

Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yetiştirilen Yeşil Acı Biberlerdeki Kapsaisinin DNA Koruyuculuğu Üzerine Etkisi

Sibel BAYIL OĞUZKAN¹, Merve CAN², Halil İbrahim KILIÇ¹, Halil İbrahim UĞRAŞ³,
Mehmet ÖZASLAN¹

¹Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Gaziantep
²Düzce Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Düzce
³Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Gaziantep
✉: bayil@gantep.edu.tr

ÖZET

Güneydoğu Anadolu bölgesinde yaygın olarak yetiştirilen *Capsicum annuum* L. türü yeşil biber özellikle hem üretilmekte hem de yoğun bir şekilde tüketilmektedir. Bu bitkinin doğal içeriği olan kapsaisin biberlerdeki en önemli sekonder metabolitlerden biri olup antikarsinojenik ve antimutajenik potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada Gaziantep bölgesinde tüketilmekte olan acı yeşil biberlerden saflaştırdığımız kapsaisin antiradikalik, antioksidan durumları ve DNA koruyucu aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, toplanıp, gölgede kurutulup öğütülen yeşil acı biber numunelerinden düşük polariteli diklormetan çözücüsünün yanı sıra metanol gibi yüksek polariteli çözücüler ekstraksiyon için kullanılmı olup 72 saat'lik bir yöntem ile saf kapsaisin ekstraktı elde edilmiştir. Saflaştırılan kapsaisinden antioksidan aktivitesi tespiti için Rel Assay Diagnostics kitleri (TAS, TOS) ve antiradikalik aktivite tespiti için de DPPH yöntemi kullanılmıştır. DNA koruyucu aktivite için pBR322 plazmid DNA'sı ve UV-C yöntemi kullanılmıştır. Kapsaisinin diklormetandaki ekstraktı hem antioksidan hem de antiradikalik aktivite yönünden metanole göre daha iyi bulunmuştur. Kapsaisinin oksidan değerlerinin ise standartlara göre oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. DNA koruyucu aktivite yönünden sonuçlar incelendiğinde kapsaisinin diklormetan ekstraktı düşük konsantrasyonlarda daha yüksek koruyucu etki gösterirken metanoldeki ekstraktı yüksek konsantrasyonlarda daha iyi koruyucu etki göstermiştir. Sonuç olarak bu çalışma ile yeşil biberlerdeki kapsaisinin antioksidan, antiradikalik ve DNA koruyucu aktivitesinin olduğu ortaya konulmuştur.

DOI:10.18016/ksudobil.294786

Makale Tarihçesi

Received : 23.02.2017

Accepted : 14.04.2017

Anahtar Kelimeler

Antioksidan,
Antiradikal,
DPPH,
DNA ve UV-C

Araştırma Makalesi

The Effect of the Capsaicine of Green Pepper Grown in the Southeastern Anatolia Region on the DNA Protection

ABSTRACT

Capsicum annuum L. species are well known as green peppers in Southeastern Anatolia region where cultivated and consumed widely. Capsaicine is a naturel compound which is one of the most important secondary metabolites in peppers and is known to have anticarcinogenic and antimutagenic potential. In this study, we investigated the effects of capsaicin purified from green peppers grown and consumed in Gaziantep region on antiradical, oxidant conditions and DNA protective activity. For this purpose, a pure capsaicin extract was obtained from the green pepper samples collected and shaded in the shade and dried in using high polarity solvent as methanol and low polarity solvent as dichloromethane for 72 hours. Total antioxidant level (TAL), total oxidant level (TOL) and DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method were used for the determination of antioxidant activity of purified capsaicin with Rel Assay Diagnostics kits. For DNA-protecting activity, pBR322 plasmid DNA and UV-C method were used. The extract of capsaicin in dichloromethane was

Article History

Geliş : 23.02.2017

Kabul : 14.04.2017

Keywords

Antioksidan,
Antiradikal,
DPPH,
DNA and UV-C

Research Article

found to be better than both of antioxidant and antiradical activity. Oxidant values of Capsaicine was determined very low compared to standards. As the results in terms of DNA protective activity were examined, the extract of methanol showed better protective effect at high concentrations when the dichloromethane extract showed higher protective effect at low concentrations. Result of this study revealed that the capsaicine in green peppers have antioxidant, antiradical and DNA protective properties.

