

Yeşil Çaydaki Antioksidan Moleküllerin Özelliklerinin Kuantum Kimyasal Yöntemler ile İncelenmesi

Vildan ENİSOĞLU ATALAY¹

ÖZET: Güçlü bir antioksidan olan yeşil çay, antimutajenik, antikanserojen ve antibakteriyel özellikler taşır. Yeşil çayın çoklu bileşenleri arasında flavonoidler, yeşil çayın antioksidan aktivitelerine büyük ölçüde katkıda bulunur. Bu çalışmada yeşil çay bitkisinin içinde bulunan moleküllerden OH grubu fazla olan gallokateşin, kaempferinin, striktinin, theaflavin ve isoviteksin molekülleri üzerinde durulmuştur. İncelenen bileşiklerin antioksidatif kapasitesini analiz etmek için üç ana antioksidan mekanizma HAT, SET-PT ve SPLET incelenmiştir. Hesaplamaları Gaussian09 programı kullanılarak M062X/6-311+Gdp, moleküler tanımlayıcılar için ise HF/6-31++Gdp metotları ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada gaz fazında SPLET mekanizması etanol fazında ise SET-PT mekanizması tercih edilmiştir. Antioksidan aktivite sırası gaz fazında gallokateşin>kaempferitin>isoviteksin>striktinin>theaflavin şeklinde iken etanol fazında ise isoviteksin>striktinin>gallokateşin>kaempferitin>theaflavin'dir.

Anahtar Kelimeler: antioksidan, DFT, yeşil çay, MO62X, moleküler tanımlayıcılar.

Investigation of Antioxidant Molecules in Green Tea by Quantum Chemical Approaches

ABSTRACT: A strong antioxidant, green tea, has antimutagenic, anticarcinogenic and antibacterial properties. Among the multiple components of green tea, flavonoids are a major contributor to the antioxidant activity. In this study, the molecules of galocatechin, kaempferinin, strictinin, theaflavin and isoviteksin molecules, which are OH groups in the green tea plant, are emphasized. The three major antioxidant mechanisms HAT, SET-PT and SPLET have been examined to analyze the antioxidative capacity of the compounds studied. Calculations were performed using the Gaussian09 program M062X/6-311+Gdp and the molecular descriptors using HF/6-31++Gdp methods. The SPLET mechanism in the gas phase and the SET-PT mechanism are preferred in the ethanol phase. The antioxidant activity in the gas phase is galocatechin>kaempferitin>isoviteksin> strictinin>theaflavin and in the ethanol phase it is isoviteksin>strictinin>galocatechin> kaempferitin>theaflavin.

Keywords: antioxidant, DFT, green tea, MO62X, molecular descriptors.

