Toplamda, } O_2^{-}\bullet + O_2^{-}\bullet + 2H^{+} \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

Burada; M = Cu (n=1) ; Mn (n=2) ; Fe (n=2); Ni (n=2) olabilir (Özdemir, 2011).

Süperoksit dismutazlar farklı formda bulunabilirler. Bunlar kofaktörlerine göre Cu, Zn içeren ve mononükleer Mn, Fe ve Ni içerenler olmak üzere dört grup altında toplanır (Whittaker ve Whittaker, 1998).

B. Katalaz

Katalaz (CAT, E.C.1.11.1.6) enzimi tüm hücrelerde farklı konsantrasyonlarda bulunan, peroksizomlarda lokalize olan ve dört "hem" grubundan oluşan bir hemoproteindir. Tüm aerobik hücrelerde CAT enzimi bulunmaktadır. CAT'ın en çok aktivite gösterdiği dokular karaciğer, böbrek, çizgili kaslardır. CAT hidrojen peroksitin zararlı etkisini, onu su ve oksijene indirgeyerek ortadan kaldırır (Özkan ve diğ., 2000).

$$2H_2O \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$

C. Glutatyon Peroksidaz

Büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerinin ve H_2O_2'nin indirgenmesinde glutatyon peroksidaz (GPx, E.C.1.11.1.4) enzimi görev alır. Dört selenyum atomu içeren tetramerik yapılı olan GPx hücrenin sitozol kısmında yer alır. En fazla bulunduğu doku karaciğerdir (Temür, 2006).

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2H_2O$$

D. Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz (GR, E.C.1.8.1.7), GPx aracılığıyla hidroperoksitlerin redüksiyonu ile meydana gelen yükseltgenmiş glutatyonun (GSSG) redükte glutatyona (GSH) dönüşümünde görev alır (Pektaş, 2009).

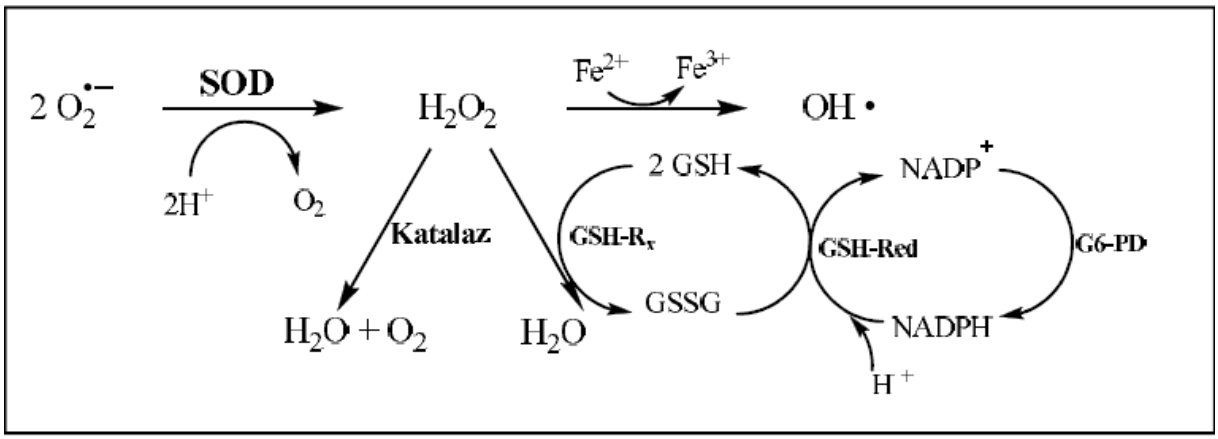
$$GSSG + NADPH^+ + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

E. Glutatyon-S-Transferaz

Glutatyon-S-transferaz (GST, E.C.2.5.1.18) enzimi, lipit hidroperoksitlere karşı selenyumdan bağımsız aktivite gösterir (Pektaş, 2009).

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GST} GSSG + ROH + H_2O$$

Oksidatif stresin neden olduğu zararlı etkilere karşı enzimatik savunma mekanizmaları özet olarak Şekil 2.6'da verilmiştir (Kavas, 2008).



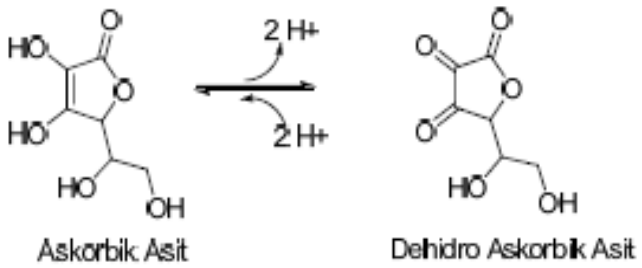
Şekil 2.6: Oksidatif strese karşı enzimatik koruma sistemleri (Kavas, 2008).

2.5.1.2. Enzimatik Olmayan Doğal Antioksidan Savunma Sistemi

Non-enzimatik yapıda olan doğal antioksidanlar bitki ve hayvan dokularında bulunan bileşiklerin işlem görmesi sonucu meydana gelir. En önemli doğal antioksidanlar askorbik asit, karotenoidler, flavonoidler ve tokoferollerdir (Görünmezoğlu, 2008).

A. Askorbik asit (C Vitamini)

Askorbik asit molekül ağırlığı düşük ve suda çözünen bir vitamindir. Biyolojik sistemde indirgeyici ajan olarak rol alır (Antmen, 2005) (Şekil 2.7). İndirgeyici özelliği yüksek olduğundan kuvvetli bir antioksidan özellik gösterir (Serteser ve Gök, 2003; Anıl, 2006).



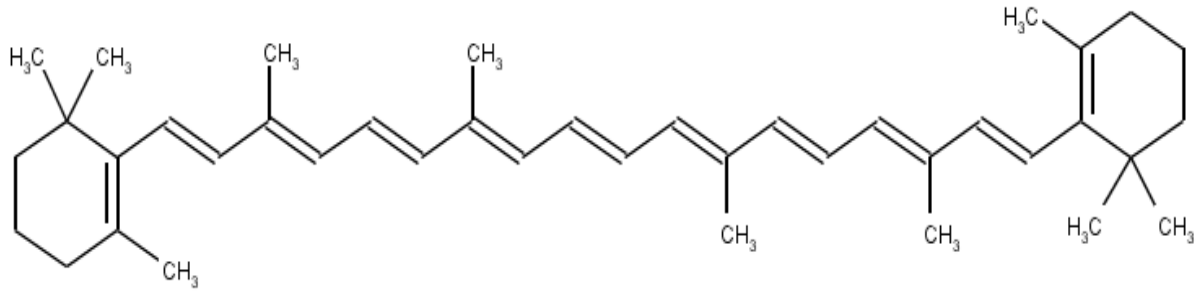
Şekil 2.7: C vitamini indirgenme reaksiyonu (Antmen, 2005).

Meyve ve sebzeler en iyi C vitamini kaynaklarıdır. Kuru baklagiller ve tahıllar ise C vitamini içeriği düşük gıdalardır (Saldamlı ve Sağlam, 1998; Anıl, 2006).

C vitamini dışarıdan alınır, vücutta depolanmaz ve idrarla dışarı atılır (Antmen, 2005).

B. Karotenoidler

Karotenoidler renkli karmaşık yapıya sahiptirler. Karotenoidlerin, bitkilerde çiçeklere renk verme ve fotosenteze yardımcı olma gibi iki temel fonksiyonu bulunmaktadır. Bitki ve meyvelerin karakteristik rengi buradan gelmektedir. Bir çok karotenoid doğada antioksidan aktiviteye sahiptir (Çöllü, 2007). En çok kullanılanı β-karoten'dir, A vitamininin öncülü olarak bilinir (Green ve Fascetti, 2016).

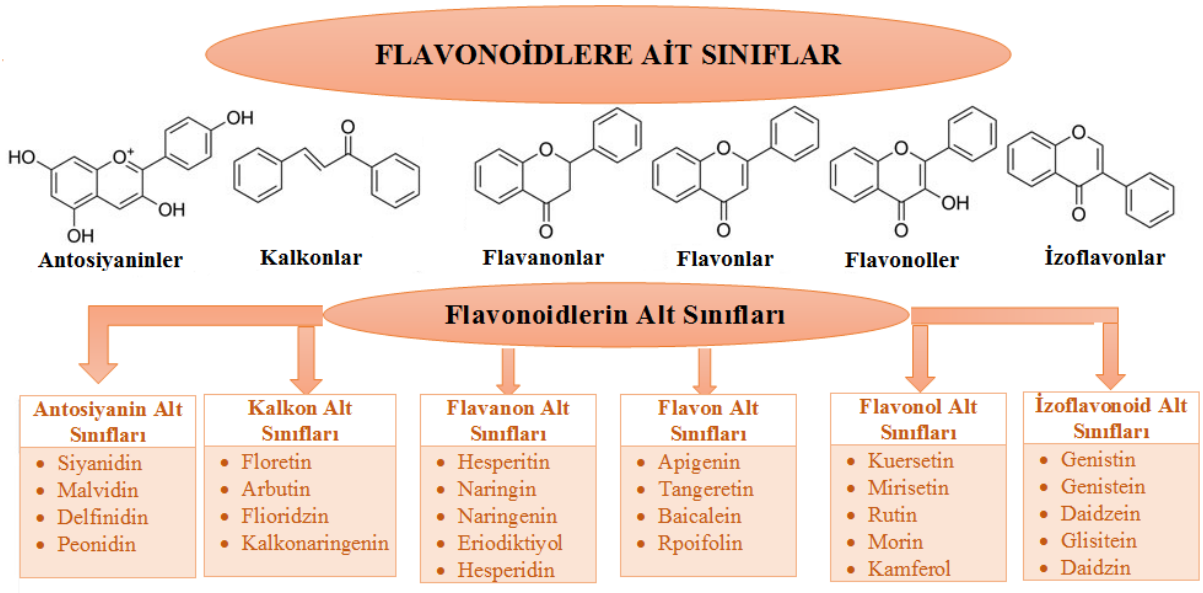


Şekil 2.8: β-karoten'in yapısı (Green ve Fascetti, 2016).

Karotenoidlerin bir çok fizyolojik görevi vardır. Serbest radikalleri yok ederek bağışıklık sistemini güçlendirmede oldukça önemlidirler. Yapılan çalışmalarda karaciğer kanserini azaltmada önemli olduğu saptanmıştır (Mukhopadhyay, 2000; Uğuzlar, 2009).

C. Flavonoidler

Flavonoidler kuvvetli antioksidan özelliklere sahip bitkisel kökenli maddelerdir. Birçok çeşidi olan flavonoidler kendi içlerinde gruplandırılırlar. Bunları birbirinden ayıran temel özellikler hidroksi sayısı, üçlü karbon segmentinin oksidasyon düzeyi ve doymamışlık derecesidir (Ilçım ve diğ., 1998). Flavonoidler yapılarına göre 6 grupta toplanırlar. Bunlar antosiyaninler, kalkonlar, flavanonlar, flavonlar, flavonoller ve izoflavonlardır. Flavonoidlere ait olan gruplar ve bu gruba dahil olan bazı moleküller Şekil 2.9'da verilmiştir (Panche ve diğ., 2016).

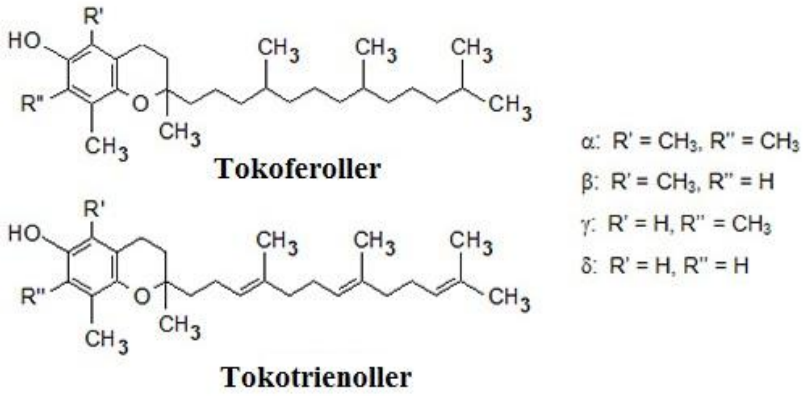


Şekil 2.9: Flavonoidlere ait olan gruplar ve bu gruba dahil olan bazı moleküller (Panche ve diğ., 2016).

Flavonoidlerin organizma için en önemli fonksiyonları oksidatif hasarlara karşı korumak, bazı enzimlerin aktivasyonunu sağlamaktır (Middleton ve Kandaswami, 1992).

D. Tokoferoller (E Vitamini)

E vitamini dördü tokoferol, dördü tokotrienol olmak üzere sekiz farklı bileşik için ortak kullanılan bir isimdir (Pennock ve diğ., 1965). İçlerinden en aktif olanı α-tokoferoldür. Bu bileşik yağda çözünen bir bileşiktir ve hücre membranına gömülü halde bulunur (Kozarski ve diğ., 2015). Tokoferol ve tokotrienollerin kimyasal yapısı aşağıda gösterilmiştir (Abidi, 2000) (Şekil 2.10).



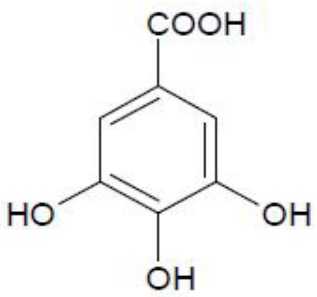
Şekil 2.10: Tokoferol ve tokotrienollerin kimyasal yapısı (Abidi, 2000).

Tokoferollerin yapılarında, reaktif türlerle tepkimeye giren ve onları indirgeyebilen hidroksil grubu bulunur. Tokoferoller, antioksidan etkilerini radikal reaksiyonu sırasında zincir kırıcı etkisiyle gösterir (Antmen, 2005).

E vitamini neredeyse tüm besinlerde bulunur. En fazla E vitaminine sahip gıdalar bitkisel yağlar, tahıl, fındık ve tohumlardır (Godbout ve diğ., 2004).

E. Gallik Asit

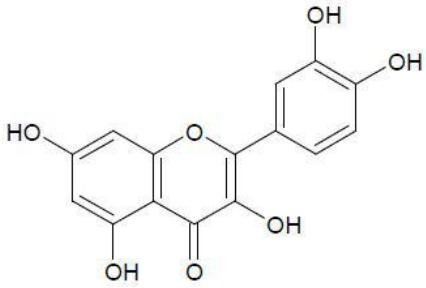
Hidroksibenzoik asit sınıfında olan gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit; $C_7H_6O_5$), tanin adı verilen bileşiklerin asit veya alkali ile hidrolizi ile meydana gelir. Bitkilerden elde edilen gallik asit en fazla yeşil çayda bulunmaktadır. İlaç, gıda ve kozmetikte ürünlerin bozulmalarını önlemek amacıyla kullanılmaktadır (Curcio ve diğ., 2009). Aynı zamanda gallik asidin mikrop üremesine karşı etkisi bulunduğundan gıdalarda katkı maddeleri gallik asit olan yeni ürünler araştırılmaktadır (Strlic ve diğ., 2002) (Şekil 2.11).



Şekil 2.11: Gallik asidin kimyasal yapısı (Strlic ve diğ., 2002).

F. Kuersetin

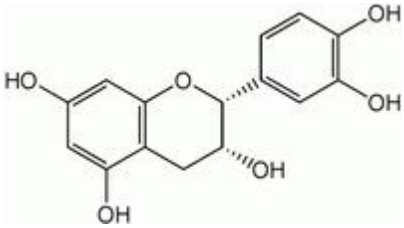
Kuersetin [2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-kromen-4-on; $C_{15}H_{10}O_7$] en iyi bilinen flavonol türevi olan antioksidandır. Hücreyi oksidatif strese ve ROT hasarına karşı korur (Sakanashi ve diğ., 2008) (Şekil 2.12). Kuersetin en fazla soğan, elma, lahana ve çayda bulunur.



Şekil 2.12: Kuersetinin kimyasal yapısı (Sakanashi ve diğ., 2008).

G. Epikateşin

Epikateşin, kanser ve obeziteye karşı büyük aktivite gösteren flavanol türevi bir antioksidandır. En fazla bulunduğu gıda yeşil çaydır (Schroeder ve diğ., 2001) (Şekil 2.13).



Şekil 2.13: Epikateşinin kimyasal yapısı (Schroeder ve diğ., 2001).

2.5.2. Sentetik Antioksidanlar

Son yıllarda yapılan çalışmalarda biyolojik sistemi oksidatif hasara karşı koruyan, organizmanın kendi sentezlediği ya da dışardan aldığı antioksidanlara olan ilgi giderek önem kazanmaktadır. Araştırmacıların çoğu organizmaya zararı olmayacak türden sentetik

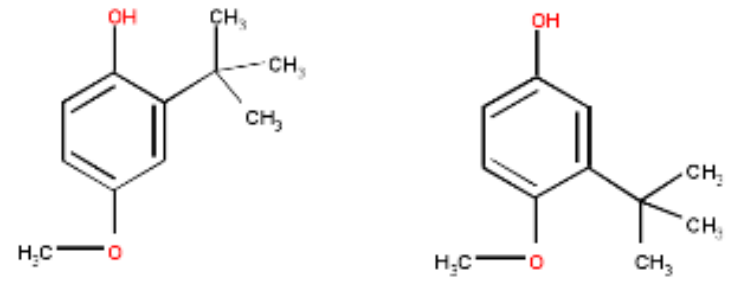
antioksidan arayışındadır. 1940'lı yıllardan bu yana çok fazla sentetik antioksidan madde sentezlenmiştir. Ancak, günümüzde sentezlenen bu antioksidanların çok küçük bir kısmının kullanımına devam edilmektedir. Sentetik antioksidanlar da tıpkı doğal antioksidanlar gibi etki edecek şekilde geliştirilirler (Eken, 2007).

Besinler alındıktan sonra organizmada oluşacak serbest radikallere karşı gıdalarda bulunan antioksidanlar büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle besinlerde bulunması gereken temel özellikler;

- Küçük miktarlarda kullanılmalı bu şekilde maliyeti artmamış olmalı,
- İnsan sağlığına zararlı etkisi bulunmamalı,
- Besinin kokusu, tadı ve görünüşü bozuk olmamalı,
- Çözüneceği madde içinde iyice çözünmeli ve karışmalı,
- Yüksek sıcaklıklarda etkisini yitirmemelidir (Sezgin, 2006).

2.5.2.1. Bütillenmiş Hidroksianisol (BHA)

BHA, beyaz mumsu parçacıklar halinde bulunan ve 3-tersiyerbütil- ve 2-tersiyerbütil-4-hidroksianisol izomerlerinin karışımı olan bir sentetik antioksidandır (Uğuzlar, 2009) (Şekil 2.14). Suda çözünmez, hayvansal ve bitkisel yağlarda çözünür. BHA'nın besin maddlerinde koruyucu olarak ilave edilmesine ilk defa 1948 yılında izin verilmiştir. Katı ve sıvı yağlarda antioksidan olarak kullanımına halen devam etmektedir (Eken, 2007).

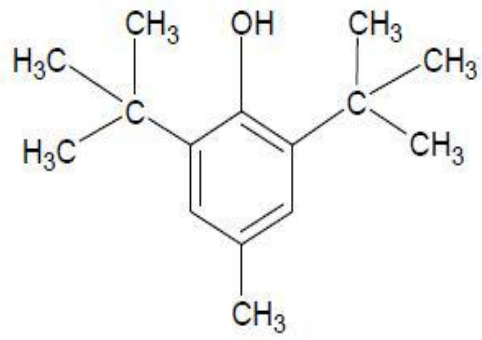


3-tersiyerbütil-4-hidroksianisol (%85) 2-tersiyerbütil-4-hidroksianisol (%15)

Şekil 2.14:BHA'nın izomerleri (Uğuzlar, 2009).

2.5.2.2.Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT)

Bütillenmiş hidroksitoluen ilk olarak soya yağının otoksidasyonunda bozunma ürünlerinin tayininde keşfedilmiştir (Şekil 2.15). BHT, yağların oksidasyonu sonucu ortaya çıkan peroksit radikallerinin sebep olduğu zararı ortadan kaldırır (Çöllü, 2007).