To Cited : Bayıl Oğuzkan S, Can M, Kılıç Hİ, Uğraş Hİ, Özaslan M 2018. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yetişen Yeşil Acı Biberlerdeki Kapsaisinin DNA Koruyuculuğu Üzerine Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 21(1):26-31, DOI:10.18016/ksudobil.294786

GİRİŞ

Biber, pathcangiller (*Solanaceae*) familyasının *Capsicum* cinsine bağlı, ılıman iklimlerde tek yıllık olarak yetişen bir kültür bitkisidir. Doğu Akdeniz ve Güney doğu Anadolu bölgesinde yetiştiriciliği yapılan türü *Capsicum annuum* L. olarak bilinmektedir (Topak ve ark. 2008). *Capsicum annuum* L. ilaç kimya sanayinde kullanılan ayrıca halk arasında da yaygın olarak tüketilen değerli bir bitkidir (Şener ve ark. 2010). Biberlerde kapsonoidler olarak bilinen kapsaisin, norhidrokapsaisin, homodihidro-kapsaisin, dihidro-kapsaisin ve homokapsasin bileşikleri mevcuttur. Bunlardan en önemlisi kapsaisin olup minör kapsonoidlere göre tat ve sinirler üzerine etkisi diğerlerine göre çok yüksektir (Thomas ve ark. 1998). Biberlerin ana etken maddesi olan kapsaisin biyoaktif fitokimyasal bir molekül olup bitkinin sekonder metabolitidir (Materska ve ark. 2005). Kapsaisinin, antioksidan ve besinsel özelliklerinin biyoaktif fenolik fitokimyasal oranlarına bağlı olduğu bilinmektedir (Kempaiyah ve ark. 2004). Birçok çalışma, kapsaisinin potansiyel antimutajenik ve antikarsinojenik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Surh ve ark. 1996). Kapsaisin kanserli hücrelerde seçici olarak apoptozu indüklediği bildirilmiştir. (Gannett ve ark. 1988)

Ayrıca, kapsaisinin ateş, hipertansiyon, romatizma kas ağrıların giderilmesi, astım ataklarına karşı, obeziteyi önleme, antikarsinojenik tedaviler gibi çok çeşitli hastalıkların geleneksel tedavisi amaçlı olarak kullanımı yaygındır (Surh, 2002). Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda biber tüketimi ile gastrik kanseri, pankreas kanseri ve akciğer kanserlerinin önlenmesi arasında pozitif bir ilişki rapor edilmektedir (Lee ve ark. 2008). Biberlerin içerdikleri besinsel bileşenleri ve biyolojik aktivitelerini değerlendirirken nasıl olgunlaştıklarını da göz önünde bulundurmak gerekmektedir. Biberler açığa çıkan pigmentlerin değişimi ile yetiştirme esnasında farklı renkler meydana getirirler.

Yani biberlerin renginin yeşil olması içerdikleri klorofil ve kloroplastlarındaki karetonoid tipine bağlı olarak değişim gösterir (Filemona ve ark. 2007). Bu konuda yapılan çalışmalar genellikle kırmızı acı biberlerdeki kapsaisin üzerinde yoğunlaştığı için özellikle yeşil biberlerde sadece farklı karetonoid tipine bağlı olarak değişen renk gözardı edilerek yeşil biberlerdeki kapsaisinin bazı biyolojik aktiviteleri bu çalışma ile test edilmiştir.

Öncelikli olarak yapılan testlerden en önemlisi kapsaisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi olup daha sonra yapılacak çalışmalar için bu testler özellikle oksidatif stres değerlerinin belirlenmesi amacı ile bir ön hazırlık olarak düşünülmektedir. Oksidatif stres hücrelerde reaktif oksijen türlerinin seviyelerinde artışa neden olabilir (Halliwell, 1994). Süperoksit radikal ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türleri bazı biyokimyasal reaksiyonların sonucu olarak üretilirler ve aerobik hücrelerde protein denatürasyonu, mutajenez ve lipid peroksidasyonu gibi oksidatif hasarın primer sebepleridir (Baskın ve ark. 2000). Bu esnada oluşan serbest radikallerin en agresifi hidroksil (OH) radikali olup DNA, lipid ve protein gibi makromoleküllere çok rahat atakta bulunup bunların yapılarını bozabilir. Hidrojen peroksit (H₂O₂) varlığında DNA'nın UV (Ultra-viyole) ışınlarına maruz kalması açık uçlu DNA'nın kırılması ve DNA kırıklarının (kromatid ve kromozom kırıkları) oluşmasına neden olmaktadır (Tepe ve ark. 2011). Bu esnada DNA zincirinde meydana gelen kırılmalar sonucunda genetik bozukluklar meydana gelebilir. Geri dönüşümsüz DNA hasarı karsinogeneze, yaşlanmaya ve diğer dejeneratif hastalıklara yol açabilir (Tao ve ark. 2003). Dolayısı ile bitkilerin etken maddelerinin DNA koruyuculuğu üzerinde nasıl etkilerinin olduğunun araştırılması son derece önemlidir.