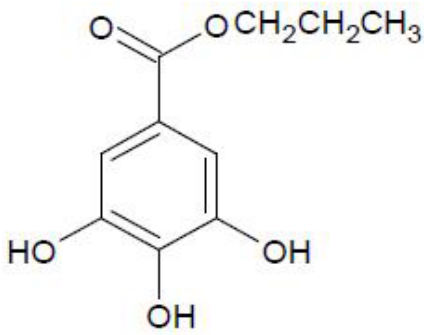


Şekil 2.15: BHT'nin kimyasal yapısı (Çöllü, 2007).

BHT de, BHA gibi ısıya dayanıklı bir antioksidandır. Bu nedenle kızartmalarda kullanılarak gıdanın dayanıklılığını sağlar (Yanishlieva, 2001; Uğuzlar, 2009).

2.5.2.3. Propil Gallat (PG)

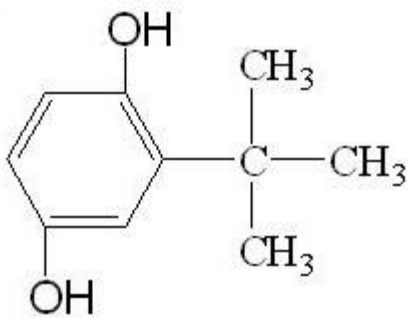
Hayvansal ve bitkisel kaynaklardan elde edilen yağların korunması amacıyla en fazla tercih edilen, gallik asidin esteri olan ve beyaz renkte kristaller halinde bulunan antioksidandır (Gökalp ve Çakmakçı, 1992; Uğuzlar, 2009). Propil gallat, sitrik asit ile birlikte kullanılır. Bu sayede, sitrik asit, demir ve bakır iyonlarının katalizlediği prooksidatif tepkimeleri önlemektedir (Özyürek, 2005) (Şekil 2.16).



Şekil 2.16: PG'ın kimyasal yapısı (Özyürek, 2005).

2.5.2.4. Tersiyer Bütil Hidrokinon (TBHQ)

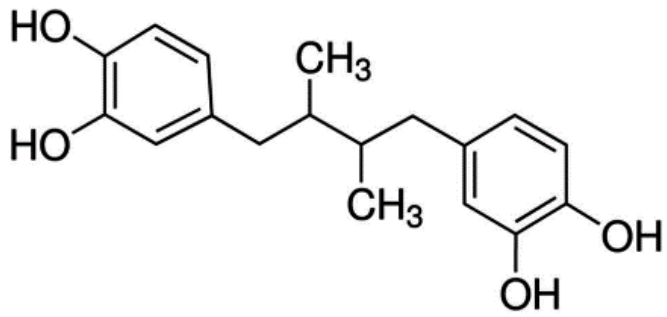
Bitkisel ve hayvansal yağlarda koruyucu olarak kullanılan TBHQ (2-(1,1-Dimetiletil)-1,4-benzendiol), güçlü bir antioksidan özellik gösterir (Wanasundara ve Shadidi, 1998) (Şekil 2.17).



Şekil 2.17: TBHQ'nun kimyasal yapısı (Wanasundara ve Shadidi, 1998).

2.5.2.5. Nordihidroguayeretik Asit (NDGA)

Grimsi bir madde olan NDGA, yaprak dökmeyen çöl çalısı olan ve *Larrea divaricata* olarak isimlendirilen bitkinin yapraklarında ve dallarında bulunan bir fenolik antioksidandır (Rahman ve diğ., 2011) (Şekil 2.18). Bu bitkiden ekstrakte edilebildiği gibi sentetik olarak da elde edilmektedir. Yerli Amerikalılar ve Meksikalılar tarafından uzun süredir geleneksel tıbbi kullanım öyküsü vardır. 1950'lerde bir gıda koruyucusu olarak ve doğal lifleri korumak için yaygın olarak kullanılmışsa da, 1960'ların başında uzun süreli kullanılmasının bilim insanları tarafından hem renal hem de karaciğer toksisitesine neden olduğunun bildirilmesi ile kullanımı yasaklanmıştır. Her ne kadar kullanımı tartışmalı olsa da kısırlık, romatizma, artrit, diyabet, safra kesesi ve böbrek taşları, ağrı ve iltihap gibi çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılır (Arteaga ve diğ., 2005).



Şekil 2.18: NDGA'nın kimyasal yapısı (Rahman ve diğ., 2011).

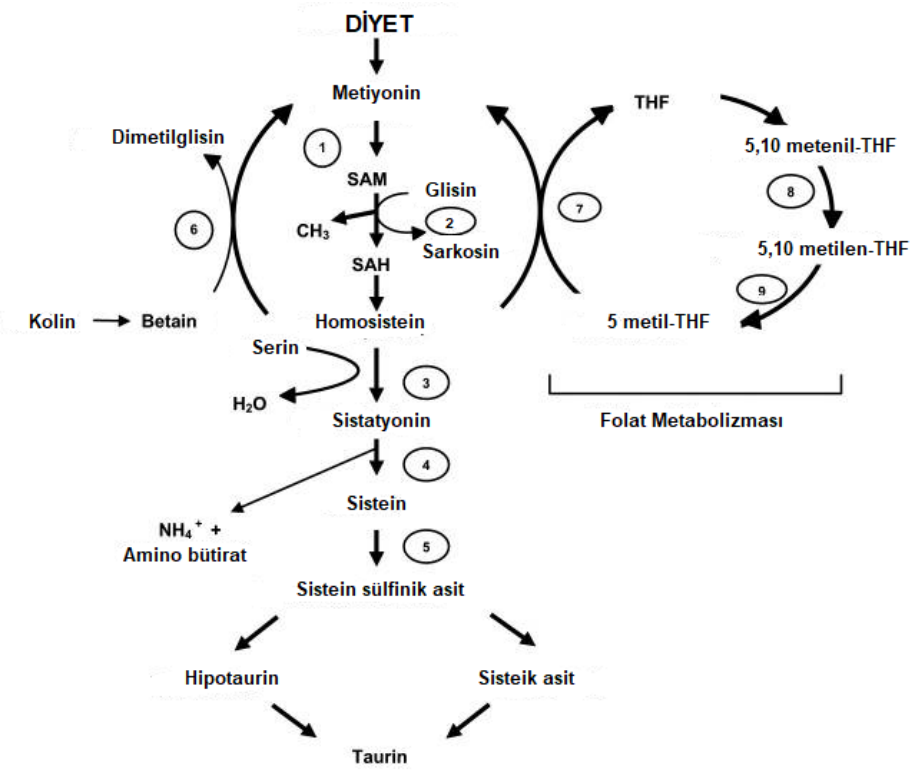
2.6. SÜLFÜR

Sülfür, 16 atom numarasına sahip, 32.064 atom ağırlığında olan bir elementtir. Sülfür elementinin, mikroorganizmalar, bitkisel ve hayvansal organizmalar ile yeryüzündeki en gelişmiş canlı olan insanlar için elzem olmasının nedeni, biyolojik katalizörler olan enzimlerin, proteinlerin, bazı vitaminlerin ve diğer birçok biyokimyasal açıdan önemli molekülün yapısına katılmasıdır (Parcell, 2002; Komarnisky ve diğ., 2003). Çoğu kaynak, gıdalarda bulunan sülfür elementinin kaynağı olarak sülfür içeren amino asitler (SİAA'lar) olduğu konusunda ortak düşüncededir.

2.6.1. Sülfür İçeren Amino Asitler

SİAA'lar, sülfhidril grubu içeren bir tür amino asitlerdir. SİAA'lar arasında, metiyonin ve sistein, birincil SİAA'lar olarak kabul edilir. Metiyonin memelilerde büyüme ve gelişmenin sürdürülmesi için yeterli miktarda sentezlenemediğinden vazgeçilmez (esansiyel) bir amino asittir. Bununla birlikte, sistein, memelilerde metiyonin metabolizması sırasında üretilebildiği için yarı-esansiyel bir amino asittir. Bu nedenle, SİAA'ların, memelilerin diyetindeki gerekliliğini temsil ettiği düşünülmektedir (Bin ve diğ., 2017).

Diyetsel SİAA'ların organizmadaki döngüsü metiyonin, sistein, homosistein ve taurin amino asitleridir (Hermes-Lima ve diğ., 1991; Atmaca, 2004; Townsend ve diğ., 2004) (Şekil 2.19).



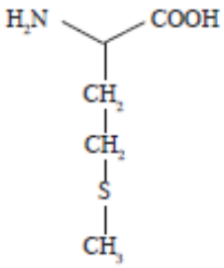
Şekil 2.19: Diyetsel SİAA'ların organizmadaki döngüsü (Hermes-Lima ve diğ., 1991; Atmaca, 2004; Townsend ve diğ., 2004).

[1] Metiyonin adenosil-transferaz (MAT); [2] Glisin N-metiltransferaz (GNMT); [3] Sistatiyonin β-sentaz (CBS); [4] γ-sistatiyonin (γ-CYS); [5] Sistein sülfinik asit dekarboksilaz (CDO); [6] Betain homosistein metiltransferaz (BHMT); [7] Metiyonin sentaz (MS); [8] 5,10 metilen tetrahidrofolat dehidrojenaz (MTHFD); [9] 5,10 metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR).

Çalışmamızda SİAA'lar arasından metiyonin, sistin ve taurin'in antioksidan aktiviteleri incelendiği için, yalnızca bu amino asitler hakkında bilgi verilmiştir.

2.6.1.1. Metiyonin

Organizmanın temel sülfür kaynağından biri olan metiyonin, insanlarda ve hayvansal organizmalarda de novo olarak sentezlenemediği için dışarıdan besinler yoluyla alınması gereken esansiyel bir amino asittir (Şekil 2.20).



Şekil 2.20: Metiyonin'in kimyasal yapısı (Fong ve diğ., 1981).

Metiyonin beyaz parlak kristaller halinde kendine has kokusu olan bir amino asittir. Bazik çözeltilerde, su ve mineral asitlerinde çözünebilirken, eterde çözünmez. Laboratuvar şartlarında metiyonin, fermantasyon yoluyla üretilmektedir. Metiyonin D ve L formları da bulunmaktadır, rasemik karışım olan bu formların üretimi ise kimyasal prosesler ile gerçekleşir (Fong ve diğ., 1981). Meyveler, sebzeler, etler ve baklagiller metiyonin açısından zengin besin kaynaklarıdır.

Protein metabolizmasında metiyonin, S-adenosil metiyonin (SAM) molekülü vasıtası ile metil grubu vericisi olarak görev alır (Parcell, 2002; Atmaca, 2004). SAM, metiyonin kükürtüne bağlanmış bir adenosil molekülünden oluşur, bu nedenle onu bir sülfonyum katyonu yapar. Metiyonin'in yapısındaki sülfür atomunun organizmada oksidasyona uğraması ile metiyonin, metiyonin sülfokside dönüştürülür. Oluşan metiyonin sülfoksit de metiyonin sülfoksit redüktaz enziminin katalitik etkisi ile tekrar metiyonin'e indirgenir. Bu redoks döngüsü ile metiyonin, enzimatik antioksidan savunma sisteminde oksidasyona neden olan türlerin giderilmesinde önemli bir rol oynar. Metiyonin ayrıca, transsülfürasyon tepkimelerindeki sistein, karnitin ve taurin biyosentezinde görev alır. Buna ilave olarak, lesitinin ve diğer fosfolipidlerin biyosentezinde de görevlidir. Proteinlerdeki polipeptit zincirinde bulunan metiyonin kalıntıları, protein stabilitesine önemli ölçüde katkıda bulunan aromatik kalıntılarla bağlar oluşturur. Bu önemli fonksiyonlar göz önüne alındığında, proteinlerdeki metiyonin-metiyonin sülfoksit dengesinin değişmesi, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere hastalık süreçleriyle ilişkilendirilmiştir (Rubin ve diğ., 2007; Lim ve diğ., 2019).

Genetik bilginin aktarılmasında önemli bir role sahip olan metiyonin, protein sentezindeki translasyon aşamasında başlatıcı kodon olan AUG kodonu oluşturur. Başka bir ifade ile, ribozomların mRNA'dan protein sentezini gerçekleştirebilmesi için başlangıç sinyali görevi görür. Bu nedenle, ökaryotlarda ve arkea tipi bakterilerde proteinlerin N-terminal ucundaki ilk amino asit her zaman metiyonindir. Metiyonin içeren ilk kısım, daha sonra sentezlenen proteinden posttranslasyonel modifikasyon işlemleri ile ayrılır. Metiyonin diğer amino asitler gibi proteinlerdeki peptit zincirinin farklı kısımlarında da bulunabilmektedir, fakat protein sentezi sırasında ilk eklenen amino asit metiyonindir (Muramatsu ve diğ., 1988).

2.6.1.2. Sistin

Sistin, iki sistein kalıntısının birbirlerine disülfit bağı ile bağlanmış formudur. Disülfit bağının oluşumu ve sistinin kimyasal yapısı Şekil 2.21'de gösterilmiştir (Kalatzis ve diğ., 2001).



Şekil 2.21: Sistein'den sistin oluşumu ve sistin'in kimyasal yapısı (Kalatzis ve diğ., 2001).

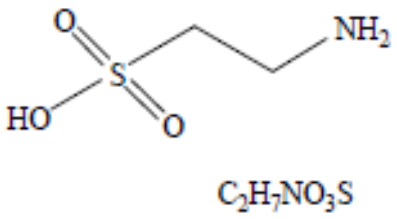
Sistein ile kıyaslandığında, sistinin sudaki çözünürlüğü oldukça azdır. Sistin'in bu özelliği, üriner sistemde ciddi sıkıntılar oluşturabilir. Eğer genetik bir faktör varsa, nadir görülen ve sistinüri ile karakterize kalıtsal bir hastalık olan sistinozis durumu gelişir. Böbreklerin proksimal tübüler kısmında sistin kristallerinin birikerek çökmesi sonucunda, böbreklerde oluşan taşların % 1-2'lik kısmını teşkil eden sistin taşları meydana gelir. Sistinozisli bireylerde genellikle genç yaşta taş başlangıcı görülmektedir ve tedavi için nispeten az seçenek vardır. Artan sıvı tüketimi, diyet ile alınan hayvansal protein ve sodyum miktarının kısıtlanması ve idrar alkalinizasyonu önleyici tedavilerin ilk aşamasını oluşturur (Sumorok ve Goldfarb, 2013).

Alifatik amino asit olan sistein, keratinin yapısında doğal olarak bulunmaktadır. Keratinden zengin kılın yapısında % 16 civarında sistin bulunmaktadır. Sigara kullanımı nedeniyle DNA'da meydana gelen hasarlara bağlı olarak, epidermisteki kıl oluşumunda rol alan enzimlerin de aktivitelerinde değişimler meydana gelir (Freiman ve diğ., 2004). Bunun sonucunda da alopesi adı verilen saç kaybı (saç kıran) durumları görülür ve bunun tedavisinde sistin içeren formülasyonlar kullanılmaktadır. B_6 vitamini ve sistin kombinasyonun, fareler üzerinde oluşturulan deneysel modelde sigaraya bağlı saç kayıpları üzerine koruyucu etkisi olduğu gözlenmiştir. Araştırmalar kıl gelişiminde sistinin önemli bir payı olduğunu ve

epidermisin temel hücrelerini uyardığını ortaya koymuştur (Obrigkeit ve diğ., 2006; D'Agostini ve diğ., 2007).

2.6.1.5. Taurin

Taurin renksiz, suda çözünebilen, molekül ağırlığı 125 dalton (Da) olan esansiyel olmayan bir amino asittir (Şekil 2.21). İlk defa 1968 yılında öküz safrasından izole edilmiş ve Jacobsen ve Smith (1968) tarafından yapısı tanımlanmıştır. Fizyolojik pH sınırında tam olarak iyonize halde bulunan taurin yüksek asidite özellik taşır (Jacobsen ve Smith, 1968).



Şekil 2.22: Taurin'in kimyasal yapısı (Jacobsen ve Smith, 1968).

Taurin'in vücuttaki seviyelerine iki önemli kaynak katkıda bulunmaktadır. Bunlardan ilki diyet yolu ile alınan besinsel kaynaklardır. Diğeri ise metiyonin ve sistein gibi amino asitlerin metabolizmasından meydana gelir. Sentezlendiği yerler beyin ve karaciğerdir (Lambert ve Hansen, 2011).

Taurin'in organizmada;

- Safra asidi sentezini sınırlama,
- Osmoregülatör olarak görev yapma,
- Enerji verici ve nöroinhibitör olarak görev alma,
- Antiinflamatuvar etki,
- İnsülin direncini hafifleterek, glukoz metabolizmasını düzenlemek yolu ile metabolik sendromu iyileştirmek gibi pek çok fonksiyonları bulunmaktadır (Chen ve diğ., 2016).

Taurin'in diyetle fazla alınması durumunda kaslarda harabiyet meydana gelir. Taurin'in vücuttan atılımı ise idrarla gerçekleşir (Jacobsen ve Smith, 1968).

Taurin'in en fazla bulunduğu dokular oksidatif hasara maruz kalan dokulardır. Taurin'in membran lipit peroksidayonuna engel olması üzerine serbest radikallere karşı kalp kası ve beyni koruduğu öne sürülmüştür (Hochacka, 1986; Tseng ve diğ., 1990).

Taurin'in organizmada antioksidan etkileri;

- Membranın denatüre olmasını engeller,
- Membranı transport değişikliklerine karşı korur,
- Doğrudan antioksidan etkisi ile lipit peroksidasyonunu engeller,
- Sülfonik asit grubu ve serbest metal iyonları ile kompleks oluşturarak dolaylı olarak da antioksidan etki gösterir (Tractman ve diğ., 1992; Chen ve diğ., 2016).

Organizmada bulunan toplam taurin miktarı 12-18 g civarındadır. Bunun organlar üzerindeki dağılımı Tablo 2.6'da verilmiştir (Sturman, 1988).

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda, % 0.7-5 oranında diyetsel taurin'in obez hayvanların lipit ve glukoz metabolizmalarını hızlandırdığı, lipit düşürücü etki gösterdiği ve karaciğeri koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca taurin'in, enerji metabolizmasında hayati bir rol oynadığı, taurin eksikliğinde enerji metabolizması işlev bozukluğu meydana geldiği, diyetteki takviyesi ile kas performansı, kalp fonksiyonu, karaciğer aktivitesi ve yağ dokusundaki enerji metabolizmasını güçlendirebildiği bildirilmiştir (Chen ve diğ., 2019).

Tablo 2.5: Çeşitli organlarda bulunan taurin miktarları (Sturman, 1988).

Organ	Taurin (mM/kg doku)
Kalp	30
Timus	11
Orta beyin	3
Kaslar	15
Akciğer	13
Karaciğer	2
Böbrek	11
İnce bağırsak	15
Kalın bağırsak	12
Mide	9
Dalak	16

2.7. ORGANOSÜLFÜR BİLEŞİKLERİ

Organosülfür bileşikleri gıdalarda yayılım göstermektedir. Bu bileşiklerin biyoaktif özellikleri yüzyıllar boyunca halk arasında ve geleneksel tıpta kullanılmıştır (Petropoulos ve diğ., 2019). Bitkilerde bulunan organosülfür bileşikleri, geniş bir biyolojik aktivite spektrumunu kapsayan temel fitokimyasal gruplardan birini temsil eder. Bitkisel gıdalarda sülfür içeren bileşiklerin iki ana kaynağı vardır. Bunlardan ilki sarımsak, soğan (arpacık soğanı, Frenk soğanı vb.) ve pırasa gibi *Allium* türleri iken; brokoli, lahana ve karnabahar gibi sebzeler de diğer grubu oluşturur. Bunlar arasında sarımsak, temel olarak tüketimine atfedilen sağlık arttırıcı etkileri nedeniyle en çok tüketilen türdür. Bu özelliklerin çoğu ise içerdikleri organosülfür bileşiklerine atfedilmiştir (Daniela ve diğ., 2017).

Alliaceae familyasının sebzelerinde türlere göre farklı yapılara sahip organosülfür bileşikleri bulunmaktadır. Taze sarımsağın yapısında 33 adet organosülfür bileşiğinin olduğu bildirilmiştir (Kalra ve diğ., 2006). *Allium* türlerinin sitoplazmalarında en fazla bulunan organosülfür bileşikleri, S-allil-sistein sülfoksit (alliin), S-metil-sistein sülfoksit (metiin) ve γ-glutamil-L-sisteindir. Daha az miktarda ise S-propenil-sistein sülfoksit (izoalliin) ve S-etil-sistein (etiin) bulunmaktadır. Soğanın içerisinde tespit edilen en önemli organosülfür bileşikleri izoalilin (% 49), metiin (% 34), propiin (% 6), etiin (% 5) ve alliin (% 5) iken, sarımsakta ise alliin (% 92), metiin (% 8) ve eser miktarda etiin, propiin ve isoalliin bulunmaktadır (Thomas ve Parkin, 1994; Yoo ve Pike, 1998; Kubec ve diğ., 1999; Rose ve diğ., 2005).