Kapsaisinin genetik materyal üzerinde nasıl bir etkisi olduğuna dair literatürde herhangi bir çalışma mevcut olmadığından özellikle DNA koruyucu aktivitesi belirlenmiştir.

Son zamanlarda bitkilerde bulunan fitokimyasalların oksidatif strese bağlı gelişebilecek hastalıklardan korunmak için önemli görevleri oldukları bilindiğinden dolayı kapsaisinin antioksidan özelliklerinin de DNA koruyucu etkileri ile beraber değerlendirilmesi yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bitki Materyali

Güneydoğu Anadolu bölgesinde üretimi yapılan *C.annuum* L. türü yeşil acı biber hasat zamanı Haziran sonu-Temmuz ayı başlarında olup genelde ekim ayı başında son bulur. Bu nedenle numuneler 2016 yılı Haziran ve Eylül aylarında toplanmıştır ve Gaziantep üniversitesi Biyoloji bölümü Botanik anabilim dalında teşhisi yapılmıştır.

Kapsaisin Saflaştırma

Özüt eldesi için materyal olarak diklormetan (CH₂Cl₂) (Sigma Aldrich. Germany) metanol (CH₃OH) (Sigma Aldrich. Germany) kullanılmıştır. Hazırlanan yeşil biber bitkisinden Sokslet yöntemiyle her bir bitki kısmından diklormetan, metanol özütleri çıkarılmıştır. Elde edilen özütten Rotary Evaporator' de buharlaştırma yöntemiyle diklormetan ve metanol uzaklaştırılmıştır.

Segi ve arkadaşları tarafından Patent numarası:5,955, 631 olan 1999 yılında literatüre geçen kapsaisin saflaştırma yöntemine göre yeşil biber numunelerinden kapsaisin izole edilmiştir. Yönteme göre, elde edilen özütlerin her bir numunesi petri kabından 30 ml aseton çözücüsüyle çözülüp alınmıştır. Deney için 30 ml 0,1 M AgNO₃ çözeltisi eklenip 30 °C' de pH 7 oluncaya kadar 0,1 M NAOH çözeltisi damla damla eklenmiştir (yaklaşık 3 damla) daha sonra 3 saat boyunca manyetik karıştırıcıda ekstraksiyon yapılmıştır. Daha sonra çözelti dinlendirilmiştir.

Adi süzgeç kağıdı ile süzülüp sulu faz ayrılmıştır. Sulu faza 100 ml hekzan eklenerek sıvı-sıvı ekstraksiyon yapılmıştır. Sulu faza 25 ml diklormetan eklenip sulu faz ayrılıp sulu faza 2. kez 25 ml diklormetan eklenmiştir. Diklormetan fazları toplanmış ve yaklaşık 50 ml olan çözelti rotary evaporatörde yarısı kalacak şekilde çözücüsü uçurulmuştur.

Kapsaisin içeren çözeltisiyle tekrar 25 ml doygun NaCl çözeltisiyle sıvı-sıvı ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir sonrasında diklormetan fazı alınmıştır ve çözücü uzaklaştırılmıştır. 3 ml diklormetan çözeltisi ile viyalenip vakum altında çözücü uzaklaştırılmıştır (Segi ve ark. 1999). Bu şekilde acı yeşil biberlerden diklormetan ve metoneldaki çözücülerle %98 saflıkta kapsaisin elde edilmiş olup kapsaisin miktarları Çizelge 1 de gösterildiği gibidir.

Çizelge 1. Yeşil acı biberden saflaştırılan kapsaisin miktarları (gr)

Çözücüler	Yeşil acı biber kapsaisin
Diklormetan	4,9x10 ⁻³
Metanol	1,01x10 ⁻²

DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesi ile Antioksidan Aktivite Belirlenmesi

Ekstraktların serbest radikal giderim kapasiteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak tespit edilmiştir (Hatano ve ark. 1988).

Liyofilize kapsaisin ekstraktlarına eklenen DPPH solüsyonu 517 nm' de optik yoğunlukta absorbans değerinde düşüşe neden olur ve bileşikteki renk açılması kapsaisinin bileşenin radikal temizleyicisi olduğunun bir göstergesidir. Sonuçlar % DPPH Radikali Giderme Aktivitesi ve ardından EC₅₀ değerinin hesaplanması ile değerlendirilmiştir olup sayısal veriler çizelge2'de gösterildiği gibidir. DPPH radikal giderici aktivitesi aşağıdaki formüle göre

hesaplanmıştır :

$$DPPH \text{ Radikal giderici aktivite yüzdesi} = \frac{\text{Kontrolün absorbansı}}{\text{Örneğin absorbansı} \setminus \text{Kontrol absorbansı} \times 100}$$

ABTS Yöntemi ile Total Antioksidan Seviye (TAS) Belirlenmesi

Kapsaisin ekstraktının antioksidan kapasitesini belirlemek için ticari olarak satılan kitler kullanılmıştır. Örnekteki antioksidan maddeler, koyu mavi-yeşil renkli ABTS (2,2 AzinoBis) (3-Etil Benzo Tiazolin-6- Sulfonik Asit) 'e radikalini indirgenmiş ABTS formuna dönüştürür ve 660 nm'daki absorbanstaki değişimi örneğin total antioksidan seviyesini belirlemede kullanılır.

Radikal olarak ABTS'i, pozitif kontrol olarak sentetik antioksidan ve Vitamin E analogu olan Trolox kullanılmıştır (Halliwell ve ark. 2000). Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TAS Assay Kit kullanılmıştır. TAS değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$TAS \text{ (mmol/L)} = \frac{(\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek})}{(\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek}) \times 20}$$

Total Oksidan Seviye (TOS) ile Antioksidan Aktivite Belirlenmesi

Bu test, hidrojen peroksit ile kalibre edilir. Oksidan varlığında ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyon oksitler. Reaksiyon ortamında oksidanların bulunmasına bağlı olarak oksidasyon reaksiyon yoğunluğu artış gösterir. Ferrik iyon asidik ortamda renkli bir kompleks oluşturur. Renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans değeri örnekteki oksidan değerini gösterir.

Elde edilen sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Ekv./L}$ ile kıyaslanarak TOS değeri saptanır (Tarpey ve ark. 2004). Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TOS Assay Kit kullanılmıştır.

TOS değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$TOS \text{ (}\mu\text{mol/L)} = \left(\frac{\text{Örnek absorbansı}}{\text{Standart absorbansı}} \right) \times 20$$

(Standart Değeri = 20 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Ekv./L}$)

Elde ettiğimiz sayısal veriler kit kullanılarak yapılmış olup veriler Rell assay kit referans aralıkları ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar çizelge 2'de gösterildiği gibidir. Antiradikalik aktivite DPPH radikalini ortamdaki süpürmesi ile hesaplanan yüzde inhibisyon değerinin hesaplanması ile elde edilen sayısal veri ile değerlendirilmiştir.

Kapsaisinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi:

Kapsaisinin, DNA'yı UV ve oksidatif kaynaklı hasarlardan koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'si (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA'sı, bileşendeki kapsaisin varlığında

H₂O₂ (Hidrojen peroksit) ve UV uygulanarak hasara uğratılmıştır. Russo ve arkadaşları tarafından belirlenen metod uyarınca % 1,25'lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir (Russo ve ark. 2000). DNA koruyucu aktivite testi için liyofilize bileşikten %0.1 lik stok derişimi hazırlamak için 0.1 mg tartılmış ve üzerine 100 µl DMSO (dimetilsülfoksit, %10' luk)' da çözülmüştür.

Liyofilize kapsaisinin, tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra % 0.1'lik ekstrak solüsyonundan 1/5 oranında seyreltilmiştir. Bunun için 10 µl ekstrak üzerine 40 µl dH₂O eklenmiştir ve çalışmada bu oran kullanılmıştır (Tepe ve ark. 2011).