Allium türü sebzelerin tüketiminin çeşitli kanser türlerinin büyümesini geciktirdiği bildirilmiştir. Bazı epidemiyolojik çalışmalar, *Allium* türü sebzelerin, özellikle soğan ve sarımsakların tüketimi ile kanser oranının azalması arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir (Dias, 2019; Lv ve diğ., 2019).

Yapılan pekçok çalışmada *Allium* türlerinin antiaterojenik (Efendy ve diğ., 1997), antibakteriyel (Houshmand ve diğ., 2013), antiinflamatuvar (Zhu ve diğ., 2017), antifungal ve antimikrobiyal (Fratianni ve diğ., 2016), antioksidan (Locatelli ve diğ., 2017) ve kardiyoprotektif (Bradley ve diğ., 2016) özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir.

Allium türlerinde bulunan organosülfür bileşiklerinin birçok faydalı özelliği bulunmaktadır. Yapılan literatür taramasında sistein bileşikleri olarak seçtiğimiz bazı organosülfür bileşiklerinin antioksidan etkilerinin olup olmadığı konusunda herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda, S-benzil-sistein, S-fenil-sistein, S-metil-sistein ile metiyonin, sistin ve taurin'in *in vitro* koşullarda antioksidan aktivitelerinin hem doğal hem de bazı sentetik antioksidan maddelerle araştırılması amaçlanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER

Buzdolabı : Arçelik

Çalkalayıcılı Su Banyosu : Memmert WNB 14

Derin Dondurucu : Beko

Distile Su Cihazı : Brand MonoDest 3000

Etüv : Memmert UNB 500

Mikro Plate Okuyucu Florometre : BioTek FLx800

pH Metre : Hanna pH/ORP Meter HI 2211

Santrifüj Cihazı : Denley BS400

Sonikatör : Bandelin Sonorex Super RK 255/H

Spektrofotometre : Shimadzu UV-Visible Mini UV-1240

Su Banyosu : Bibby Waterbath RE100B

Terazi : Radwag XA 60/220/X Hassas Terazi

Terazi : Radwag AS 220/C/2 Hassas Terazi

Vorteks : Fisons Whirlimixer

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Çalışmamızda, antioksidan aktivitelerini tayin etmek amacı ile sistein bileşikleri olarak S-benzil-L-sistein (S-benzil-Cys; Aldrich B19800), S-fenil-L-sistein (S-fenil-Cys; Aldrich 530190), S-metil-L-sistein (S-metil-Cys; Aldrich 855472), DL-metiyonin (Sigma-Aldrich M-9500), L-sistin (Sigma C-8755) ve taurin (Sigma T-0625) kullanıldı.

İndirgeme gücü deneyinde sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($NaH_2PO_4.2H_2O$, Merck 106345) ve disodyum monohidrojen fosfat ($Na_2HPO_4.2H_2O$, Merck 106573) çözeltileri ile 0.2 M fosfat tamponu hazırlandı. Daha sonra bu tayinde kullanılmak üzere potasyum ferrisiyanür ($K_3[Fe(CN)_6]$, Riedel de Häen 12643), trikloroasetik asit (TCA, Merck 100807), demir-3-klorür ($FeCl_3.6H_2O$ Merck 3948) ve standart madde olarak bütillenmiş hidroksianisol (BHA,

$C_{11}H_{16}O_2$, Sigma B1253) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks, Aldrich 23881-3) kullanıldı.

ABTS radikal giderme aktivitesi tayininde 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS, Fluka 11557), potasyum peroksodisülfat ($K_2S_2O_8$, Merck 5090), metanol (CH_3OH, Merck 106009) ve standart madde olarak Troloks (Aldrich 23881-3), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT, $C_{15}H_{24}O$, Fluka 34750) ve α-tokoferol ($C_{29}H_{50}O_2$, Merck 8283) kullanıldı.

DPPH radikal giderme aktivitesi tayininde 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH, Sigma D-9132) ve metanol (CH_3OH, Merck 106009) kullanıldı. Standart olarak BHA ($C_{11}H_{16}O_2$, Sigma B-1253) ve Troloks (Aldrich 23881-3) kullanıldı.

DMPD radikal giderme aktivitesi tayininde *N*,*N*-dimetil-1,4-fenilen diamonyum diklorür (DMPD, Merck 103067), demir-3-klorür ($FeCl_3.6H_2O$, Merck 3946) ve sodyum asetat ($CH_3COONa.3H_2O$, Merck 6265) kullanıldı. Standart olarak ise L-askorbik asit ($C_6H_8O_6$, Merck 100127) ve Troloks (Aldrich 23881-3) kullanıldı.

Ferri iyonu indirgeyici antioksidan parametre (FRAP) tayininde, 2,4,6-tri(2-piridil)-*S*-triazin (TPTZ, Merck 110208), hidroklorik asit (HCl, Merck 100314), demir-3-klorür ($FeCl_36H_2O$, Merck 3946), sodyum asetat ($CH_3COONa.3H_2O$, Merck 6265), glasiyel asetik asit (CH_3COOH, Merck 100056) ve demir-2-sülfat ($FeSO_4.7H_2O$, Merck 3965) kullanılarak deneyler yapıldı. Standart olarak L-askorbik asit ($C_6H_8O_6$, Merck 100127) ve Troloks (Aldrich 23881-3) kullanıldı.

Metal kelatlama aktivitesinin tayininde demir-2-klorür ($FeCl_2.4H_2O$, Merck 103861) ve ferrozin [3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4′,4″-disülfonik asit sodyum tuzu, Fluka 82950] kullanıldı. Standart olarak etilendiamin tetra asetik asit (EDTA, Merck 8421) kullanıldı.

Nitrit giderme aktivitesi tayininde sodyum sitrat ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$, Merck 6447) ve sitrik asit ($C_6H_8O_7$, Sigma C-7254) çözeltileri ile 0.2 M sitrat tamponu hazırlandı. Deneylerin yapılması için sodyum nitrit ($NaNO_2$, Merck 6544), glasiyel asetik asit (CH_3COOH, Merck 100056), sülfanilik asid (Merck 685) ve naftilamin (Merck 6245) çözeltilerinin eşit hacimde

karıştırılması ile hazırlanan Griess reaktifi kullanıldı. Standart madde olarak kuersetin'den ($C_{15}H_{10}O_7$, Fluka 83370) yararlanıldı.

Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) tayininde potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4, Riedel-de Haen 04243) ve dipotasyum monohidrojen fosfat dihidrat ($K_2HPO_4.2H_2O$, Merck 105101) çözeltileri ile 75 mM fosfat tamponu hazırlandı. Floresein (Merck 3990) ve 2,2′-azobis (2-metilpropionamidin) dihidroklorür (AAPH, Aldrich 440914) kullanıldı. Standart madde olarak da Troloks (Aldrich 23881-3) yararlanıldı.

3.3. SİSTEİN BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

3.3.1. İndirgeme Gücü Yöntemi

Bu metotta sistein bileşiklerinin indirgeme gücü tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı (Oyaizu, 1986). Hem doğal hem de sentetik antioksidanların indirgeme güçlerinin ortaya konulmasında, bu moleküllerin ferri demiri (Fe^{3+}) ferro demire (Fe^{2+}) indirgeyebilme yetenekleri esas alınmaktadır. Söz konusu indirgeme gücü, antioksidan özellik gösteren ve/veya gösterdiği düşünülen bileşiklerin ferri demire elektron veya hidrojen atomu vermesi ile ilişkilidir (Shen ve diğ., 2019). Yöntemde ferri siyanürün ferro siyanüre indirgenmesi ile oluşan mavi renkli kompleksin (Prusya mavisi) daha sonra spektrofotometrede 700 nm'de köre karşı absorbans değeri ölçülür. Mavi rengin şiddeti, örneğin indirgeme gücü ile direkt olarak orantılıdır (Gupta, 2015).

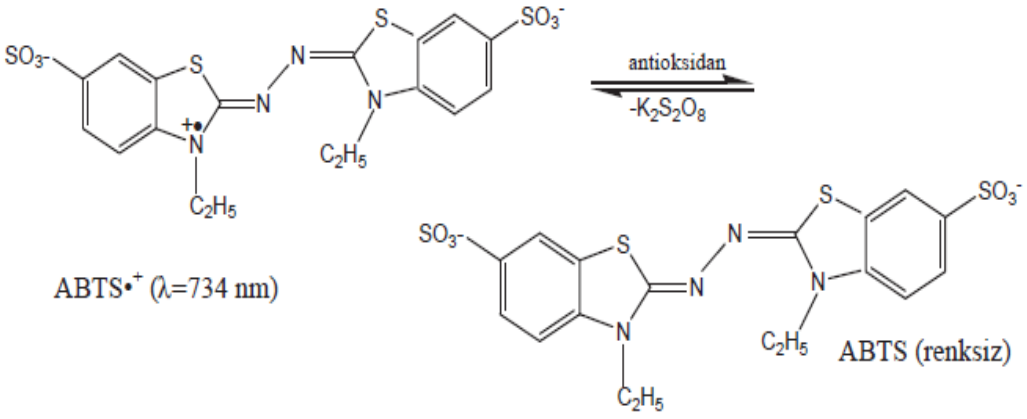
Sistein bileşikleri ve standartların değişik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Standart olarak BHA ve Troloks kullanıldı. Hazırlanan çözeltilerden 1 mL alınarak üzerine pH'sı 6.6 olan 0.2 M fosfat tamponundan 2.5 mL eklendi. Tampon ilavesinden sonra % 1'lik $K_3[Fe(CN)_6]$ den 2.5 mL ilave edilerek hazırlanan karışım 50ºC'deki su banyosunda 20 dakika inkübe edildi. Daha sonra karışımlara % 10'luk TCA çözeltisinden 2.5 mL eklenerek tüpler karıştırıldı ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi. Daha sonra 2.5 mL çözeltinin üst fazından alındı, üzerine aynı hacimde distile su ve % 0.1'lik $FeCl_3$ çözeltisinden 0.5 mL konuldu ve 10 dakika bekletildi. 700 nm'de spektrofotometrede köre karşı absorbans değeri ölçüldü. Deneyde kullandığımız maddeler DMSO'da çözüldüğü için körün hazırlanmasında 5 mL DMSO

kullanılarak üzerine 0.5 mL $FeCl_3$ ilave edildi ve hem örnek hem de standart maddelerle aynı deney koşullarında tutuldu (Gupta, 2015).

3.3.2. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Yöntemi

ABTS radikal giderme aktivitesinin belirlenmesinde 2,2′-azino-bis (3-etilbenzenotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu kullanıldı. Antioksidan moleküller tarafından dayanıklı bir katyon radikali olan ABTS radikalinin ($ABTS^{\bullet+}$) mavi-yeşil renkli karakteristik renginin giderilmesi yöntemin temelini oluşturur (Büyüktuncel, 2013; Du ve diğ., 2019).

Sistein bileşikleri ve standart maddelerin ABTS radikal giderme aktiviteleri Arnao ve diğ., (2001) metoduna göre tayin edildi. 7.4 mM ABTS ve 2.6 mM $K_2S_2O_8$ çözeltilerinden eşit hacimde (1'er mL) karıştırılarak 12-16 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. Böylece $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisi elde edilmiş oldu (Büyüktuncel, 2013) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: ABTS'nin $K_2S_2O_8$ ile yükseltgenmesi (Büyüktuncel, 2013).

Hazırlanan karışımdan 1 mL alındıktan sonra üzerine 60 mL metanol eklenerek $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin 734 nm'de spektrofotometrede metanole karşı absorbans değeri 0.7 ± 0.02 olmalıdır. Her tayin için $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisi taze olarak hazırlandı. Hazırlanan ABTS çözeltisinden 2.85 mL alınarak üzerine 150 µL sistein bileşiklerinden konuldu. İyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat bekletildi. Bekleme süresinin ardından, spektrofotometrede 734 nm'de metanole karşı absorbans değeri ölçüldü. Standart olarak Troloks, BHT ve α-tokoferol, kontrol olarak da numune yerine metanol içeren reaksiyon karışımı kullanıldı. Absorbans değerinin azalması ile reaksiyon ortamından giderilen

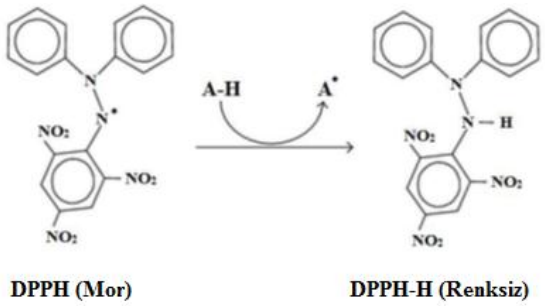
ABTS radikalinin arasında ters orantı vardır. Örnek ve standartların ABTS radikal giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

(%) ABTS Radikal Giderme Aktivitesi = [($A_0 - A_1$) / A_0] x 100
A_0 = Kontrol absorbans değeri
A_1 = Örnek veya standardın absorbans değeri

3.3.3. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Yöntemi

2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal giderme aktivitesi Brand-Williams (1995) metoduna göre yapıldı. Kararlı bir organik azot radikali olan DPPH radikalinin, ortamdaki antioksidan madde ile etkileştiğinde hidrazine indirgenmesinden yararlanıldı.

Kararlı bir serbest radikal olan DPPH mor renklidir ve hem doğal hem de sentetik antioksidanların serbest radikal giderme yeteneklerinin belirlenmesinde en sık tercih edilen ve hızlı sonuç veren bir moleküldür (Kandi ve Charles, 2019). Bu mor renk (Molyneux, 2004) ile karakterize edilen DPPH çözeltisinin absorpsiyon değeri 520 nm de ölçülür (Kedare ve Singh, 2011). Antioksidan molekül ile radikal arasında gerçekleşen reaksiyon Şekil 3.2'de verilmiştir (Kandi ve Charles, 2019).



Şekil 3.2: DPPH'ın antioksidan bileşikler ile arasında gerçekleşen reaksiyon (AH: Antioksidan) (Kandi ve Charles, 2019).

DPPH radikalinin 20 mg/L olacak şekilde taze hazırlanmış metanoldeki çözeltisinden 1.5 mL alındı. Üzerine değişik konsantrasyonlarda hazırlanan sistein bileşiklerinden 0.75 mL eklenerek karanlıkta ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra absorbans değeri köre karşı 517 nm'de spektrofotometrede okundu. Kontrol olarak 0.75 mL metanol ve 1.5 mL DPPH çözeltisi, kör olarak ise sadece metanol kullanıldı. Standart madde olarak ise Troloks ve BHA'dan

yararlanıldı. Örnek konsantrasyonunun artması DPPH serbest radikalinin absorbansının azalmasına ve mor rengin sarıya dönmesine neden olur.

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

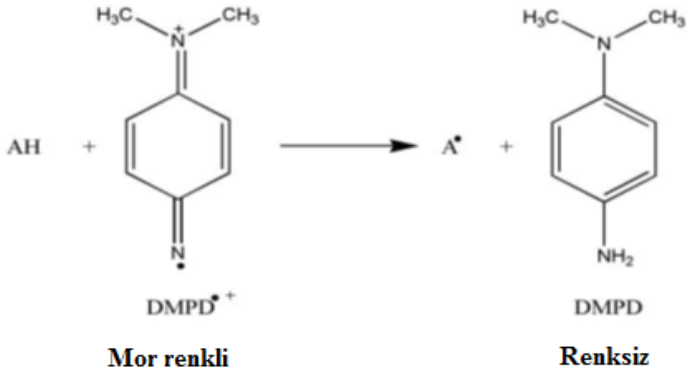
(%) DPPH Radikal Giderme Aktivitesi = [(A_0-A_1) / A_0] x 100

A_0=Kontrol absorbans değeri

A_1=Örnek veya standardın absorbans değeri

3.3.4. DMPD Radikal Giderme Yöntemi

DMPD radikal giderme aktivitesi tayini Fogliano ve diğ., (1999) geliştirdikleri yönteme göre yapıldı. Yöntemin prensibi, asidik pH ve $FeCl_3$ içeren reaksiyon ortamında, N,N-dimetil-1,4-fenilendiaminin (DMPD) kararlı ve mor renge sahip bir radikal katyonu ($DMPD^{\bullet+}$) oluşturmasına dayanmaktadır. Meydana gelen $DMPD^{\bullet+}$, 505 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon verir (Sripakdee ve diğ., 2015). $DMPD^{\bullet+}$'nin antioksidan molekülden bir hidrojen atomu alması sonucunda, bu katyon radikalinin mor rengi açılır (Güder, 2016) (Şekil 3.3). Rengin açılması, antioksidan derişimi ile orantılı olarak gerçekleşir. Antioksidatif özelliğin bir göstergesi olarak kabul edilen bu reaksiyon stabil olarak ve hızla ilerler (Gupta, 2015).



Şekil 3.3: DMPD radikalinin indirgenmesi (AH: Antioksidan) (Güder, 2016).

100 mM derişimde $DMPD^{\bullet+}$ hazırlamak için, 209 mg DMPD, metal iyonları içermeyen 10 mL saf suda çözülerek, içinden 1 mL alındı ve 0.1 M Na(CH_3COO) tamponu (pH: 5.30) ile son hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Bidistile su ile hazırlanan 0.05 M $FeCl_3$ çözeltisinden 0.2 mL ilave edilmesi ile mor renkli DMPD radikal katyonu elde edildi. Bu karışım kararlılığını en fazla 12 saate kadar koruduğundan taze olarak hazırlandı. Hazırlanan karışımın ilk andaki absorbansı 0.9 ± 0.1 olmalıdır. Bu karışımın 1 mL'si, değişik derişimlerde hazırlanan örnek

(veya standart) çözeltisinin 0.5 mL'sine ilave edildi, tüpler vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra 10 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra 505 nm'deki absorbansları tampon çözelti içeren köre karşı okundu. Deneyde standart madde olarak L-askorbik asit ve Troloks kullanıldı. Sonuçlar DMPD radikal giderme aktivitesi (%) olarak ifade edildi. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı:

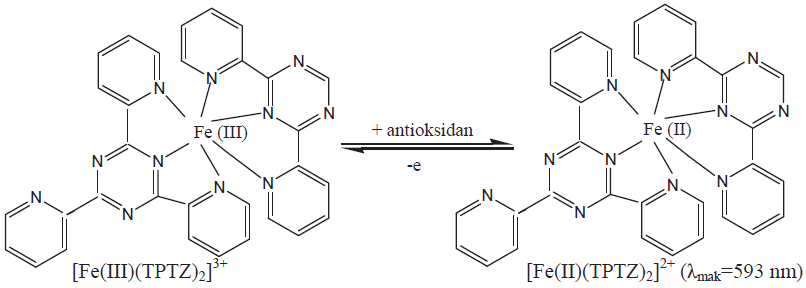
(%) DMPD Radikal Giderme Aktivitesi = [$(A_0-A_1)/A_0$] x100

A_0= DMPD çözeltisinin başlangıç absorbansı

A_1= Örnek veya standardın absorbansı

3.3.5. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Parametre (FRAP) Yöntemi

Sistein bileşiklerinin ferri iyonu redükleyici antioksidan parametre (FRAP) değerlerinin tayininde, Benzie ve Strain (1996) metodu kullanıldı. Bu metotta, oksidan olarak $FeCl_3.6H_2O$ tuzları kullanıldı. Metodun prensibi, Fe(III)'ün kısa adı TPTZ olan 2,4,6-tri(2-piridil)-*S*-triazin ile reaksiyonunda oluşan kompleksin $[Fe\ (III)\text{-}(TPTZ)_2]^{3+}$ asidik ortamda (pH: 3.6) Fe (II)'ye $[Fe\ (II)\text{-}(TPTZ)_2]^{2+}$ indirgenmesi ile meydana gelen koyu mavi rengin 593 nm'de verdiği maksimum absorbansın ölçülmesi temeline dayanır (Büyüktuncel, 2013) (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: Fe (III)-TPTZ kompleksinin Fe (II)-TPTZ kompleksine redüksiyonu (Büyüktuncel, 2013).