Yeşil acı biberlerdeki kapsaisinin DNA koruyucu aktivite üzerine etkileri şekil 1 deki bantlarda görüldüğü gibi olup diklormetanda ki kapsaisinin

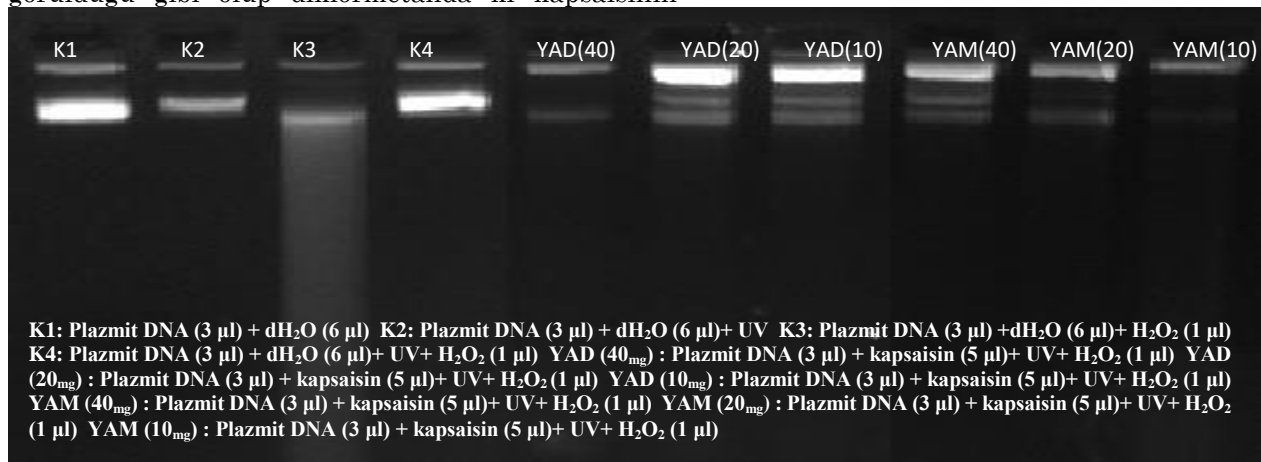
düşük konsantrasyonlarda daha iyi koruyucu etki gösterdiği tespit edilirken metanolde ki kapsaisinin yüksek konsantrasyonlarda DNA koruyuculuğu üzerine daha iyi etki ettiği tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Kapsaisinin antioksidan (TAS), oksidan (TOS) ve EC 50 değerleri

	TAS mmol/L	TOS µmol/L	EC50 (µg ml ⁻¹)	Referans değerler
YAD	3,47	0,029	0,5764	TAS > 2 Çok iyi
YAM	2,99	0,032	1,8779	TOS <5 Çok iyi

YAD :yeşil acı biber diklormetandaki çözücüsü

YAM: yeşil acı biber metanoldeki çözücüsü



Şekil 1. Kapsaisin DNA koruyucu aktivite bantları

TARTIŞMA

Antioksidan-oksidan değerleri bir terazi şeklinde dengede olduğu sürece oksidatif stres yani antioksidan-oksidan dengenin bozulması söz konusu değildir. Oksidan dengenin özellikle antioksidanların tersine bir yönde bozulmaya uğraması sonucu kanser, immun sistem bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok patolojik durumlar meydana gelebilmektedir. Bu nedenle bu dengenin korunması sağlık açısından son derece önemlidir. Son yıllarda doğal bileşiklerin antioksidan özellikleri içerdikleri potansiyel antioksidan bileşenleri incelenerek tespit edilmektedir (Surh 1996, Surh 2002).

Bu sebeple biberlerin etken maddesi olan kapsaisinin antioksidan kapasitesini belirlemek son derece önemlidir. Bu amaçla çalışmamızda özellikle ortadoğuda ki insanların diyetinde yaygın olarak tüketilen bölgemizde yetişen türü olan *C. Annuum L.* acı yeşil renkteki biberlerden izole ettiğimiz kapsaisinin, antiradikalik ve antioksidan aktivitelerini belirlemek istedik. Bulduğumuz sonuçlar literatürle uyumlu olup yeşil acı biberlerdeki kapsaisinin oldukça yüksek seviye antioksidan kapasiteye sahip olduğunu söyleyebiliriz. İnsan eritrosit membranındaki lipid peroksidasyon kapsaisin varlığında inhibe olmaktadır. (Salimath ve ark. 1986).