FRAP tayininde, 40 mM derişimdeki HCl çözeltisine 10 mM 2.5 mL TPTZ ilave edildikten sonra, bu karışıma 6 mol kristal suyu olan 20 mM $FeCl_3$ çözeltisinden 2.5 mL ve 0.3 M asetik asit-sodyum asetat tamponundan (pH: 3.6) 25 mL eklenmesi ile FRAP ayıracı hazırlandı. Buna göre, bu ayıraçtaki Fe (III)'ün son konsantrasyonu 1.67 mM, TPTZ 'nin son konsantrasyonu ise 0.83 mM olacak şekilde ayarlandı. Deneyin yapılacağı gün taze olarak hazırlanan FRAP ayıracı, 37ºC'deki su banyosunda 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra 0.9 mL FRAP ayıracı, 0.09 mL distile su ve 0.03 mL sistein bileşiklerinin çözeltileri ile muamele edildi. Standart

grafik elde etmek amacı ile 100-1000 µM konsantrasyon aralığında $FeSO_4.7H_2O$ kullanıldı. Elde edilen doğru denkleminden yararlanılarak sonuçlar µM Fe^{2+} cinsinden hesaplandı.

Deneyde standart madde olarak L-askorbik asit ve Troloks kullanıldı.

3.3.6. Metal Kelatlama Aktivitesi Yöntemi

Biyolojik sistemlerde bulunan demir iyonları serbest radikallerin indüksiyonunda ve buna bağlı olarak gelişen oksidatif hasarın oluşumunda önemli rol oynarlar (Wong ve diğ., 2014). Metal kelatlama aktivitesi, lipit peroksidasyonuna sebep olabilen geçiş metallerini indirgediği için önemlidir (Rival ve diğ., 2001). Çalışmamızda sistein bileşiklerinin ve standart maddenin metal kelatlama aktivitesi Decker ve Welch (1990) yöntemine göre yapıldı. Yöntemin prensibi, ferrozin gibi kelatlayıcı ajanların ortamdaki demir iyonlarını kelatlaması sonucu mor-menekşe renkteki azalmaya dayanmaktadır. Metal kelatlama aktivitesi yönteminde kullanılan kelatlayıcı moleküller redoks potansiyelini azaltarak metal iyonlarının yükseltgenmesini stabilize ederler (Mathew ve Abraham, 2006).

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan sistein bileşikleri (10-150 µM) ve standart madde olarak kullanılan EDTA'dan (25-150 µM) 1 mL alınarak üzerine 3.7 mL metal iyonları içermeyen bidistile su ve 0.1 mL 2 mM $FeCl_2$ eklendi. Hazırlanan karışım 60 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. Reaksiyon 5 mM ferrozin içeren çözeltinin 0.2 mL eklenmesi ile başlatıldı. Karışım vortekste iyice karıştırılarak oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra bu çözeltilerin 562 nm'de absorbansı, metal iyonları içermeyen bidistile suya karşı ölçüldü. Kontrol olarak 4.7 mL distile su alındı ve üzerine ferrozin çözeltisinden 0.2 mL ve $FeCl_2$ çözeltisinden 0.1 mL eklendi. İşlem yukarıda belirtilen şekilde yapıldı. Metal kelatlama aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

(%) Metal Kelatlama Aktivitesi = [$(A_0-A_1) / A_0$] x 100

A_0=Kontrol absorbans değeri
A_1=Örnek veya standardın absorbans değeri

3.3.7. Nitrit Giderme Aktivitesi Yöntemi

Nitrit giderme aktivitesi tayini, Liu ve diğ. (2011) metodunun modifiye edildiği yönteme göre yapıldı. Asidik pH'ta ortamda bulunan nitritten oluşan nitrozolayıcı reaktif tür, Griess reaktifi ile (sülfanilik asit ve naftilamin) renkli azo boyar maddesi oluşturur. Fuşya-koyu pembe tonundaki bu kromofor maddenin, spektrofotometrik olarak 520 nm'de absorbansının tayin edilmesi yöntemin esasıdır (Ricart-Jané ve diğ., 2002). Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan sistein bileşiklerinin 1 mL'sine 1 mL $NaNO_2$ çözeltisi ve 5 mL sitrat tamponundan ilave edildi (pH: 2.0, 0.2 M). Hazırlanan karışım 37ºC'deki su banyosunda 1 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her karışım içerisinden 1 mL alınarak üzerine 5 mL % 2 asetik asid ve 0.4 mL Griess reaktifi (% 1 sülfanilik asid; % 30 asetik asid içerisinde ve % 1 naftilamin % 30 asetik asid içerisinde 1:1 oranında) ilave edilerek 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Örnek yerine standart olarak kuersetin kullanıldı ve yukarıda belirtilen şartlarda reaksiyon gerçekleştirildi. Daha sonra 520 nm'de köre karşı bütün tüplerin absorbans değerleri ölçüldü.

(%) Nitrit giderme aktivitesi hesabı aşağıdaki formüle göre yapıldı.

(%) Nitrit Giderme Aktivitesi = $[1- (A_1 / A_0)] \times 100$

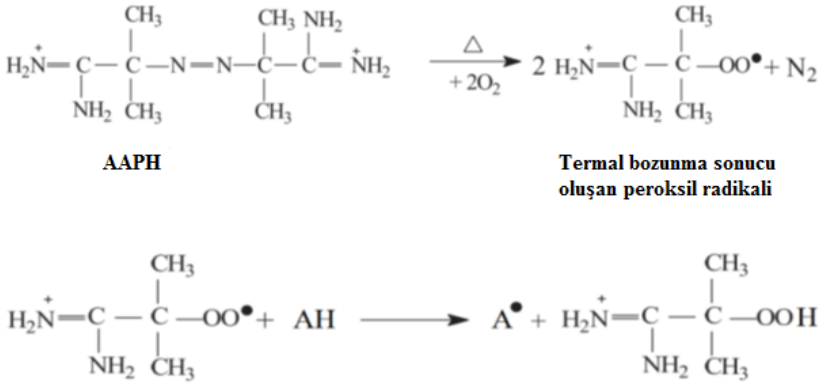
A_0=Kontrol absorbans değeri

A_1=Örnek veya standardın absorbans değeri

3.3.8. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi

Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) metodu ilk defa Glazer (1990) tarafından önerilmiştir. Daha sonraları Cao ve diğ., (1993) bu yöntemi modifiye etmişlerdir. Yöntemin temelinde, 2,2′-azobis (2-metilpropionamidin) dihidroklorürün (AAPH) termal olarak bozunması sonucunda oluşan peroksil radikalleri ile oksitlenebilen ve floresans özellik gösteren hedef bir molekülün, antioksidan madde ile nasıl korunduğu ve bu molekülün florometrik olarak ölçülerek bozunma kinetiği eğrisinin altında kalan alan değişiminin belirlenmesi temeline dayanmaktadır (Şekil 3.5).

Floresans ışıması yapan hedef molekül olarak ilk başlarda fikoeritrin kullanılmışsa da (Glazer, 1990) daha sonra bu molekül yerini floreseine bırakmıştır (Ou ve diğ., 2002; Alarcon ve diğ., 2008).



Şekil 3.5: AAPH'ın termal bozunması ve peroksil radikalinin antioksidan bileşik ile reaksiyonu (AH: Antioksidan) (Cao ve diğ., 1993).

Çalışmamızda ORAC tayini, Huang ve diğ., (2002) tarafından geliştirilen yöntemin modifiye edilmesiyle yapıldı. Bu amaçla, primer ve sekonder fosfat (KH_2PO_4 ve K_2HPO_4) kullanılarak 75 mM pH'sı 7.4 olan fosfat tamponu hazırlandı. Bu tampon çözelti kullanılarak 10 mL hacmine $4.19x10^{-3}$ mM floresein stok çözeltisi hazırlandı. Deney anında bu stok çözelti, $8.16x10^{-5}$ mM olacak şekilde fosfat tamponu ile seyreltilerek floresein çalışma çözeltisi elde edilmiş oldu. Floresein'in hem stok hem de çalışma çözeltileri, hazırlanır hazırlanmaz karanlıkta ve +4°C'de saklandı. Peroksil radikali oluşturması için kullanılan AAPH'ın 153 mM'lık ve 10 mL hacmindeki çözeltisini hazırlamak için yine fosfat tamponundan yararlanıldı. 150 µL floresein çalışma çözeltisi ve 25 µL farklı derişimlerde hazırlanan sistein bileşikleri, siyah renkli 96 kuyucuklu florometrik mikroplate ölçüm kabına ilave edildi ve 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Kontrol denemesi için örnek yerine örnek hacmi kadar tampon çözelti, kör deneme için de yalnızca tampon çözelti kullanıldı. İnkübasyon süresinin sonunda, kör hariç tüm kuyucuklara 25'er µL taze hazırlanmış AAPH ilave edildi. Eksitasyon dalga boyu olarak 485 nm ve emisyon dalga boyu için de 528 nm'ye ayarlanmış mikropleyt floresans okuyucu cihazında, 37°C'de ve 35 dakika süre boyunca dakikada bir floresans ışımaları (intensiteleri) kaydedildi. Standart bileşik olarak Troloks (12.5-50 µM) kullanıldı ve aynı deney şartlarında ölçüm alındı. ORAC değerlerinin hesaplanmasında aşağıdaki formülden yararlanıldı ve sonuçlar % inhibisyon değeri olarak verildi.

(%) ORAC Değeri = $[(I_2 - I_1)/ (I_0 - I_1)] \times 100$

I_0=Floresein'in başlangıç floresans intensite değeri

I_1=Örnek veya standart yokluğunda inkübasyon ortamında bozunmadan kalan floresein'in floresans intensite değeri

I_2=Örnek veya standart varlığında inkübasyon ortamında bozunmadan kalan floresein'in floresans intensite değeri

4. BULGULAR

4.1. İNDİRGEME GÜCÜ

Çalışmamızda, sistein bileşiklerinin ve standart olarak kullanılan BHA ile Troloks'un indirgeme güçleri spektrofotometrede ve 700 nm dalga boyunda Fe^{3+}'ü Fe^{2+}'ye indirgemeleri esasına göre yapıldı. Sistein bileşiklerinin indirgeme güçleri Tablo 4.1'de, standart maddelerin indirgeme güçleri Tablo 4.2'de verildi.

Tablo 4.1: Sistein bileşiklerinin indirgeme güçleri.

Konsantrasyon (µM)	S-Benzil-Cys (Absorbans)*	S-Fenil-Cys (Absorbans)*	S-Metil-Cys (Absorbans)*	Metiyonin (Absorbans)*	Sistin (Absorbans)*	Taurin (Absorbans)*
1	0.013 ± 0.001	0.031 ± 0.007	0.012 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0.020 ± 0.002	0.003 ± 0.002
10	0.014 ± 0.002	0.041 ± 0.009	0.013 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.028 ± 0.008	0.002 ± 0.004
100	0.015 ± 0.001	0.051 ± 0.011	0.014 ± 0.001	0.026 ± 0.002	0.035 ± 0.009	0.005 ± 0.005
250	0.023 ± 0.012	0.068 ± 0.012	0.026 ± 0.013	0.070 ± 0.003	0.049 ± 0.006	0.008 ± 0.004
500	0.026 ± 0.014	0.094 ± 0.013	0.032 ± 0.018	0.125 ± 0.003	0.061 ± 0.006	0.013 ± 0.008

*Ortalama ± standart sapma

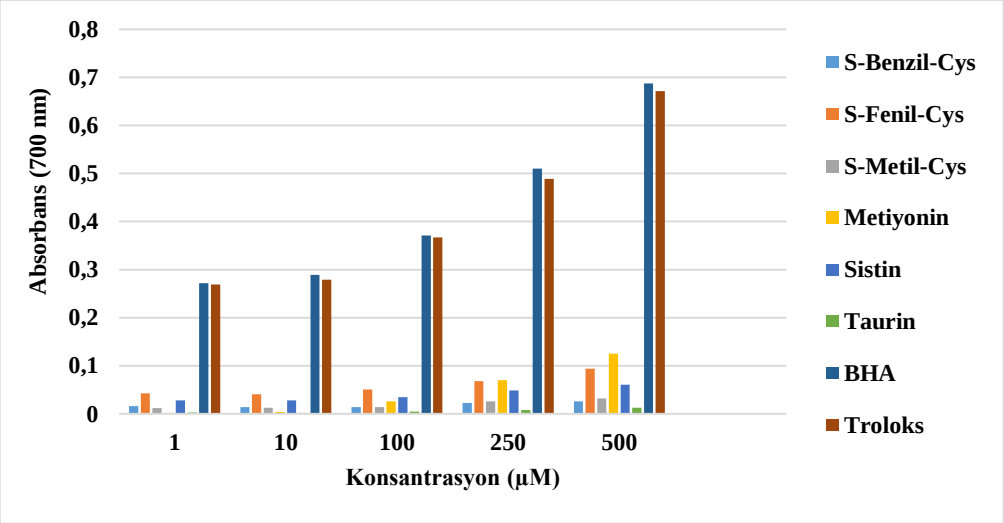
Tablo 4.2: Standart maddelerin indirgeme güçleri.

Konsantrasyon (µM)	BHA (Absorbans)*	Troloks (Absorbans)*
1	0.272 ± 0.00	0.269 ± 0.000
10	0.289 ± 0.008	0.279 ± 0.001
100	0.371 ± 0.004	0.367 ± 0.002
250	0.510 ± 0.004	0.489 ± 0.001
500	0.687 ± 0.005	0.671 ± 0.006

*Ortalama ± standart sapma

Çalışmamızda, sistein bileşiklerininin ve BHA ile Troloks'un indirgeme güçlerinin 700 nm'deki absorbans değerlerinin 0.002-0.687 arasında olduğu tespit edildi. Sistein bileşikleri arasında en yüksek indirgeme gücüne sahip olan bileşiğin ise 500µM konsantrasyonda 0.125 ± 0.003 absorbans değeri ile metiyonin olduğu bulundu (Tablo 4.1). Sistein bileşiklerinin indirgeme güçleri BHA>Troloks>metiyonin>S-fenil-Cys>sistin>S-metil-Cys>S-benzil-Cys>taurin şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2). Standart maddeler kendi aralarında

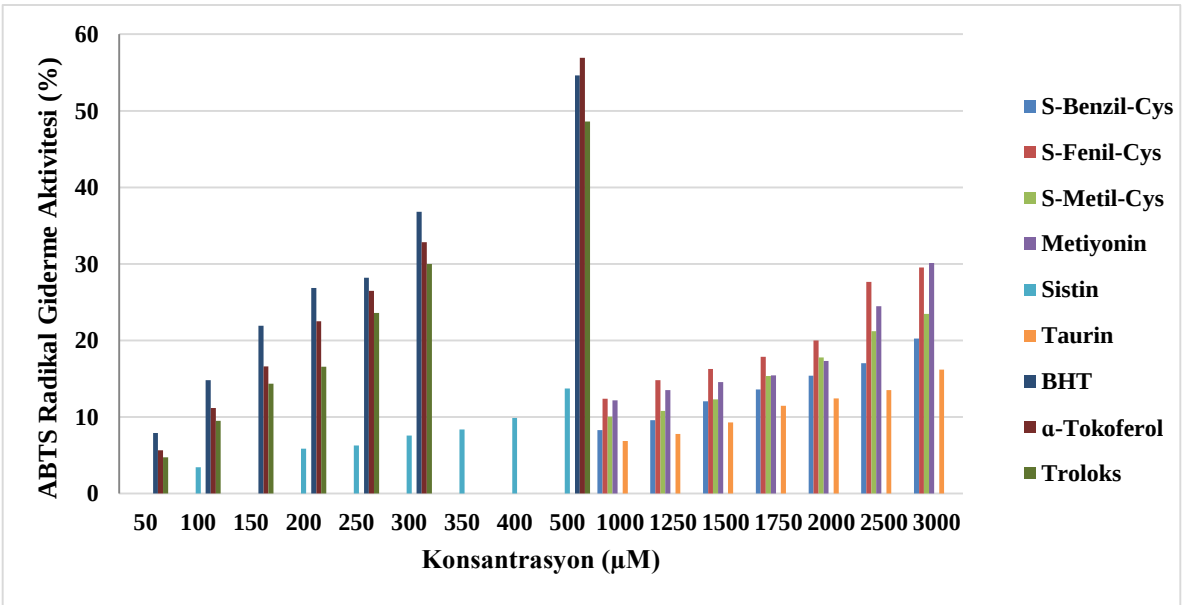
karşılaştırıldığında ise en fazla indirgeme gücü gösteren standardın BHA'da olduğu belirlendi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Sistein bileşiklerininin ve standart maddelerin indirgeme güçleri.

4.2. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

Çalışmamızda, sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin ABTS radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin ABTS radikal giderme aktiviteleri.

Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin ABTS radikal giderme aktivitelerinin karşılaştırılabilmesi için IC_{50} değerleri hesaplandı ve sonuçlar Tablo 4.3'te gösterildi. Düşük IC_{50} değeri, yüksek antioksidan aktivitenin en iyi göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Tablo 4.3: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin ABTS radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri.

Sistein Bileşikleri ve Standartlar	IC_{50} değerleri (µM)*
S-Benzil-Cys	8099.15 ± 726.43
S-Fenil-Cys	5199.90 ± 25.67
S-Metil-Cys	6337.68 ± 75.21
Metiyonin	5325.61 ± 229.40
Sistin	2029.67 ± 106.54
Taurin	10350.25 ± 569.48
BHT	444.88 ± 9.02
α-Tokoferol	446.49 ± 20.26
Troloks	515.41 ± 2.02

*Ortalama ± standart sapma

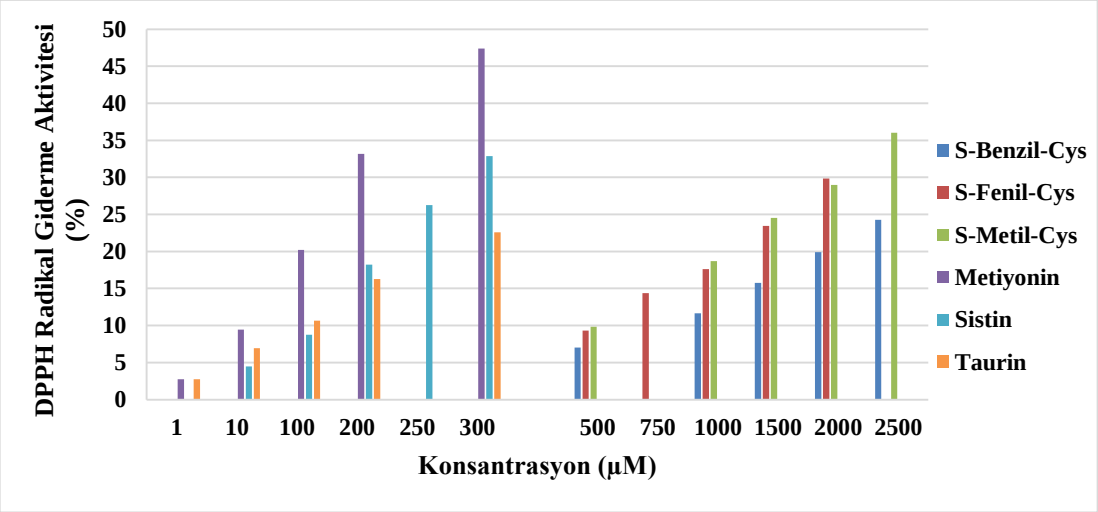
Tablo 4.3'e göre, sistein bileşikleri arasında en yüksek ABTS radikal giderme aktivitesi sistin'de (2029.67 ± 106.54 µM) görülürken, en düşük ABTS radikal giderme aktivitesinin ise taurin'de (10350.25 ± 569.48 µM) olduğu belirlendi. Buna göre, sistein bileşiklerininin ABTS radikal giderme aktiviteleri sistin>S-fenil-Cys>metiyonin>S-metil-Cys>S-benzil-Cys>taurin şeklinde sıralanmaktadır (Tablo 4.3). BHT'nin IC_{50} değeri α-tokoferol ile birbirine çok yakın bir değerdedir.

BHT, α-tokoferol ve Troloks'un ABTS radikal giderme aktivitelerinin ise sistein bileşiklerininden daha yüksek olduğu, standart maddeler arasında bir mukayese yapılması durumunda ise değerlerin birbirlerine yakın bulunduğu ve BHT>α-tokoferol>Troloks şeklinde azaldığı tespit edildi (Tablo 4.3).