Kapsaisinin antioksidan özelliği rat karaciğerinde ki lipid peroksidasyonu üzerine inhibisyon etkisi yönünden de gösterilmiştir. Kapsaisinin hem hücre membranına yakın yerlerde hem de membran içinde DPPH giderici olduğu da bulunmuştur. Vanilin ve 8-metil-6 noenamid kapsaisin ile DPPH radikali reaksiyonunda majör olarak meydana gelmektedir bu esnada da kapsaisinin radikal temizleyici kısmının C7 deki benzil halkasındaki karbonun etkin olduğu tahmin edilmektedir (Prasad ve ark. 2004). Bizim çalışmamızda da kapsaisinin DPPH radikalini ortamdaki giderme etkisi EC50 değerleri hesaplanarak ifade edilmiş olup oldukça iyi sonuçlar tespit edilmiştir. Kapsaisinin diklormetan ekstraktındaki EC 50 değeri metanoldeki ekstraktına göre çok daha iyi seviyededir. Bu nedenle bu ekstrakt antiradikalik olarak kuvvetli kabul edilmiştir. Aynı zamanda çizelge 2'deki referans değerleri ile kıyaslandığında diklormetan ekstraktının total antioksidan aktivitesinde metanoldeki ekstraktına göre daha yüksektir. Dolayısı ile radikal giderme etkisi ve antioksidan değerler açısından bulduğumuz sonuçlar birbiri ile uyumludur. Kırmızı biberlerin biyolojik aktivitesinin çalışıldığı bir araştırmada kapsaisinin kısa süreli kullanımında bile potansiyel bir antioksidan olduğu bildirilmiştir (Srinivasan, 2016).

Kapsaisinin antioksidan kapasitesi ile ilgili birçok

çalışma mevcut olup DNA koruyucu ile ilgili herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmadığından özellikle çalışmamızda yeşil acı biberden izole edilen kapsaisinin UV ve H₂O₂'nin toksik ve mutajenik etkilerine karşı DNA üzerindeki koruyucu potansiyelini görüntüledik.

Stratosfer tabakasının tahrip olmasıyla dünyaya ulaşan UV ışınlarının canlılar üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu bilinmektedir. Antioksidanlar ayrıca UV ışınlarının zararlı etkilerine karşı koruma sağlamaktadırlar. Bu nedenle çalışmamızda antioksidan durumlar ve UV ışınlarına karşı DNA'yı koruyucu aktiviteyi birlikte değerlendirmek istedik. UV ışınları cilt kanseri ve cilt yaşlanmalarıyla sonuçlanan ciddi hastalıklara neden olmaktadır. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların topikal olarak (cilt üzerine) uygulanması cildi UV ışınlarının zararlı etkilerine karşı korumada etkili bir yaklaşımdır (Gutteridge ve ark. 1984). Aslında insan derisi VIS (görünür ışınlar) ve UV ışınların zararlı etkisini azaltacak bir dizi mekanizmaya sahiptir. Ancak UV ışınlarına yüksek seviyede maruz kalma hücrel antioksidanların miktarında azalmaya ve sonuçta reaktif oksijen türlerinin neden olduğu UV-kaynaklı oksidatif DNA hasarına yol açabilmektedir. UV ışınlarının yanı sıra serbest radikaller de DNA hasarına yol açabilmektedir.

Örneğin bir serbest radikal türü olan hidrojen peroksit, guanini, 8 hidroksi guanine dönüştürerek DNA hasarına neden olmaktadır (Bisset ve ark. 1990). Bu nedenle biberlerdeki primer etken madde olan kapsaisinin antioksidan durumlarının bilinmesi genetik materyale etkisi yönünden son derece önemli olduğu düşünülmektedir. DNA koruyuculuğu üzerindeki etkiler her iki çözücüde de farklı konsantrasyonlarda çalışılarak değerlendirilmiştir. Bulgular kısmında verilen DNA koruyucu aktivite sonuçlarına bakıldığında kapsaisinin her iki çözücüdeki ekstraktlarının hiçbirinde doğrusal DNA bantları oluşmamıştır. Yani hem diklormetan hem de metanoldeki ekstraktların, DNA'yı, UV ve H₂O₂'nin DNA üzerine hasar verici etkilerine karşı koruyucu olduğu saptanmıştır. Farklı çözücülerde ve farklı konsantrasyonlarda diklormetanda ki kapsaisinin düşük konsantrasyonlarda daha iyi koruyucu etki gösterdiği tespit edilirken metanolde ki kapsaisinin yüksek konsantrasyonlarda DNA koruyuculuğu üzerine daha iyi etki ettiği bulunmuştur. Kapsaisinle ilgili yapılan birçok literatür çalışmasında biberlerden izole edilen kapsaisin ekstraktlarının, norhidrokapsaisin, dihidrokapsaisin, homokapsaisin, homodihidrokapsaisin ve noni-amid'lerin karışımını içerdiği bilinmektedir (Bley ve ark. 2012).

Gerçekte kapsaisin yüzdesi biberlerin kaynağına ve ekstraksiyonda kullanılan yöntem ve çözücülere göre değişiklik göstermektedir. Biber ekstraktları kapsanoidlerin haricinde farklı kimyasal maddeler içerebilirler ve kapsonoid haricindeki bu maddelerde ekstraksiyon yapılan çözücülerle farklı tepkimelere sebep olabilmektedirler (Johnson, 2007). Kapsaisinin farklı konsantrasyonlardaki DNA koruyuculuğu etkisinin

her iki çözücüde elde edilen kapsaisin miktarına veya kapsaisin haricindeki diğer sekonder metabolitlerle çözücülerin farklı kimyasal reaksiyon vermiş olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Son zamanlarda kansere neden olan oksidatif DNA hasarını kontrol eden yeni bileşikler araştırmak için tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen özütler üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapılmaktadır (Bayil Oguzkan ve ark. 2016).

Kapsaisinin antioksidan etkisi üzerine literatürde yapılmış çalışmalar mevcut olup antioksidan özelliği iyi bilinmektedir (Krinsky ve ark. 1994). Bu çalışmada ise kapsaisinin antioksidan seviyelerini, DPPH antiradikallik aktivite yönünden, total antioksidan kapasite ve total oksidan seviyeleri tespit edilerek oksidan durumunun değerlendirilmesinde farklı testler çalışılarak beraber değerlendirildi.

Bulduğumuz sonuçlar literatürle uyumluluk göstermektedir. Bitkiler üzerine yapılan çalışmaların artmasının birçok nedeni vardır. Bu nedenler; antibiyotiklerin sıkça kullanımı ve buna bağlı olarak patojen mikroorganizmaların direnç kazanmasına ve antibiyotiklerin etkilerinin giderek azalması, yeterli düzeyde bir kimya endüstrisine sahip olmayan gelişmekte olan ülkelerin, kolay ve ucuz bir tedavi olanağı elde etmek istemeleri, tedavi amaçlı kullanılan sentetik bileşiklerin neden olduğu tehlikeli yan etkilerinin olması, bitkisel droglardan elde edilen bazı maddelerin sentetik olanlardan daha ucuza ve daha kolay elde edilebilir olmasına ve drogların birkaç etkiye birden sahip olmasıdır (Baytop, 1999). Bu durum, bitkisel ilaçların organizma üzerinde toksik ve pahalı olan sentetik ilaçlarla birlikte kullanımlarında tamamlayıcı olmasının yanında alternatif tedavi aracı olarak kullanılması desteklemektedir.

SONUÇ

Bu çalışma yeşil biberlerin etken maddesi olan kapsaisinin biyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve bu bileşiklerin drog ya da ilaç olarak kullanılabilmesi için elde ettiğimiz sonuçlar farmakoloji açısından bir ön çalışma niteliği taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Bitki kimliklendirilmesi konusundaki yardımlarından dolayı Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik ABD. öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr. Hüseyin Tekin'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Baskin SI, Salem H 1997. Oxidants, antioxidants and free radicals. (Washington, (DC) , Taylor & Francis Publishers) 23-77.
- Bisset DL, Chatterjee R, Hannon DP 1990. Photoprotective effect of msuperoxide-scavenging anti-oxidants against ultraviolet radiation-induced skin damage in the hairless mouse. Photodermatol Photoimmunol Photome,7:56-62.