4.3. DPPH RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

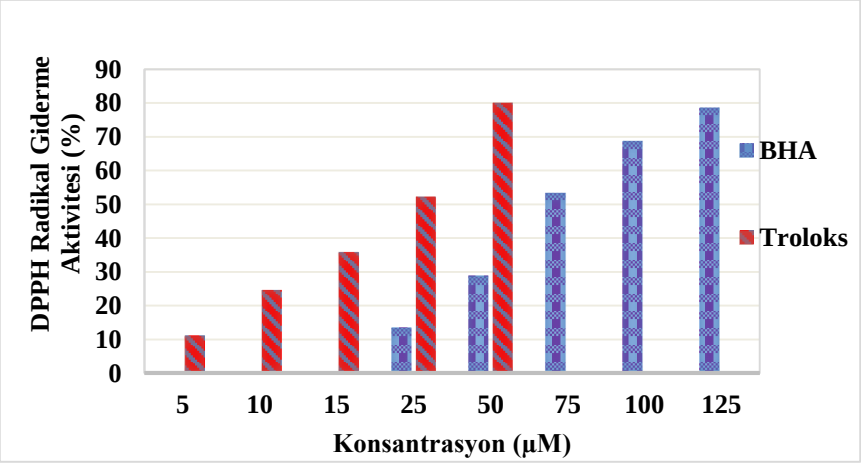
DPPH radikal giderme aktivitesi, merkezinde azot atomu ihtiva eden 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak tayin edildi.

Çalışmamızda, sistein bileşiklerininin serbest radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.3'te ve standart maddelerin serbest radikal giderme aktiviteleri de Şekil 4.4 'te görülmektedir.



Şekil 4.3: Sistein bileşiklerininin serbest radikal giderme aktiviteleri.

Deney protokolü gereği, reaksiyon karışımında bulunan sistein bileşikleri DPPH serbest radikalinin metanoldeki çözeltisi ile muamele edildiğinde, 517 nm dalga boyunda karışımın rengi mordan sarıya doğru açılmaktadır. Dolayısı ile renk açılması ne kadar fazla ise örneklerin serbest radikali giderme aktiviteleri de o kadar yüksektir. Şekil 4.3'te görüldüğü gibi, sistein bileşikleri arasında serbest radikal giderme aktivitesi en yüksek olan bileşiğin metiyonin olduğu bulundu. Serbest radikal giderme aktiviteleri yüksekten düşüğe doğru ise metiyonin>sistin>taurin>S-metil-Cys>S-fenil-Cys>S-benzil-Cys şeklinde sıralandı (Şekil 4.3).



Şekil 4.4: Standart maddelerin serbest radikal giderme aktiviteleri.

Standart maddelerin serbest radikal giderme aktivitelerine bakıldığında, 50 µM derişimde Troloks'un % 80 oranında inhibisyon gösterdiği, BHA'nın ise aynı derişimde % 28.95 oranında serbest radikali giderdiği görülmektedir (Şekil 4.4).

Hem sistein bileşiklerininin hem de standart maddelerin serbest radikal giderme aktivitelerinin diğer bir göstergesi olan IC_{50} değerleri hesaplandı (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin DPPH radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri.

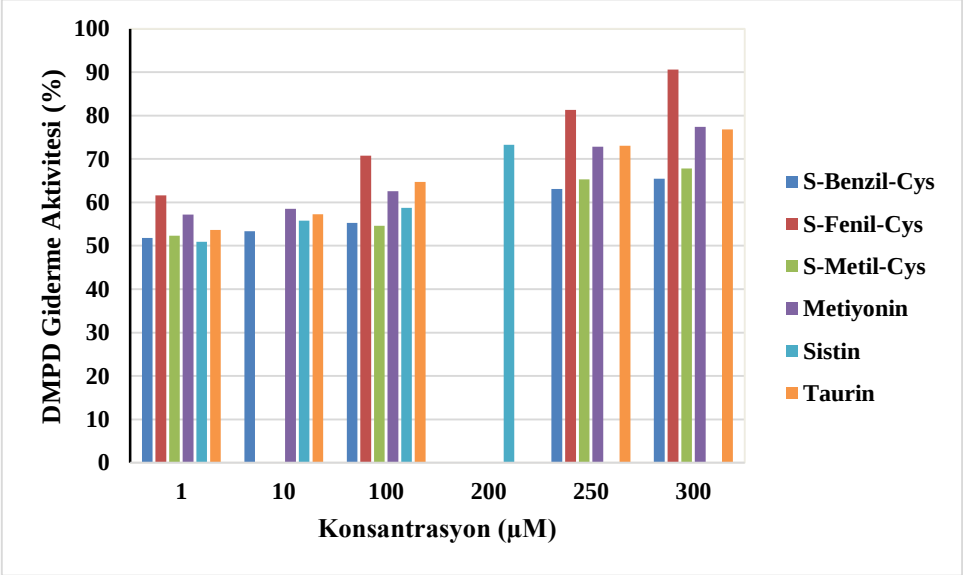
Sistein Bileşikleri ve Standartlar	IC_{50} Değerleri (µM)*
S-Benzil-Cys	5516.57 ± 263.37
S-Fenil-Cys	3512.74 ± 200.51
S-Metil-Cys	2959.77 ± 25.47
Metiyonin	318.43 ± 17.31
Sistin	495.51 ± 31.85
Taurin	756.11 ± 1.75
BHA	76.97 ± 1.68
Troloks	27.28 ± 0.76

*Ortalama ± standart sapma

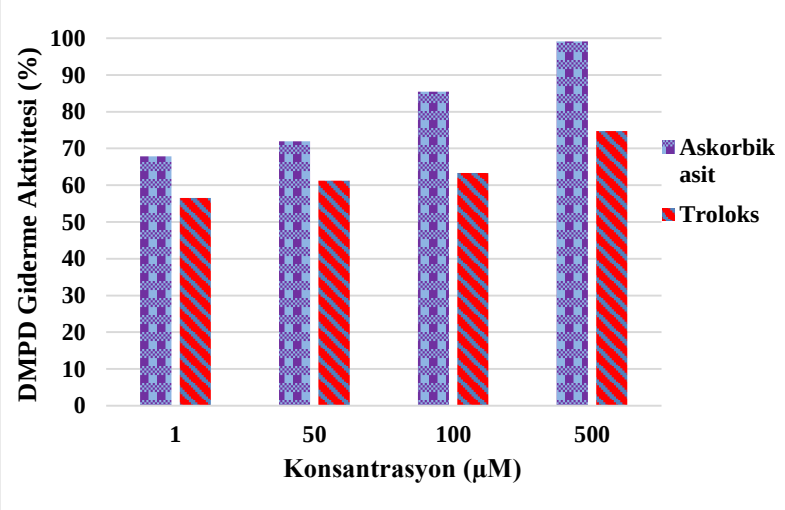
Çalışmamızda kullandığımız tüm maddeler karşılaştırıldığında ise IC_{50} değerlerinin 27.28 ile 5516.57 µM arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Sistein bileşiklerininin ve standart maddelerin IC_{50} değerleri Troloks>BHA>metiyonin>sistin>taurin>S-metil-Cys>S-fenil-Cys>S-benzil-Cys şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.4).

4.4. DMPD RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

DMPD radikal giderme aktivitesinin tayininde N,N-dimetil-1,4-fenilendiaminin (DMPD) kararlı ve mor renge sahip bir radikal katyonu ($DMPD^{\bullet+}$) kullanıldı. Çalışmamızda test edilen tüm maddelerin DMPD radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.5'te ve standart maddelerin DMPD radikal giderme aktiviteleri ise Şekil 4.6'da gösterildi.



Şekil 4.5: Sistein bileşiklerinin DMPD radikal giderme aktiviteleri.



Şekil 4.6: Standart maddelerin DMPD radikal giderme aktiviteleri.

Sistein bileşikleri ve standart maddelerin farklı konsantrasyonlarda hazırlanması ile yapılan denemelerde, test edilen bütün maddelerin konsantrasyonu ile DMPD radikalini giderme aktivitelerinin arttığı tespit edildi (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

Çalışılan bütün maddelerin % inhibisyon değerleri ile konsantrasyonları arasında çizilen grafiklerden elde edilen doğru denklemleri ile IC_{50} değerleri hesaplandı ve sonuçlar Tablo 4.5'te verildi.

Tablo 4.5: Sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin DMPD radikal giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri.

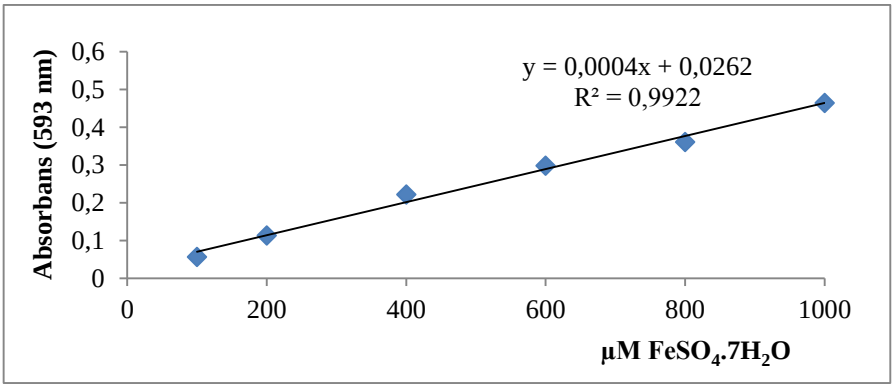
Sistein Bileşikleri ve Standartlar	IC_{50} Değerleri (µM)*
S-Benzil-Cys	9.66 ± 0.04
S-Fenil-Cys	1.14 ± 0.02
S-Metil-Cys	9.56 ± 0.13
Metiyonin	8.75 ± 0.03
Sistin	9.82 ± 0.01
Taurin	9.32 ± 0.05
Askorbik Asit	0.737 ± 0.001
Troloks	0.875 ± 0.007

*Ortalama ± standart sapma

Sistein bileşikleri arasında en düşük IC_{50} değerinin 1.14 ± 0.02 µM ile S-fenil-Cys'e ait olduğu görüldü. Bunun dışında kalan sistein bileşiklerinin IC_{50} değerleri ise birbirine çok yakın ve 8.75-9.82 µM arasında bulundu (Tablo 4.5). Standart maddelerin sistein bileşiklerine göre DMPD radikalini daha iyi giderdiği, askorbik asit ile Troloks karşılaştırıldığında ise askorbik asidin Troloks'a göre DMPD radikalini daha iyi yakaladığı ve IC_{50} değerlerinin askorbik asit>Troloks şeklinde azaldığı belirlendi (Tablo 4.5).

4.5. FERRİ İYONU REDÜKLEYİCİ ANTİOKSİDAN PARAMETRE DENEYİ

FRAP deneyi, Fe (III) iyonunun çözünürlüğünü artırmak için asidik pH değerinde (pH: 3.6) gerçekleştirildi. Renksiz Fe (III) kompleksi (Fe^{3+}-tripiridil-S-triazin), antioksidan molekül varlığında mavi renkli Fe(II) kompleksine (Fe^{2+}-tripiridil-*S*-triazin) indirgendi. Bu indirgenme olayı antioksidan molekülün ferri iyonuna bir elektron transfer etmesi ile gerçekleşti. Test edilen bütün maddelerin FRAP değerleri, $FeSO_4.7H_2O$ ile elde edilen doğru denklemi (Şekil 4.7) kullanılarak µM Fe^{2+} cinsinden hesaplandı.



Şekil 4.7: $FeSO_4.7H_2O$ kullanılarak elde edilen standart grafiği.

Çalışmamızda, bu yöntemle sistein bileşiklerininin ve standart maddelerin FRAP değerleri belirlendi. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan S-benzil-Cys, S-fenil-Cys, S-metil-Cys, metiyonin, sistin ve taurin'e ait FRAP değerleri µM Fe^{2+} cinsinden Tablo 4.6'da, standart maddelerin FRAP değerleri ise µM Fe^{2+} cinsinden Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.6: S-benzil-Cys, S-fenil-Cys, S-metil-Cys, metiyonin ve taurin'e ait FRAP değerleri.

Konsantrasyon (µM)	S-Benzil-Cys (µM)*	S-Fenil-Cys (µM)*	S-Metil-Cys (µM)*	Metiyonin (µM)*	Sistin (µM)*	Taurin (µM)*
300	-	-	-	-	35.40 ± 3.92	-
350	-	-	-	-	39.68 ± 0.71	-
400	-	-	-	-	46.23 ± 1.42	-
500	-	-	-	-	57.81 ± 0.71	-
750	-	-	-	-	-	-
1000	-	23.57 ± 2.82	-	-	-	-
1250	44.72 ± 4.45	33.89 ± 2.04	25.08 ± 2.85	1.66 ± 0.36	-	4.94 ± 0.00
1500	51.26 ± 8.43	43.71 ± 5.84	32.88 ± 1.07	2.92 ± 0.00	-	16.01 ± 1.42
1750	71.91 ± 7.75	46.73 ± 2.10	39.93 ± 3.20	8.21 ± 0.36	-	19.04 ± 0.00
2000	75.69 ± 1.95	-	53.03 ± 1.07	18.53 ± 2.85	-	21.80 ± 0.36

*Ortalama ± standart sapma

Çalışmamızda, sistein bileşiklerininin ve standart maddelerin konsantrasyonlarının artması ile ferri iyonunu indirgeme kapasitelerinin arttığı görüldü. S-benzil-Cys, S-metil-Cys ve metiyonin'in 1250-2000 µM aralığında FRAP değerleri hesaplanabilirken, S-fenil-Cys'nin 1000-1750 µM aralığında ve sistin'in de 300-500 µM derişimlerinde FRAP değerleri tespit edildi (Tablo 4.6). Sistein bileşiklerininin FRAP değerlerinin en düşük 1.66 ± 0.36 µM Fe^{2+} ile 1250 µM konsantrasyonda metiyonine ait olduğu görülürken, en yüksek ferri iyonu indirgeyici özellikte olanın ise 500 µM konsantrasyonda sistin'e (57.81 ± 0.71 µM Fe^{2+}) ait olduğu belirlendi (Tablo 4.6).

Tablo 4.7: Standart maddelerin FRAP değerleri.

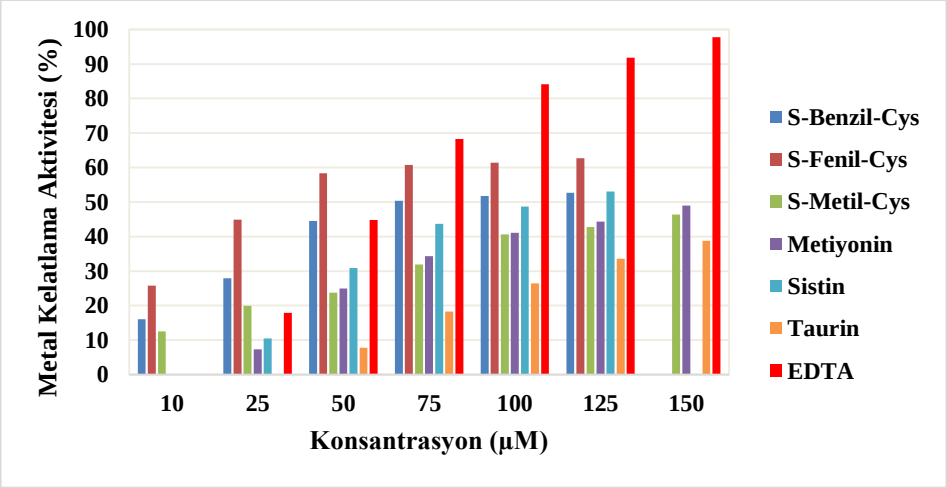
Madde Konsantrasyonu (µM)	Askorbik Asit (µM Fe^{2+})*	Troloks (µM Fe^{2+})*
250	107.92 ± 0.36	130.83 ± 2.85
500	194.28 ± 1.42	211.15 ± 5.34
750	231.80 ± 2.50	236.33 ± 3.20
1000	246.15 ± 2.14	242.88 ± 0.36

*Ortalama ± standart sapma

Standart maddelerin FRAP değerleri, 250-1000 µM derişim aralığında hesaplandı. Standartların bu değerlerinin birbirine çok yakın olduğu, Troloks için ferri iyonunu indirgeme gücünün en yüksek 242.88 ± 0.36 µM Fe^{2+} ve askorbik asidin de 246.15 ± 2.14 µM Fe^{2+} olduğu tespit edildi (Tablo 4.7).

4.6. METAL KELATLAMA AKTİVİTESİ

Metal kelatlama aktivitesinin tayini, biyolojik sistemlerdeki hücre membranlarının ana bileşenlerinden olan lipitlerin oksidasyonuna, bir başka ifade ile lipit peroksidasyonuna, sebep olabilen geçiş metallerini tutukladığı için önem arz etmektedir (Rival ve diğ., 2001). Çalışmamızda, sistein bileşiklerininin ve standart metal kelatlayıcı olan EDTA'nın metal kelatlama aktiviteleri, Decker ve Welch (1990) tarafından ortaya koyulan yönteme göre yapıldı ve sonuçlar % metal kelatlama aktivitesi ile konsantrasyon arasında çizilen grafik üzerinde gösterildi (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Sistein bileşiklerininin ve standart maddenin metal kelatlama aktiviteleri.

Sistein bileşikleri ve EDTA kullanmak sureti ile değişik derişimlerde hazırlanan örneklerle yapılan denemelerde, örneklerin derişimlerinin artması ile metal kelatlama aktivitelerinin de arttığı görüldü. S-fenil-Cys'nin, standart da dahil olmak üzere çalışmamızda kullanılan bütün maddeler arasında en yüksek metal kelatlama aktivitesine sahip olduğu bulundu (Şekil 4.8). S-fenil-Cys'den sonraki sıralama ise EDTA>S-benzil-Cys>sistin>metiyonin>S-metil-Cys>taurin şeklinde azaldı (Şekil 4.8).

Sistein bileşiklerininin ve EDTA'nın göstermiş olduğu metal kelatlama değerlerinden elde edilen sonuçlar ayrıca IC_{50} değeri cinsinden de Tablo 4.8'de verildi.

Tablo 4.8: Sistein bileşiklerininin ve standart maddenin metal kelatlama aktivitelerine ait IC_{50} değerleri.

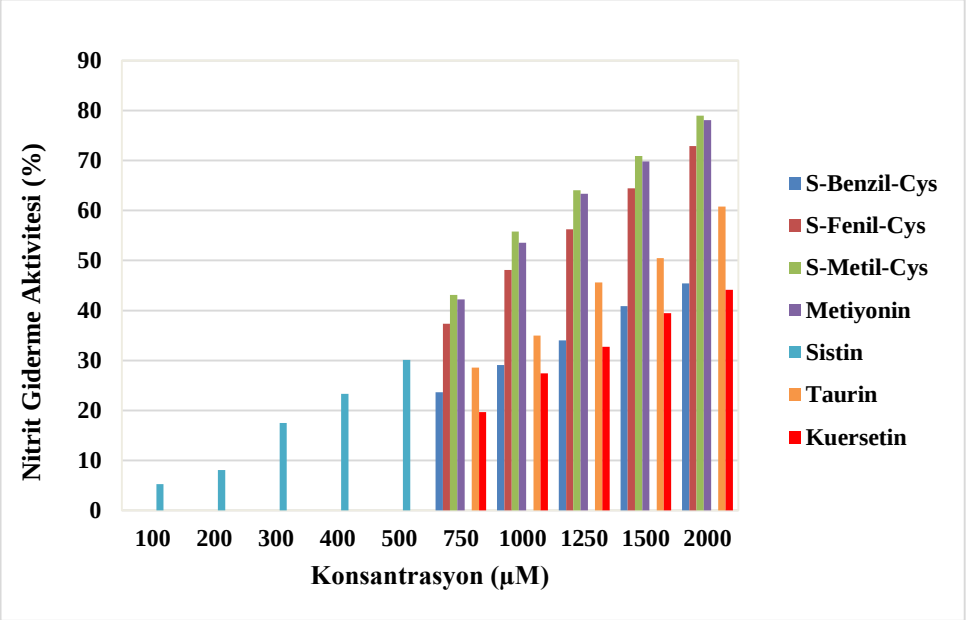
Sistein Bileşikleri ve Standart	IC_{50} Değerleri (µM)*
S-Benzil-Cys	94.82 ± 0.33
S-Fenil-Cys	21.93 ± 3.29
S-Metil-Cys	154.18 ± 2.00
Metiyonin	140.45 ± 1.29
Sistin	105.73 ± 4.02
Taurin	181.54 ± 7.37
EDTA	60.00 ± 6.47

*Ortalama ± standart sapma

Tablo 4.8'e göre, en düşük IC_{50} değerinin 21.93 ± 3.29 µM ile S-fenil-Cys'ye ait olduğu görülürken, en yüksek IC_{50} değeri ise taurin için 181.54 ± 7.37 µM olarak hesaplandı.

4.7. NİTRİT GİDERME AKTİVİTESİ

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz tüm maddelerin nitrit giderme aktiviteleri, asidik pH'ta Griess reaktifi (sülfanilik asit ve naftilamin) ve nitrit kullanılarak 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede tayin edildi. Sistein bileşiklerinin ve standart olarak kullanılan kuersetin'in nitrit giderme aktiviteleri (%) Şekil 4.9'da verildi.



Şekil 4.9: Sistein bileşiklerinin ve standart olarak kullanılan kuersetin'in nitrit giderme aktiviteleri.

Standart olarak kullanılan kuersetin'in nitrit giderme aktivitesi, çalışmamızda kullandığımız sistein bileşiklerinin tümünün nitrit giderme aktivitelerinden daha düşük değerde bulundu. Bir başka ifade ile sistein bileşiklerinin, kuersetin'den çok daha fazla nitrit giderme aktivitesi gösterdiği belirlendi (Şekil 4.9).

Çalışılan her maddenin nitrit giderme aktivitesi ile konsantrasyonları arasında çizilen grafiklerden elde edilen doğru denklemi kullanılarak, çalışılan tüm maddelerin ve standartın IC_{50} değerleri de hesaplandı (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Sistein bileşiklerininin ve kuersetin'in nitrit giderme aktivitelerine ait IC_{50} değerleri.

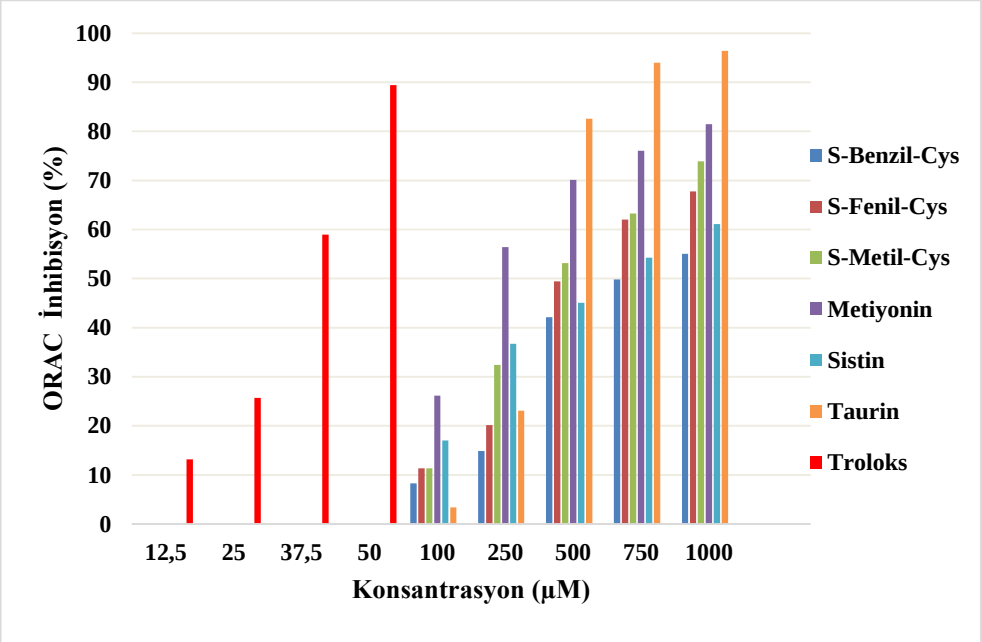
Sistein Bileşikleri ve Standart	IC_{50} Değerleri (µM)*
S-Benzil-Cys	2161.96 ± 28.65
S-Fenil-Cys	1094.62 ± 19.80
S-Metil-Cys	846.34 ± 61.45
Metiyonin	896.27 ± 33.30
Sistin	812.78 ± 41.74
Taurin	1527.11 ± 45.17
Kuersetin	2185.27 ± 76.50

*Ortalama ± standart sapma

Çalışmamızda sistein bileşiklerinin IC_{50} değerleri ile standardınki karşılaştırıldığında, IC_{50} değerlerinin 812.78 ile 2185.27 µM arasında değişim gösterdiği bulundu. En düşük IC_{50} değeri sistin için hesaplanırken (812.78 ± 41.74 µM), en yüksek IC_{50} değeri ise standart madde olarak kullanılan kuersetin için hesaplandı (2185.27 ± 76.50 µM) (Tablo 4.9).

4.8. OKSİJEN RADİKALİ ABSORBANS KAPASİTESİ (ORAC)

Çalışmamızda, ORAC tayini eksitasyon dalga boyu olarak 485 nm ve emisyon dalga boyu için 528 nm'ye ayarlanmış mikropleyt floresans okuyucu cihazında ve 37°C'de yapıldı. Sistein bileşiklerinin ve standart maddenin % olarak ORAC değerleri Şekil 4.10'da verildi.



Şekil 4.10: Sistein bileşiklerinin ve standart maddenin % inhibisyon cinsinden ORAC değerleri.

Şekil 4.10'a göre Troloks'un, çalışmamızda kullandığımız sistein bileşiklerinin tamamından daha iyi ORAC değerine sahip olduğu belirlendi. Bir başka deyiş ile deney protokolüne göre floreseinin, AAPH'ın termal bozunması sonucu açığa çıkan peroksil radikalleri ile oksidasyonunu en iyi Troloks'un önlediği tespit edildi (Şekil 4.10).

Çalışmamızda kullandığımız tüm bileşiklerin ORAC yöntemi ile belirlenen IC_{50} değerleri de hesaplandı ve sonuçlar Tablo 4.10'da verildi.

Tablo 4.10: Sistein bileşiklerininin veTroloks'un ORAC yöntemi ile belirlenen ait IC_{50} değerleri.

Sistein Bileşikleri ve Standart	IC_{50} Değerleri (µM)*
S-Benzil-Cys	807.93 ± 23.92
S-Fenil-Cys	637.31 ± 12.00
S-Metil-Cys	567.94 ± 12.91
Metiyonin	297.71 ± 28.71
Sistin	680.14 ± 5.42
Taurin	430.23 ± 9.77
Troloks	32.77 ± 0.47

*Ortalama ± standart sapma

Standart olarak kullanılan Troloks'un IC_{50} değeri 32.77 ± 0.47 µM olarak bulundu. Bu değerin, sistein bileşiklerinin IC_{50} değerlerinden daha küçük olduğu belirlendi (Tablo 4.10). Sistein bileşikleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 297.71 ± 28.71 µM IC_{50} değeri ile metiyonin'in diğerlerine göre daha kuvvetli peroksil radikali yakalayıcısı olduğu tespit edildi. Buna göre, sistein bileşiklerininin ORAC yöntemi ile belirlenen IC_{50} değerleri metiyonin> taurin>S-metil-Cys>S-fenil-Cys>sistin>S-benzil-Cys şeklinde azalmaktadır (Tablo 4.10).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Serbest radikaller, çok reaktif olan ve meydana geldiği fizyolojik koşullarda diğer hücresel bir çok biyomoleküle etkileşerek bu molekülleri kararsızlaştıran, oldukça hızlı bir şekilde radikalik zincir reaksiyonlarına girebilen bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren moleküller veya moleküler fragmanlardır (Valko ve diğ., 2006). Serbest radikallerin en önemlilerinden olan ROT'lar, hücrelerde meydana gelen oksidatif fosforilasyon reaksiyonları gibi metabolizma reaksiyonlarında sürekli üretilmektedir. Bu üretim, organizmada bulunan ve antioksidan savunma sistemi adı verilen özelleşmiş bir kompleks sistem tarafından dengede tutulmaktadır. Bu antioksidan savunma mekanizması, meydana gelen ROT miktarını nötralize edemez hale geldiğinde kanser, diyabet gibi önemli birçok hastalığın patogenezinde rolü olduğu bilinen ve oksidatif stres adı verilen durum ortaya çıkmaktadır (Valko ve diğ., 2006). Antioksidanlar, serbest radikallerin sebep olduğu olumsuz her türlü etkiye karşı, organizmada düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Ayrıca, substrat oksidasyonunun önlenmesine yardımcı oldukları gibi aynı zamanda da organizmanın ROT'lara karşı savunma mekanizmasında önemli bir rol oynayan maddelerdir (Flora, 2007; Suleman ve diğ., 2019). Bir antioksidanın, hedeflenen moleküllerin oksidatif hasarını geciktirdiği, engellediği veya ortadan kaldırdığı bildirilmektedir. Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda bile substratların oksidasyonunu önleyebilmektedir. Hayvansal ve bitkisel organizmalarda radikal temizleyici görevi gibi biyolojik roller üstlenmektedirler (Taira ve diğ., 2015).

Kükürt atomu tüm canlı hücrelerde bulunmakla birlikte, aynı zamanda yaşam için gereklidir. Ayrıca, organizmada oldukça önemli fonksiyonlara sahip olan bazı amino asitlerin, proteinlerin ve diğer birçok biyomolekülün yapısına katılır (Mukwevho ve diğ., 2014). Doğada 300'den fazla amino asit bulunmasına rağmen, bunlardan yalnızca 20 tanesi proteinlerin bileşiminde bulunur. Bu 20 amino asidin tamamı, yapısal olarak α-amino asitler olarak ifade edilir . Kükürt içeren amino asitler metiyonin, sistein, sistin, homosistein, N-asetil sistein ve taurin'dir. Bunlardan yalnızca metiyonin ve sistein proteinlerin yapısına katılırlar, diğerleri proteinlerin bileşiminde bulunmazlar ve non-proteinojenik amino asitler olarak ifade edilirler (Perła-Kaján ve diğ., 2007). Metiyonin ve sistein proteinlerin yapıtaşlarından olduğu için insan sağlığı ve besinsel anlamda da önemli bir role sahiptir (Ingenbleek ve Kimura, 2013; Krishnana ve Jezb, 2018).

Bir molekülün antioksidan aktivitesi ile aynı molekülün indirgeme kabiliyeti arasında doğrudan ilişki bulunmaktadır. İndirgeme gücü deneyi, bir maddenin antioksidan yeteneğini doğrulamak için güvenilir bir veri sağlar. İndirgenme potansiyeli olan maddeler potasyum ferrisiyanit ile reaksiyona girerek potasyum ferrosiyanür oluşturur. Oluşan potasyum ferrosiyanür de daha sonra yoğun renkli Prusya mavisi kompleksi oluşturmak için $FeCl_3$ ile reaksiyona girer. Meydana gelen bu kompleks, 700 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon piki verir. Oluşan kompleks miktarı, yani Prusya mavisinin renk yoğunluğu, test numunesinin indirgeme kapasitesi ile doğru orantılıdır. Bir başka ifade ile absorbanstaki bir artış veya reaksiyon sonucunda oluşan Fe^{2+} konsantrasyonunun yükselmesi, numunenin indirgeme gücünün bir ölçüsüdür (Kumar ve diğ., 2013). Çalışmamızda, sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin indirgeme güçleri absorbans cinsinden belirlenmiştir. Buna göre, 500 μM konsantrasyonda indirgeme gücü en yüksek olan bileşiğin metiyonin (0.125 ± 0.003), en düşük olanın ise taurin (0.013 ± 0.008) olduğu saptanmıştır (Tablo 4.1). Bu değerlerin askorbik asidin ve Troloks'un indirgeme güçlerinden oldukça düşük olması, sistein bileşiklerinin Fe^{3+}'ü indirgeme yeteneklerinin az olduğunu göstermektedir.

ABTS radikal giderme aktivitesi yöntemi, elektron transferi temeline dayanmaktadır ve hem lipofilik hem de hidrofilik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Gupta, 2015). Çalışmamızda, sistein bileşiklerinin ABTS radikal giderme aktiviteleri belirlenmiş ve sonuçlar standart maddelerin ABTS radikal giderme aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır. IC_{50} değeri ile antioksidan aktivite arasında ters orantı olduğu göz önünde bulundurulduğunda standart maddelerin sistein bileşiklerine göre oldukça düşük IC_{50} değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.2). Çalışmamızda, sistein bileşiklerinin IC_{50} değerleri 2029.67 ile 10350.25 μM aralığına denk gelen yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Bu durum, ABTS radikal giderme aktivitesi yönteminin geniş pH aralığında ve hem hidrofilik hem de hidrofobik moleküllere uygulanabilmesi ile açıklanabilir (Osman ve diğ., 2006; Lemańska ve diğ., 2001). Ancak, Ripoll ve diğ., (2012) tarafından taurin'in ABTS radikalini yakalama yeteneğinin olmadığı bildirilmiş; Kim ve diğ., (2018) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise metiyonin ve taurin'in ABTS radikal giderme aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir.

DPPH radikal giderme aktivitesi metodu, gerek doğal gerekse sentetik özellikteki maddelerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan, tekrarlanabilirliği yüksek, basit ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Bu radikal, merkezinde azot atomu bulunan aromatik bir yapıya sahiptir ve 517 nm dalga boyundaki ışığı absorblama yeteneği maksimumdur. Reaksiyon ortamında karşılaştığı antioksidan özellikteki bileşik ile tepkimeye girerek, o bileşiğe bir proton veya elektron verir ve bunun sonucunda radikalin rengi açılarak açık sarıdan renksize kadar gider (Brand-Williams ve diğ., 1995; Scalzo, 2008). Test edilen molekülün antioksidan aktivitesi ne kadar yüksek olursa, DPPH radikalinin rengi de o kadar açık olur. Çalışmamızda, DPPH radikalinin metil alkolde hazırlanan koyu mor renkli çözeltisi kullanılmış ve standart maddelerin DPPH radikalini, sistein bileşiklerinden oldukça iyi yakaladığı belirlenmiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). Sistein bileşikleri ise kendi aralarında değerlendirildiğinde, DPPH radikal giderme aktivitelerinin metiyonin>sistin>taurin>S-metil-Cys>S-fenil-Cys>S-benzil-Cys şeklinde azaldığı bulunmuştur (Şekil 4.3). Yapısında kükürt içeren amino asitler ile yapılan *in vitro* antioksidan aktivite çalışmasında, metiyonin ve taurin'in DPPH radikalini yakalama kapasitesinin olmadığı bildirilmiştir (Kim ve diğ., 2018). Ripoll ve diğ., (2012), doğal substrat olarak seçtikleri taurin'in, DPPH radikalini 50 µg/mL konsantrasyonda (399.57 µM) % 10.84 ± 5.12 oranında inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Bu değer, çalışmamızda kullandığımız taurin'in 300 µM konsantrasyondaki % 22.6 ± 0.88 inhibisyon değerinin yaklaşık yarısı kadardır (Şekil 4.3).

Bir başka antioksidan aktivite tayin yöntemi olan DMPD radikal giderme aktivitesi metodu, pH: 5.30'da demir (III) iyonu ile DMPD'nin reaksiyonu sonucunda elde edilen, mor renkli ve kararlı $DMPD^{\bullet+}$ kullanılarak yapıldı. Bu katyon radikali, çevresindeki moleküllerden hidrojen atomu transfer ettiğinde, radikalin kararlı hale geçmesi sonucunda mor renk açılır (Sripakdee ve diğ., 2015). Mor rengin açılması ile buna neden olan molekülün antioksidan kapasitesi arasında orantı vardır. Çalışmamızda sistein bileşikleri için 1.14-9.82 µM aralığında IC_{50} değeri bulunmuştur. Standart antioksidanlar olan askorbik asit ve Troloks için ise IC_{50} değerleri, sırası ile 0.737 µM ± 0.001 ve 0.875 ± 0.007 µM olarak hesaplanmıştır. Standart maddelerin sistein bileşiklerinden daha düşük DMPD radikal giderme aktivitesine ait IC_{50} değerine sahip olması, ABTS ve DPPH yöntemleri ile elde ettiğimiz sonuçlarla uyum göstermektedir.

FRAP metodu basit ve ucuz bir yöntem olup, redoks potansiyeli olan bileşiklerin Fe^{3+}-TPTZ komplesine bir elektron vererek yoğun mavi renkli bir bileşik olan Fe^{2+}-TPTZ kompleksini oluşturmak üzere antioksidan kapasitelerini ölçmektedir (Benzie ve Szeto, 1999). Bu nedenle, redoks potansiyeli Fe^{3+}/Fe^{2+} çiftinin redoks potansiyelinden daha az olan herhangi bir bileşik, Fe(III)'ü Fe(II)'ye teorik olarak indirgeyebilmektedir (Amin ve diğ., 2013). Çalışmamızda sistein bileşiklerinin ve standart maddelerin FRAP değerleri μM Fe^{2+} cinsinden hesaplanmıştır. Sistein bileşiklerinin, nötrale yakın pH değerinde gerçekleşen indirgeme gücü deneyinde olduğu gibi, asidik ortamda uygulanan FRAP metodunda da askorbik asit ve Troloks'tan daha düşük indirgeme özelliği sergilediği görülmüştür (Tablo 4.5). Bu durum, biyotiyol olarak glutatyon ve sistein amino asitlerinin FRAP değerlerinin belirlenmesi amacı ile yapılan bir çalışmada, söz konusu biyotiyollerin Fe^{3+} ile yeterince reaksiyona girememelerinden dolayı tayin edilememesi ile uyuşmaktadır. Bunun nedeni Fe (III)'ün yüksek-spinli ve yarı dolu d-orbitalleri olabilir (Demirci-Çekiç ve diğ., 2009). Ayrıca Gorinstein ve diğ., (2009), beyaz ve kırmızı soğan ile sarımsakta bulunan biyoaktif tiyol grubu içeren bileşenlerin antioksidan aktivitelerini tayin etmişler ve bu bileşenlerin FRAP değerlerinin tiyol tipi antioksidanlar için uygun olmadığını belirtmişlerdir.

Demir (Fe^{2+}) ve bakır (Cu^{2+}) iyonları gibi bazı geçiş metallerinin Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarında olduğu gibi hidroksil radikali üretimine yol açması sonucunda özellikle hücre membranlarında oksidatif hasar oluşmaktadır. Dolayısıyla metal iyonlarının kelatlanması son derece önemlidir. Bu nedenle, bir molekülün metal kelatlama yöntemi ile oksidasyona sebep olan Fe^{2+} iyonunu bağlama kapasitesinin ölçülmesi önem arz eder ve söz konusu molekülün antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde etkin bir yöntem olarak kullanılır. Bu yöntemde Fe(II) ile kırmızı renkli kompleks oluşturulan Fe (II)- ferrozin kompleksi kullanılır; antioksidan molekülün ferro demiri ferrozinden daha çok kelatlaması sonucunda rengin açılması ile antioksidan kapasite belirlenir (Wang ve diğ., 2009; Navanesan ve diğ., 2015). Çalışmamızda, sistein bileşikleri ve standart madde arasında en yüksek metal kelatlama aktivitesi gösteren bileşik IC_{50} değeri 21.93 ± 3.29 μM olan S-fenil-Cys'dir. EDTA'dan hemen sonra da 94.82 ± 0.33 μM IC_{50} değeri ile S-benzil-Cys gelmektedir (Tablo 4.6). S-fenil-Cys ile S-benzil-Cys'in, diğer sistein bileşiklerinde daha yüksek metal kelatlama aktivite göstermesinin sebebi yapılarındaki aromatik grubun varlığı olabilir. Aromatik amino asitler, rezonans yapıları

sayesinde serbest radikallere kolaylıkla elektron verdikleri için etkili birer radikal gidericidirler (Saito ve diğ., 2003; Rajapakse ve diğ., 2005; Carrasco-Castilla ve diğ., 2012).