- Bayil Oguzkan S, Uğraş S, Aksoy ES, Ülger S, Üzmez Ş, Karagül B, Uğraş Hİ 2016. Biological Activity Analysis of Hazelnut Nutshell Extracts. *International Journal of Chemical and Natural Science*, 4 (5) : 481-485.
- Baytop T 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri, II. Baskı ISBN: 975-420-021-1, İstanbul, 480s
- Bley K, Boorman G, Mohammad B, Mckenzie D, Babbar S 2012. A Comprehensive Review of the Carcinogenic and Anticarcinogenic Potential of Capsaicin. *Toxicol Pathol.* 40:(6) : 847-873.
- Conferti F, Giancarlo AS, Menichini F 2007. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annum* var. *Acuminatum* L.) in relation to maturity stage. *Food Chemistry*, 102 :1096-1104.
- Gutteridge JMC 1984. Lipid peroxidation initiated by superoxide-dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. *FEBS Lett*, 172: 245-9.
- Lee JK., Park BJ, Yoo KY, Ahn YO 1995. Dietary factors and stomach cancer: A case-control study in Korea. *Int J Epidemiol*, 24: 33–41.
- Kempaiah RK., Srinivasan K 2004. Influence of dietary curcumin, capsaicin and garlic on the antioxidant status of red blood cells and the liver in high-fat-fed rats. *Ann Nutr Metab*, 48: 314–320.
- Materska M, Perucka I 2005. Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum annum* L.) *J. Agric. Food Chem*, 53: 1750-1756.
- Halliwell B 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*, 52(8) : 253-265.
- Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 2090–2097.
- Johnson WJR 2007. Final report on the safety assessment of capsicum annum extract, capsicum annum fruit extract, capsicum annum resin, capsicum annum fruit powder, capsicum frutescens fruit, capsicum frutescens fruit extract, capsicum frutescens resin, and capsaicin. *Int J Toxicol*, 26, 3–106.
- Gannett PM, Nagel DL, Reilly PJ, Lawson T, Sharpe J, Toth B 1988. The capsaicinoids: Their separations, synthesis, and mutagenicity. *J. Org Chem*, 53, 1064-1071.
- Krinsky NI 1994. The biological properties of carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 66: 1003-1010
- Prasad NS, Raghavendra R, Lokesh BR, Naidu KA 2004. Spice phenolic inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. *Prostagl. Leukotr. Essent. Fatty Acids*, 70: 521-528.
- Salimath BP, Sundaresh CS, Srivinas L 1986. Dietary components inhibit lipid peroxidation in erythrocyte membrane. *Nutr.res*, 6:1171-1178.
- Surh YJ, Lee SS 1996. Capsaicin in hot chili pepper: Carcinogen, co-carcinogen or anticarcinogen?. *Food Chem Toxicol*, 34: 313–316.
- Surh YJ 2002. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: A short review. *Food Chem Toxicol*, 40: 1091–1097.
- Segi H, Yamada S, Kato S, Murasigo S 1999. Method of industrial purification of capsaicin . Patent number : 5,955, 631.
- Srinivasan K 2016. Biological Activities of Red Pepper (*Capsicum annum*) and Its Pungent Principle Capsaicin: A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(9): 1488-500
- Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Sorrenti V, DiGiacomo C, Virgata G, Barcellona ML, Vanella A 2000. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell. Biol. Toxicol*, 16: 91-98.
- Şener E, Şahin S 2010. Kapsaisin: Farmakokinetik, Toksikolojik ve Farmakolojik Özellikleri Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 29(2) : 149-163.
- Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB 2004. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol, Regul Integr Comp Physiol*, 286 (3): 431–44
- Tepe B, Degerli S, Arslan S, Malatyali E, Sarikurkcu C 2011. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antimutagenic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*, 82 (2): 237–246.
- Tao F, Gonzales-Flecha B, Kobzik L 2003. Reactive oxygen species in pulmonary inflammation by ambient particulates. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(4) : 327-340.
- Topak H, Erbil N, Digrak M 2008. Doguakdeniz ve Güneydogu Anadolu Bölgesi’nde Yetistirilen Biberlerin (*Capsicum annum* L.) Antimikrobiyal Aktivitesinin Arastırılması. *Science and Eng. J of Fırat Univ*, 20 (2) : 257-264.
- Thomas BV, Schreiber AA, Weiskopf PC 1998. Single method for quantitation of Capsainoids in peppers using capillary gas chromatography. *J Agri Food Chem* 46:2655-2663.