Nitrit ve nitrat, protein bakımından zengin gıdalarda, ilaçlarda ve iyi yıkanmamış bitkiler yoluyla vücuda girebilen artık pestisitlerdeki sekonder amin grupları ile reaksiyona girerek nitrozaminleri oluşturur. Bu nitrozaminler, et ürünlerinin renklendirilmesinde, hem yaprak hem de kök sebzelerinde büyük miktarlarda bulunur. Nitrozaminler ise kansızlığa sebebiyet vermesi ve kanser riskini arttırabilen diazoalkanlara, proteinlere ve hücre içi bileşenlere dönüştürüldüğü için önemlidir (Beckman ve Koppenol, 1996; Cha ve diğ., 2009; Özdestan ve Üren, 2010; Zhan ve diğ., 2016). Bu çalışmada sistein bileşiklerinin nitrit giderme aktivitelerinin belirlenmesinde, reaksiyon ortamında bulunan nitritten asidik pH'ta oluşan nitrozolayıcı reaktif türün, Griess reaktifi ile fuşya renkli azo boyar maddesine dönüştürülmesinden yararlanılmış ve oluşan rengin absorbansı spektrofotometrik olarak 520 nm'de tayin edilmiştir. Çalışmamızda, standart madde olarak seçilen kuersetin'in nitrit giderme aktivitesinin, sistein bileşiklerinin tümünün nitrit giderme aktivitelerinden daha düşük değerde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Buna karşılık, fizyolojik pH değerinde kükürt içeren bazı bileşiklerin nitrik oksit giderme aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, hem disülfit grubu (-S-S-) hem de S-metil grubu içeren tiyol bileşiklerinin nitrik oksit radikalini gideremedikleri rapor edilmiştir (Vriesman ve diğ., 1997).

Nutrasötik, farmasötik ve gıda endüstrisindeki antioksidan aktiviteyi ölçmek için standart bir metot olan ve yaygın şekilde kabul gören ORAC yönteminde, 2,2′-azobis (2-amidinopropan) dihidroklorür (AAPH) gibi azo bileşiklerinin 37°C'deki termal olarak parçalanmasıyla başlatılan ve bunun sonucunda oluşan peroksil radikalllerinin neden olduğu oksidasyonun inhibisyonu florometrik olarak ölçülmektedir (Huang ve diğ., 2002; Gorinstein ve diğ., 2009). Oluşan peroksil radikalleri, yöntemde florometrik prob olarak kullanılan floresein'in floresansını azaltır (Normah ve Hanapi, 2019). Peroksil radikal oluşumuna bağlı olarak, antioksidan molekül varlığında floresein'in floresans ışıma yapma yeteneğinin azalması optik olarak takip edilir ve antioksidan aktivite, floresantaki intensitenin yavaşlamasıyla belirlenir. Antioksidanlar bu reaksiyonu, floresans sinyalinin oksidatif degradasyonunu inhibe eden bir hidrojen atomu transfer mekanizmasıyla bastırır. Floresans sinyali 30 dakikadan fazla süre ile ölçülür. Test numunesindeki antioksidan konsantrasyonu, test boyunca floresans yoğunluğuyla

orantılıdır (Gupta, 2015). Çalışmamızda, sistein bileşiklerinin ORAC değerleri, standart maddenin değerleri ile karşılaştırılmış ve Troloks'un sistein bileşiklerine göre peroksi radikallerini yakalama gücünün daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Tablo 4.9). Sistein bileşiklerinden ise en iyi antioksidan aktiviteye metiyonin'in sahip olduğu tespit edilmiştir. Bazı ROT'ların inhibitör diyagramlarını belirlemek amacı ile yapılan bir çalışmada, toplam 10 amino asidin ve diğer bazı doğal bileşenlerin ORAC değerleri incelenmiş ve sistein'in metiyonin'e göre daha çok ORAC değerine sahip olduğunu belirtilmiştir (Nakajima ve diğ., 2016). Çeşitli tripeptit kombinasyonları ve 20 amino asit ile yapılan başka bir çalışmada ise triptofan ve tirozinden sonra en yüksek ORAC değerinin metiyonin'a ait olduğu rapor edilmiştir (Ohashi ve diğ., 2015).

Dünyada besin sektöründe, söz konusu gıdaların hem raf ömürlerinin uzatılması hem de gıdaların ambalajlanması sonrasında istenmeyen reaksiyonların önlenmesi amacı ile birçok firma tarafından sentetik antioksidanların kullanımı devam etmektedir. Bununla birlikte, özellikle sentetik antioksidanların kullanımı konusunda bazı ülkeler tarafından kısıtlamalara gidilmektedir. Dolayısı ile tüketmekte olduğumuz her türlü gıda vasıtasıyla organizmaya alınan sentetik ya da doğal antioksidanların *in vivo* koşullardaki yararlı etkilerinin belirlenmesi hususu bilim insanlarınca araştırılmaya devam etmektedir.

Özellikle doğal kaynaklardan elde edilen moleküllerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla birbirinden farklı mekanizmalara dayanan, elektron transferi veya hidrojen atomu transferi temelli antioksidan aktivite tayin yöntemleri kullanılmaktadır. Yapılan literatür taraması sonucunda, çalışmamızda kullandığımız sistein bileşiklerinin *in vitro* antioksidan aktiviteleri hakkında çalışmaya rastlanmamıştır.

KAYNAKLAR

Abidi, S.L., 2000, Chromatographic analysis of tocol-delived lipid antioxidants, *Journal of Chromatography A,* 881, 197-216.

Ak, T., 2006, *Curcumin'in antioksidan ve antiradikal özelliklerinin incelenmesi,* Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-16.

Akbari, M., Ostadmohammadi, V., Lankarani, KB., Tabrizi, R., Kolahdooz, F., Heydari, ST., Kavari, SH., Mirhosseini, N., Mafi, A., Dastorani, M., Asemi, Z., 2018, The effects of vitamin D supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress among women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Hormone and Metabolic Research,* 2018, doi: 10.1055/s-0044-101355.

Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.

Alarcon, E., Campos, A.M., Edwards, A.M., Lissi, E., Lopez-Alarcon, C., 2008, Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: A comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies, *Food Chemistry,* 107, 1114-1119.

Amagase, H., 2006, Clarifying the bioactive constituents of garlic, *Journal of Nutrition,* 136, 716S–725S.

Amin, M.M., Sawhney, S.S., Jassal, M.S., 2013, Comparative antioxidant power determination of *Taraxacum officinale* by FRAP and DTPH method, *Pharmaceutica Analytica Acta,* 4, 221.

Anıl, M., 2006, Antioksidan olarak tahıllar, *Hububat 2006-Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi,* 7-8 Eylül 2006, Gaziantep.

Antmen, E., 2005, *Beta talasemide oksidatif stres,* Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M., 2001, The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, *Food Chemistry,* 73, 239-244.

Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., Cárdenas, R., 2005, *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid, *Journal of Ethnopharmacology*, 98 (3), 231–239.

Atmaca, G., 2004, Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids, *Yonsei Medical Journal*, 45 (5), 776-788.

Beck, M.A., Levander, O.A., 1998, Dietary oxidative stress and the potentiation of viral infection, *Annual Review of Nutrition*, 18, 93-116.

Beckman, J.S., Koppenol W.H., 1996, Nitroxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly, *The American Journal of Physiology*, 217, 1421-1437.

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

Benzie, I.F.F., Szeto, Y.T., 1999, Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/ antioxidant power assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 633-636.

Bin, P., Huang, R., Zhou, X., 2017, Oxidation resistance of the sulfur amino acids: Methionine and cysteine, *BioMed Research International*, 2017, Article ID 9584932, https://doi.org/10.1155/2017/9584932

Blomhoff, R., 2005, Dietary antioxidants and cardiovascular disease, *Current Opinion in Lipidology*, 16, 47-54.

Bradley, J.M., Organ, C.L., Lefer, D.J., 2016, Garlic-derived organic polysulfides and myocardial protection, *Journal of Nutrition*, 146, 403S–409S.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant acitivity, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Busciglio, J., Yankner, B.A., 1995, Apoptosis and increased generation of reactive oxygen species in Down's-syndrome neurons in-vitro, *Nature*, 378, 776-779.

Büyüktuncel, E., 2013, Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler, *Marmara Pharmaceutical Journal,* 17, 93-103.

Cankurtaran, M., 2005, Yaşlılık, yaşlanma mekizmaları, antiaging ve yaşam tarzı değişiklikleri, *7. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi*, 1-5.

Cao, G.H., Alessio, H.M, Cutler, R.G., 1993, Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants, *Free Radical Biology & Medicine,* 14, 303-11.

Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A.J., Jiménez-Martínez, C., Jacinto-Hernández, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J., Dávila-Ortíz, G., 2012, Antioxidant and metal chelating activities of *Phaseolus vulgaris* L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates, *Food Chemistry*, 131, 1157–1164.

Cha, W.S., Ding, J.L., Choi, D.B., 2009, Comparative evaluation of antioxidant, nitrite scavenging, and antitumor effects of *Antrodia camphorata* extract, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 14, 232-237.

Chang, D.K., Goel, A., Ricciardiello, L., Lee, D.H., Chang, C.L., Carethers, J.M., Boland, C. R., 2003, Effect of H_2O_2 on cell cycle and survival in DNA mismatch repair-deficient and -proficient cell lines, *Cancer Letters*, 195, 243-251.

Chen, H.Y., Yen, G.C., 2007, Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves, *Food Chemistry*, 101, 686-694.

Chen, W., Guo, J., Zhang, Y., Zhang, J., 2016, The beneficial effects of taurine in preventing metabolic syndrome, *Food & Function,* 7 (4), 1849-1863.

Chen, W., Li, F., Zhang, L., Duan, Y., Guo, Q., Wang, W., He, S., Li, J., Yin, Y., 2019, Taurine is involved in energy metabolism in muscles, adipose tissue, and the liver, *Molecular Nutrition & Food Research*, 63, 1800536. https://doi.org/10.1002/mnfr.201800536.

Cohen, G., 2000, Oxidative stress, mitochondrial respiration, and Parkinson's disease, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899,112-120.

Čolović, M.B., Vasić, V.M., Djurić, D.M., Krstić, D.Z., 2018, Sulphur-containing amino acids: protective role against free radicals and heavy metals, *Current Medicinal Chemistry,* 25, 1-12.

Corzo-Martínez, M., Corzo, N., Villamiel, M., 2007, Biological properties of onions and garlic, *Trends in Food Science & Technology*, 18 (12), 609–625.

Curcio, M., Puoci, F., Iemma, F., Parisi, O.I., Cirillo, G., Spizzirri, U.G., Picci, N., 2009, Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5933‑5938.

Çam, M., Hışıl, Y., 2003, Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri, *3. Gıda Mühendisligi Kongresi*, Ankara, 2-4 Ekim, 67-82.

Çöllü, Z., 2007, *Urtica pilulifera L. bitkisinin antioksidant aktivitesinin araştırılması,* Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

D'Agostini, F., Fiallo, P., Penisi, T.M., Flora, S., 2007, Chemoprevention of smoke-induced alopecia in mice by oral administration of L-cystine and vitamin B6, *Journal of Dermatology Science,* 46 (3),189-198.

Daniela A. Ramirez, D.A., Locatelli, D.A., Gonzálezc, R.E., Cavagnaro , P.F., Camargo, A.B., 2017, Analytical methods for bioactive sulfur compounds in *Allium*: An integrated review and future directions, *Journal of Food Composition and Analysis,* 61, 4-19.

Decker, E.A., Welch, B., 1990, Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 38, 674-677.

Delibaş, N., Özcankaya, R., 1995, Serbest radikaller, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2 (3), 11-17.

Demirci Çekiç, S., Sözgen Başkan, K., Tütem, E., Apak, R., 2009, Modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay for measuring the antioxidant capacities of thiol-containing proteins in admixture with polyphenols, *Talanta,* 79 (2), 344-351.

Devasagayam, T.P.A., Boloor, K.K., Ramsarma, T., 2003, Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview), *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics,* 40 (5), 300-308.

Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, R.D., 2004, Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects, *The Journal of the Association of Physicians of India*, 52, 794-804.

Dias, J.S., 2019, Nutritional quality and effect on disease prevention of vegetables, Nutrition in health and disease - our challenges now and forthcoming time, In: Mozsik, G., Figler, M. (eds.), IntechOpen, 9-10.

Droge, W., 2002, Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiological Reviews,* 82 (1), 47-95.

Du, Z., Liu, J., Zhang, Z., Ding, L., Wang, Y., Tan, D., Zhang, T., 2019, Individual and synergistic antioxidant effects of dipeptides in in vitro antioxidant evaluation systems, *International Journal of Peptide Research and Therapeutics,* 25 (1), 391-399.

Efendy, J.L., Simmons, D.L., Campbell, G.R., Campbell, J.H., 1997, The effect of the aged garlic extract, "Kyolic," on the development of experimental atherosclerosis, *Atherosclerosis*, 132:, 37–42.

Eken, S., 2007, *Bazı materyallerde antioksidan tayinleri*, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Eruçar, S., 2006, *Bazı bitkisel çayların fenolik madde profili ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi,* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., 2002, Free radicals, antioxidants and nutrition, *Nutrition,* 18 (10), 872-879.

Flora, S.J.S., 2007, Role of free radicals and antioxidants in health and disease, *Cellular and Molecular Biology,* 53 (1), 1-2.

Flora, S.J.S., Shrivastava, R., Mittal, M., 2013, Chemistry and pharmacological properties of some natural and synthetic antioxidants for heavy metal toxicity, *Current Medicinal Chemistry*, 20 (36), 4540-4574.

Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritieni, A., 1999, Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1035-1040.

Fong, C.V., Goldgraben, G.R., Konz, J., Walker, P., Zank, N.S., 1981, *Condensation process for DL-Methionine production*, In: Goldgraben, A.S., (ed) Organic chemicals manufacturing hazards, Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI, pp115-194.

Fratianni, F., Riccardi, R., Spigno, P., Ombra, M.N., Cozzolino, A., Tremonte, P., Coppola, R., Nazzaro, F., 2016, Biochemical characterization and antimicrobial and antifungal activity of two endemic varieties of garlic (*Allium sativum* L.) of the Campania Region, Southern Italy, *Journal of Medicinal Food*, 19 (7), 686-691.

Freiman, A., Bird, G., Metelitsa, A.I., Barankin, B., Lauzon, G.J., 2004, Cutaneous effects of smoking, *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 8 (6), 415-423.

Garcia-Santamarina, S., Boronat, S., Hidalgo, E., 2014, Reversible cysteine oxidation in hydrogen peroxide sensing and signal transduction, *Biochemistry*, 53, 2560–2580.

Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D., 2003, Reactive oxygen species. How oxygen may become toxic?, *Actualite Chimique*, 11-12, 91-96.

Glazer, A.N., 1990, Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species, *Methods in Enzymology*, 186, 161-168.

Godbout, J.P., Berg, B.M., Kelley, K.W., Johnson, R.W., 2004, α-Tocopherol reduces lipopolysaccharide-induced peroxide radical formation and interleukin-6 secretion in primary murine microglia and in brain, *Journal of Neuroimmunology*, 149 (1-2), 101-109.

Gomberg, M., 1900, An instance of trivalent carbon: Triphenylmethyl, *Journal of the American Chemical Society*, 22 (11), 757-771.

Good, P.F., Werner, P., Hsu, A., Olanow, C.W., Perl, D.P., 1996, Evidence for neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease, *The American Journal of Pathology*, 149, 21-28.

Gorinstein, S., Jastrzebski, Z., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Najman, K., Park, Y.S., Heo, B.G., Cho, J.Y., Bae, J.H., 2009, Comparative control of the bioactivity of some frequently consumed vegetables subjected to different processing conditions, *Food Control*, 20 (4), 407-413.

Gökalp, H. Y., Çakmakçı, S., 1992, Gıdalarda kısaca oksidasyon: Antioksidantlar ve gıda sanayinde kullanımları, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23 (2), 174-192.

Görünmezoğlu, Ö., 2008. *Kayısı ve incir meyvelerinin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması,* Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Green, A.S., Fascetti, A.J., 2016, Meeting the vitamin A requirement: The efficacy and ımportance of β-carotene in animal species, *Scientific World Journal*, 2016 Article ID 7393620, https://doi.org/10.1155/2016/7393620

Gupta, D., 2015, Methods for determinatıon of antioxidant capacity: A review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (2), 546-566.

Güder, A., 2016, Influence of total anthocyanins from bitter melon (*Momordica charantia* Linn.) as antidiabetic and radical scavenging agents, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15 (1), 301-309.

Gümüştaş, K., Atukeren, P., 2008, Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi, *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*, 62, 329-340.

Hall, C., 2001, Sources of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources, Antioxidants in food: Practical applications In: Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M., (eds.), CRC Press, Florida, USA.

Halliwell, B., Aruoma, O.I, 1998, Free radicals and antioxidants: The need for *in vivo* markers of oxidative stress, *Journal of American Oil Chemistry Society*, 75 (2), 199–212.

Halliwell, B., 1994, Free radicals and antioxidants:A personal view, *Nutrition Reviews*, 52 (8), 253-265.

Halliwell, B., Clement, M.V., Long, L.H., 2000, Hydrogen peroxide in the human body, *FEBS Letters*, 486, 10-13.

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

Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Aruoma, O.I., 1995, Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work?, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 7-20.

Hawkins C.L., Davies M. J., 1998, Degradation of hyaluronic acid, poly- and mono-saccharides, and model compounds by hypochlorite: Evidence for radical intermediates and fragmentation, *Free Radical Biology and Medicine*, 24 (9), 1396-1410.

Hermes-Lima, M., Valle, V.G., Vercesi, A.E., Bechara, E.J., 1991, Damage to rat liver mitochondria promoted by delta-aminolevulinic acid-generated reactive oxygen species: connections with acute intermittent porphyria and lead-poisoning, *Biochimica Biophysica Acta*, 1056 (1), 57-63.

Heves, M.D., 2008, *Akyıldız (Ornithogalum sigmoideum Freyn Et Sint.)'ın antioksidan aktivitesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Hochacka, R.W., 1986, Defensive strategles against hypoxia and hypothermia, *Science*, 231, 234-241.

Houshmand, B., Mahjour, F., Dianat, O., 2013, Antibacterial effect of different concentrations of garlic (*Allium sativum*) extract on dental plaque bacteria, *Indian Journal of Dental Research*, 14 (1), 71-75.

Hsu, C.C., Huang, C.N., Hung, Y.C., Yin, M.C., 2004, Five cysteine-containing compounds have antioxidative activity in balb/ca mice, *Nutrient Interactions and Toxicity Research Communication,* 134 (1), 149-152.

Huang, C.N., Horng, J.S., Yin, M.C., 2004, Antioxidative and antiglycative effects of six organosulfur compounds in low-density lipoprotein and plasma, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 52 (11), 3674-3678.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Prior, R.L., 2002, High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4437-4444.

Ilçım, A., Dığrak, M., Bağcı, E., 1998, Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması, *Turkish Journal of Biology*, 22, 119-125.

Ingenbleek, Y., Kimura, H., 2013, Nutritional essentiality of sulfur in health and disease, *Nutrition Reviews,* 71 (7), 413–432.

İşbilir, Ş.S., 2008, *Yaprakları salata ve baharat olarak kullanılan bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Jacobsen, J.G., Smith, L.H., 1968, Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivates, *Physiological Reviews,* 48, 424-451.

Kalatzis, V., Cherqui, S., Antignac, C., Gasnier, B., 2001, Cystinosin, the protein defective in cystinosis, is a H^+-driven lysosomal cystine transporter, *The EMBO Journal*, 20 (21), 5940-5949.

Kalra, N., Arora, A., Shukla, Y., 2006, Involvement of multiple signaling pathways in diallyl sulfide mediated apoptosis in mouse skin tumors, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention,* 7, 556-562.

Kandi, S., Charles, A.L., 2019, Statistical comparative study between the conventional DPPH• spectrophotometric and dropping DPPH• analytical method without spectrophotometer:

Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis, *Food Chemistry*, 287, 338-345.

Kavas, C., 2008, *Kurşun aracılı doku hasarında flavonoidlerin rolü*, Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Kedare, S.B., Singh R.P., 2011, Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay, *Journal of Food Science and Technology*, 48, 412–422.

Khatua., S., Roy, T., Acharya, K., 2013, Antioxidant and free radical scavenging capacity of phenolic extract from *Russula laurocerasi*, *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*, 6 (4), 156-160.

Kılınç, K., Kılınç, A., 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33 (2), 110-118.

Kim, J.H., Jang, H.J., Cho, W.Y., Yeon, S.J., Lee, C.H., 2018, *In vitro* antioxidant actions of sulfur-containing amino acids, *Arabian Journal of Chemistry*, (Baskıda) https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.12.036

Koca, N., Karadeniz, F., 2013, Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri, *Gıda Mühendisliği Dergisi-(Elektronik Dergi)*, http://www.gidamo.org.tr/yayinlar/dergi_goster.php?kodu=16&dergi=16, [Erişim Tarihi: 10 Nisan 2019].

Komarnisky, L.A., Christopherson, R.J., Basu, T.K., 2003, Sulfur: Its clinical and toxicological aspects, *Nutrition*, 19, 54-61.

Kozarski, M., Klaus, A., Vunduk, J., Zizak, Z., Niksic, M., Jakovljevic, D., Vrvic, M.M., Van Griensven, L.J.L.D., 2015, Nutraceutical properties of the methanolic extract of edible mushroom *Cantharellus cibarius* (Fries): primary mechanisms, *Food & Function*, 6, 1875-1886.

Krishnana, H.B., Jezb, J.M., 2018, Review: The promise and limits for enhancing sulfur-containing amino acid content of soybean seed, *Plant Science*, 272, 14-21.

Kubec, R., Svobodová, M., Velíšek, J., 1999, Gas-chromatographic determination of S-alk(eny)lylcysteine sulfoxide, *Journal of Chromatography*, 862, 85-94.

Kumar, C.S., Loh, W.S., Ooi, C.W., Quah, C.K., Fun., H.K., 2013, Structural correlation of some heterocyclic chalcone analogues and evaluation of their antioxidant potential, *Molecules*, 18, 11996-12011.

Kumar, D.A., Manikandan, P., Sumitra, M., Raju, K., Gayathri, C., Arutselvan, N., Puvanakrishnan, R., 2002, A novel peptide derivative exhibits antiinflammatory and antioxidant activity in adjuvant induced arthritis in rats, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 229, 9-17.

Kumar, S., 2011, Free radicals and antioxidants: Human and food system, *Advances in Applied Science Research*, 2 (1), 129-135.

Kuraoka, I., Robins, P., Masutani, C., Hanaoka, F., Gasparutto, D., Cadet, J., Wood, R.D., Lindahl, T., 2001, Oxygen free radical damage to DNA. Translesion synthesis by human DNA polymerase eta and resistance to exonuclease action at cyclopurine deoxynucleoside residues, *The Journal of Biological Chemistry* 276 (52), 49283-49288.

Lambert, I.H., Hansen, D.B., 2011, Regulation of taurine transport systems by protein kinase CK2 in mammalian cells, *Cellular Physiology and Biochemistry*, 28, 1099-1110.

Lambeth, J.D., 2004, Nox enzymes and the biology of reactive oxygen, *Nature Reviews Immunology*, 4, 181-189.

Lander, H.M., 1997, An essential role for free radicals and derived species in signal transduction, *The FASEB Journal*, 11 (2), 118-124.

Lee, J., Koo, N., Min, D.B., 2004, Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Comprehensive Reviews in Food Science and Safety*, 3, 21-33.

Lemańska, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Zieliński, R., Soffers, A.E.M.F., Rietjens, I.M.C.M., 2001, The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones, *Free Radical Biology and Medicine*, 31 (7), 869-881.

Lim, J.M., Kim, G., Levine, R.L., 2019, Methionine in proteins: It's not just for protein initiation anymore, *Neurochemical Research*, 44 (1), 247-257.

Liu, J., Lin, S., Wang, Z., Wang, C., Wang, E., Zhang, Y., Liu, J., 2011, Supercritical fluid extraction of flavonoids from Maydis sigma and its nitrite-scavenging ability, *Food Bioproducts Process*, 89, 333-339.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8), 118-126.

Locatelli, D.A., Nazareno, M.A., Fusari, C.M., Camargo, A.B., 2017, Cooked garlic and antioxidant activity: Correlation with organosulfur compound composition, *Food Chemistry*, 220, 219-224.

Lv, Y., So, K.F., Wong, N.K., Xiao, J., 2019, Anti-cancer activities of S-allylmercaptocysteine from aged garlic, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 17 (1), 43-49.

Mathew, S., and Abraham, T.E., 2006, Studies on the antioxidant activities of cinnamon bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, 94, 520-528.

Middleton, E., Kandaswami, C., 1992, Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions, *Biochemical Pharmacology*, 43 (6), 1167-1179.

Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A.M., Zujko, M.E., 2018, Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body, *Advances in Medical Sciences*, 63 (1), 68-78.

Moldovan, L., Moldovan, N.I., 2004, Oxygen free radicals and redox biology of organelles, *Histochemistry and Cell Biology*, 122, 395 – 412.

Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 211–219.

Mukhopadhyay, M., 2000, *Natural extracts using supercritical carbon dioxide*, 1st ed., CRC Press, ISBN: 9780849308192.

Mukwevho, E., Ferreira, Z., Ayeleso, A., 2014, Potential role of sulfur-containing antioxidant systems in highly oxidative environments, *Molecules,* 19 (12), 19376-19389.

Muller, FL., Liu, Y., Van Remmen, H., 2004, Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane, *The Journal of Biological Chemistry* 279 (47), 49064-49073.

Muramatsu, T., Nishikawa, K., Nemoto, F., Kuchino, Y., Nishimura, S., Miyazawa, T., Yokoyama, S., 1988, Codon and amino-acid specificities of a transfer RNA are both converted by a single post-transcriptional modification, *Nature,* 336 (6195), 179–181.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 1996, *Harper'ın biyokimyası*, 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.

Murray, RK., Granner, DK., Mayes, PA., 2000, *Harper's biochemistry*, 25th ed., McGraw-Hill Press, USA.

Nakajima, A., Sakurai, Y., Tajima, K., 2016, Reactive oxygen species inhibitory diagrams and their usability for the evaluation of antioxidant ability, *Oxidants and Antioxidants in Medical Science,* 5 (1), 1-7.

Nauser, T., Koppenol, W.H., Schöneich, C., 2015, Protein thiyl radical reactions and product formation: a kinetic simulation, *Free Radical Biology and Medicine,* 80, 158-163.

Navanesan, S., Wahab, N.A., Manickam, S., Sim, K.S., 2015, Evaluation of selected biological capacities of *Baeckea frutescens, BMC Complementary and Alternative Medicine,* 15 (1), 186.

Normah, H., Hanapi, M.J., 2019, Antioxidant capacity of the green leafy vegetables using oxygen radical antioxidant capacity (ORAC), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assays, *Science Heritage Journal,* 3 (1), 1-7.

Obrigkeit, D.H., Oepen, T., Jugert, F.K., Merk, H.F., Kubicki, J., 2006, Xenobiotics in vitro: the influence of L-cystine, pantothenat, and miliacin on metabolic and proliferative capacity of keratinocytes, *Cutanous and Ocular Toxicology,* 25 (1), 13-22.

Ohashi, Y., Onuma, R., Naganuma, T., Ogawa, T., Naude, R., Nokihara, K., Muramoto, K., 2015, Antioxidant properties of tripeptides revealed by a comparison of six different assays, *Food Science and Technology Research,* 21 (5), 695-704.

Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., 2002, *İnsan Biyokimyası,* Palme Yayıncılık, Ankara.

Osman, A.M., Wong, K.K.Y., Hill, S.J., Fernyhough, A., 2006, Isolation and the characterization of the degradation products of the mediator ABTS-derived radicals formed upon reaction with polyphenols, Biochemical and Biophysical Research Communications, 340, 597-603.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E.K., Prior, R.L., Huang, D., 2002, Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2772-2777.

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

Özcan O., Erdal, H., Yönden, Z., 2015, İskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakış, *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,* 6 (23), 27-33.

Özdemir, Ç., 2011, *Süperoksit dismutaz enziminin nardan saflaştırılması ve karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Özdestan, Ö., Üren A., 2010, Gıdalarda nitrit ve nitrat, *Akademik Gıda,* 8 (6), 35-43.

Özkan, A., Gündüz, G., Çıplak, B., Fışkın, K., 2000, Kimyasal mücadele uygulanmış *Dociostaurus maroccanus* epidemik populasyonundan alınan örneklerde antioksidan enzim aktiviteleri, *Turkish Journal of Biology*, 24, 141-149.

Özyürek, M., 2005, *Bazı içeceklerin antioksidan aktivitelerinin tayininde yeni bir yöntem geliştirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Pajares, M., Cuadrado, A., Engedal, N., Jirsova, Z., Cahova, M., 2018, The role of free radicals in autophagy regulation: Implications for ageing, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, Article ID 2450748, https://doi.org/10.1155/2018/2450748

Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., 2016, Flavonoids: an overview, *Journal of Nutritional Science,* 5, e47, https://doi.org/10.1017/jns.2016.41

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

Pektaş, İ., 2009, *Bitki gelişim düzenleyicilerinin antioksidan enzimler üzerindeki etkisinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Pennock, J.F., Hemming, F.W., Kerr, J.D., 1964, A reassessment of tocopherol in chemistry, *Biochemical and Biophysical Research Communications,* 17 (5), 542-548.

Perła-Kaján, J., Twardowski, T., Jakubowski, H., 2007, Mechanisms of homocysteine toxicity in humans, *Amino Acids,* 32 (4), 561-572.

Peterhans, E., 1997, Oxidants and antioxidants in viral diseases: Disease mechanisms and metabolic regulation, *Journal of Nutrition*, 127, 962-965.

Petropoulos, S., Gioia, F.D., Ntatsi, G., 2019, Vegetable organosulfur compounds and their health promoting effects, *Current Pharmaceutical Design,* 23 (19), 2850-2875.

Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huyc, C., 2008, Free radicals, antioxidants in disease and health, *Intenational Journal Biomedical Science*, 4 (2), 89-96.

Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015, The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.

Pradedova, E.V., Isheeva, O.D., Salyaev, R.K., 2010, Classification of the antioxidant defense system as the ground for reasonable organization of experimental studies of the oxidative stress in plants, *Russian Journal of Plant Physiology*, 58 (2), 210-217.

Pryor, W.A., Squadrito, G.L., 1995, The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide, *The American Journal of Physiology,* 268 (5 Pt 1): L699-722.

Rahman, S., Ansari, R.A., Rehman, H., Parvez, S., Raisuddin, S., 2011, Nordihydroguaiaretic acid from creosote bush *(Larrea tridentata)* mitigates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-

acetate-induced inflammatory and oxidative stress responses of tumor promotion cascade in mouse skin, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* Article ID 734785, https://doi.org/10.1093/ecam/nep076

Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W.K., Je, J.Y., Kim, S.K., 2005, Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties, *Food Research International,* 38, 175–182.

Rao, G.M., Rao, A.V., Raja, A., Rao, S., Rao, A., 2000, Role of antioxidant enzymes in brain tumours, *Clinica Chimica Acta*, 296, 203-212.

Ricart-Jané, D., Llobera, M., López-Tejero, M.D., 2002, Anticoagulants and other preanalytical factors interfere in plasma nitrate/nitrite quantification by the Griess method, *Nitric Oxide: Biology and Chemistry,* 6 (2), 178-185.

Ripoll, C., Coussaert, A., Waldenberger, F.R., Vischer, C., Ginouves, A., McGahie, D., Gatto, H., 2012, Evaluation of natural substances' protective effects against oxidative stress in a newly developed canine endothelial cell-based assay and in cell-free radical scavenging assays, *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine,* 10 (2), 113–124.

Rival, S.G., Boerriu, C.G., Wichers, H.J., 2001, Caseins and casein hydrolysates antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 49, 295-302.

Rose, P., Whiterman, M., Moore, P.K., Zhu, Y.Z., 2005, Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: The chemistry of potential therapeutic agents, *Natural Product Reports,* 22, 351-368.

Rubin, L.L., Canal, C.W., Ribeiro, A.L.M., Kessler, A., Silva, I., Trevizan, L., Viola, T., Raber, M., Gonçalves, T.A., Krás, R., 2007, Effects of methionine and arginine dietary levels on the immunity of broiler chickens submitted to immunological stimuli, *Brazilian Journal of Poultry Science,* 9 (4), 241-247.

Saito, K., Jin, D.H., Ogawa, T., Muramoto, K., Hatakeyama, E., Yasuhara, T., Nokihara, K., 2003, Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 51 (12), 3668-3674.

Sakanashi, Y., Oyama, K., Matsui, H., Oyama, T.B., Oyama, T.M., Nishimura, Y., Sakai, H., Oyama, Y., 2008, Possible use of quercetin, an antioxidant, for protection of cells suffering from overload of intracellular Ca^{2+}: A model experiment, *Life Sciences,* 83, 164‑169.

Saldamlı, İ., Sağlam, F., 1998, *Vitaminler ve mineraller,* Gıda Kimyası, In: Saldamlı, İ. (ed.), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 337-398.

Saleem, M., Ohshima, H., 2004, Xantine oxidase converts nitric oxide to nitroxyl that inactivates the enzyme, *Biochemical & Biophysical Research Communication*, 315, 455-462.

Sánchez, C., 2017, Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms, *Synthetic and Systems Biotechnology,* 2 (1), 13-22.

Sarma, A.D., Mallick, A.R., Ghosh, A.K., 2010, Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research,* 1 (3), 185-192.

Scalzo, R.L., 2008, Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid, *Food Chemistry,* 107, 40–43.

Schöneich, C., 2016, Thiyl radicals and induction of protein degradation, *Free Radical Research,* 50 (2), 143–149.

Schreck, R., Baeuerle, P.A., 1991, A role for oxygen radicals as second messengers, *Trends in Cell Biology,* 1 (2-3), 39-42.

Schroeder, P., Klotz, L., Buchczyk, D.P., Sadik, C.D., Schewe, T., Sies, H., 2001, Epicatechin selectively prevents nitration but not oxidation reactions of peroxynitrite, *Biochemical and Biophysical Research Communications,* 285, 782–787.

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., De, B., 2010, Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Res*earch, 3 (1), 91-100.

Serteser, A., Gök, V., 2003, Doğal antioksidanların biyoyararlılığı, *3. Gıda Mühendisliği Kongresi*, 2-4 Ekim 2003, Ankara, 83-98.

Sezgin, N., 2006, *Adaçayı (Salvia spp.) bitkisinde antioksidan maddelerin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Shen, Q., Ou, A., Liu, S., Elango, J., Wang, Shujun., H, Tiago., Wu, W., Robinson, J., Bao, Bin., 2019, Effects of ion concentrations on the hydroxyl radical scavenging rate and reducing power of fish collagen peptides, *Journal of Food Biochemistry*, e12789. https://doi.org/10.1111/jfbc.12789

Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., 2012, Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: A review, *Journal of Dental & Allied Sciences*, 1 (2): 63- 66.

Simon, H.U., Haj-Yehia, A., Levi-Schaffer, F., 2000, Role of reactive oxygen species (ROS) in the apoptosis induction, *Apoptosis*, 5, 415-418.

Smith, M.A., Perry, G., Richey, P.L., Sayre, L.M., Anderson, V.E., Beal, M.F., Kowall, N., 1996, Oxidative damage in Alzheimer's, *Nature*, 382, 120-121.

Sripakdee, T., Sriwicha, A., Jansam, N., Mahachai, R., Chanthai, S., 2015, Determination of total phenolics and ascorbic acid related to an antioxidant activity and thermal stability of the Mao fruit juice, *International Food Research Journal*, 22, 618–624.

Strlic, M., Radovic, T., Kolar, J., Pihlar, B., 2002, Anti- and prooxidative properties of gallic acid in Fenton-type systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6313-6317.

Sturman, J.A., 1988, Taurine in development, *The Journal of Nutrition*, 118, 1169-1176.

Suleman M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S., Ayub, S., Ayub, M., 2019, Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body, *Pure and Applied Biology*, 8 (1), 380-388.

Sumorok, N., Goldfarb, D.S., 2013, Update on cystinuria, *Current Opinion in Nephrology and Hypertension,* 22 (4), 427–431.

Şener, G., Çağlayan Yeğen, B., 2009, İskemi reperfüzyon hasarı, *Klinik Gelişim Dergisi,* 22 (3), 5-13.

Taddei, S., Virdis. A., Ghiadoni, L., Magagna, A., Salvetti, A., 1998, Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension, *Circulation,* 97, 2222-2229.

Taira, J., Tsuchida, E., Katoh, M.C., Uehara, M., Ogi, T., 2015, Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxyl radical and nitric oxide, *Food Chemistry,* 166, 531-536.

Tak, P.P., Zvaifler, N.J., Green, D.R., Firestein, G.S., 2000, Rheumatoid arthritis and p53: how oxidative stress might alter the course of inflammatory diseases, *Immunology Today*, 21, 78-82.

Temür, N., 2006, *Çam, kavak, sögüt ve armut agaçlarının üzerinde yetisen ökse otu bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpasa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Thomas, D.J., Parkin, K.L. 1994, Quantification of alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide and related amino acids in alliums by high-performance liquid chromatography, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 42, 1632-1638.

Thomas, M.J., 1995, The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working? *Critical Reviews in Food Science*, 35, 21-39.

Townsend, D.M,. Tew, K.D., Tapiero, H., 2004, Sulfur containing amino acids and human disease, *Biomedicine & Pharmacotherapy,* 58 (1), 47-55.

Tractman, H., Pizzo, R.D., Fulter, W.S., Levine, D., Rao, P.S., Valderoma, E., Sturman, J., 1992, Taurine attenuates renal disease in chronic puromycin aminonucleoside nephropaty, *American Journal of Physiology-Renal Physiology,* 31, 117-123.

Tseng, M., Liu, K.N., Radtke, N., 1990, Facillilated ERG recovery in taurine treated bovine eyes on ex vivo study, *Brain Research*, 509, 153-155.

Uğuzlar, H., 2009, *Antalya'da yetişen Araceae arum'un antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

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

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

Vriesman, M.F., Haenen, G.R.M.M., Westerveld, G.J., Paquay, J.B.G., Voss, H.B., Bast, A., 1997, A method for measuring nitric oxide radical scavenging activity. Scavenging properties of sulfur–containing compounds, *Pharmacy World and Science*, 19 (6), 283-286.

Wanasundara, U.N., Shahidi, F., 1998, Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils, *Food Chemistry*, 63 (3), 335-342.

Wang, T., Jonsdottir, R., Ólafsdóttir, G., 2009, Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds, *Food Chemistry,* 116 (1), 240-248.

Winterbourn, C.C., 2015, Are free radicals involved in thiol-based redox signaling?, *Free Radical Biology and Medicine,* 80, 164-170.

Whittaker, M., Whittaker, J., 1998, A glutamate bridge is essential for dimer stability and metal selectivity in manganese superoxide dismutase, *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 22188-22193

Wiernsperger, N., 2003, Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy, *Diabetes & Metabolism*, 29 (6), 579-585.

Wong, F.C., Yong, A.L., Ting, E.P.S., Khoo, S.C., Ong, H.C., Chaia, T.T., 2014, Antioxidant, metal chelating, anti-glucosidase activities and phytochemical analysis of selected tropical medicinal plants, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (4), 1409-1415.

Yanishlieva, N.V., Marinova, E. M. 2001, Stabilisation of edible oils with natural antioxidants, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 752–767.

Yin, J., Wu, M.M., Xiao, H., Ren, W.K., Duan, J.L., Yang, G., Li, T.J., Yin, Y.L., 2014, Development of an antioxidant system after early weaning in piglets, *Journal of Animal Science*, 92 (2), 612–619.

Yoo, K.S., Pike, L.M., 1998, Determination of flavor precursor compound S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides by HPLC method and their distribution in *Allium* species, *Scientia Horticulturae*, 75, 1-10.

Young, I.S., Woodside, J.V., 2001, Antioxidants in health and disease, *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176–186.

Zhan,G., Pan, L., Tu, K., Jiao, S., 2016, Antitumor, antioxidant, and nitrite scavenging effects of Chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*) peel flavonoids, *Journal of Food Science*, 81 (10), H2578-H2586.

Zhu, X., Jiang, X., Li, A., Zhao, Z., Li, S., 2017, S-allylmercaptocysteine attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity through suppression of apoptosis, oxidative stress, and inflammation, *Nutrients*, 9 (2), 166.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Sebahat Yılmaz
Doğum Yeri	İstanbul
Doğum Tarihi	06.05.1991
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
Telefon	0537 426 54 43
E-Posta Adresi	sebahatylmz34@gmail.com
Web Adresi	-



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fakülte	Fen-Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	2014

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Biyokimya

Makale ve Bildiriler
Yilmaz, S., Bayrak, B.B., Cakmak, N., Yanardag, R., 2018, Edaravone protects against valproic acid induced lung damage via its antioxidative activity, *First International Symposium on Graduate Research in Science*, 4-5 Ekim 2018 Istanbul, Turkey, pp 339.