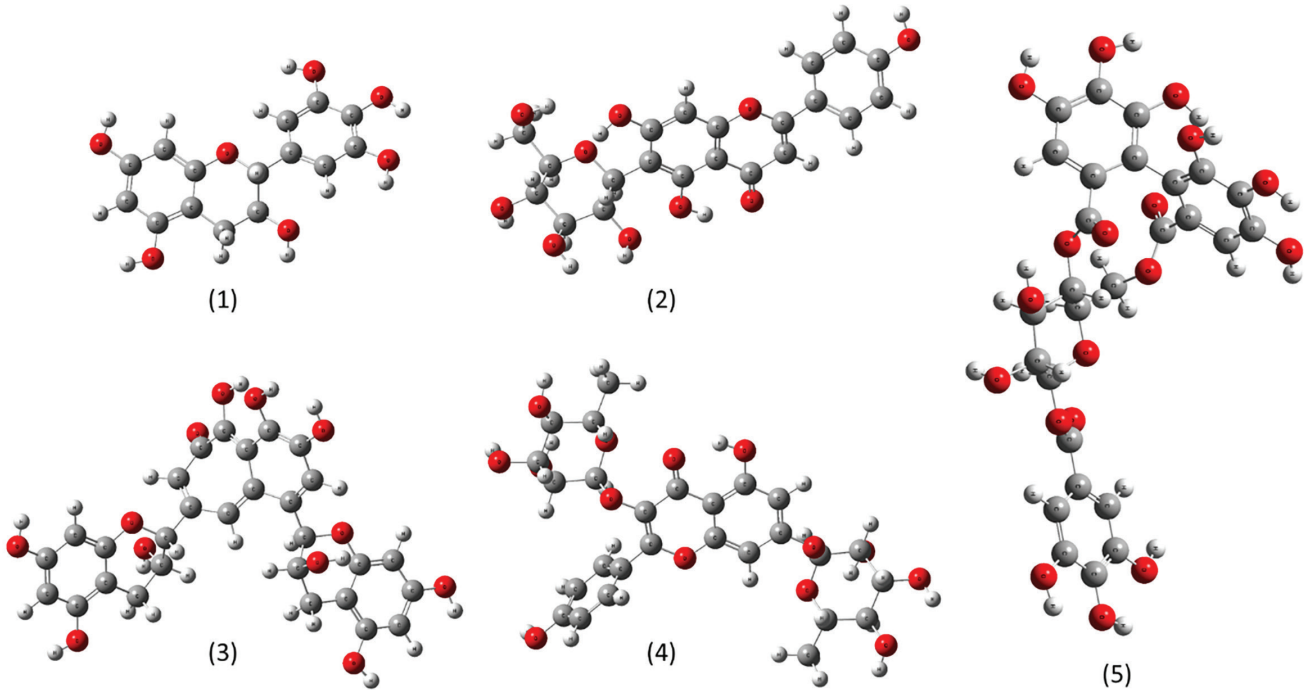
¹ Vildan ENİSOĞLU ATALAY (0000-0002-5086-7265), Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Sorumlu yazar/Corresponding Author: Vildan ENİSOĞLU ATALAY, vildan.enisoglu@uskudar.edu.tr

GİRİŞ

Oksidatif stres homeostatik süreçler başarısız olduğunda reaktif oksijen türlerinin artışı (ROS) ile onları detoksifiye ederek, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması sonucu meydana gelen hücre ve doku hasarı hücre içi lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllerin hasarına hücre zedelenmesi veya hücre ölümlerine neden olur olarak tanımlanmaktadır (Özcan ve ark., 2015; Reed, 1995; Younes, 1999). Oksidatif stres başta kanser olmak üzere ateroskleroz, hipertansiyon, kardiyovasküler, nörolojik hastalıklar, inflamatuvar bozukluklar diyabet, iskemik hastalıklar ve maligniteler gibi yaşam tarzı ile ilişkili hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı çeşitli araştırmalar sonucunda görülmüştür (Berlett ve Stadtman, 1997; Şahin ve ark., 2012). İnsan sağlığı bakımından antioksidan fonksiyonları ile ön plana çıkan maddeler E ve C vitaminleri, karotenoidler ve

fenolik maddelerdir. Çay, fenolik maddelerce zengin içeceklerden birisidir (Younes, 1999; Bruno ve ark., 2006). Siyah çaya göre daha yüksek antioksidan özelliğe sahip olan yeşil çay ekstraktlarının zincir kırma aktivitesi ve aktif oksijen yok etme özelliği de siyah çaydan daha yüksektir (Manzocco ve ark., 1998 Higdun ve Frei, 2003). Yeşil çay hidrojen peroksiti suya indirmeye yarayan katalaz ve glutatyon peroksidazı artırır (Chung ve ark., 2012; Guo ve ark., 1999). Manzocco ve arkadaşlarına göre (Manzocco ve ark., 1998; Zhou ve ark., 2004), yeşil çayın antioksidan kapasitesi ve kalitesini değerlendirmek için esas olarak içerdikleri flavanollerin antioksidan yeteneği hidroksil gruplarının sayısı, bağlandığı yere göre değişkenlik göstermektedir (Zhishen ve ark., 1999; Benzie ve Strain, 1999). Theaflavinler, thearubiginler gibi polifenoller ve özellikle kateşinler gibi bileşenlerin antioksidan etkilerden sorumlu olduğuna inanılmaktadır (Krzysztof, 2005; Higdun ve Frei, 2003).



Şekil 1. Gallokateşin (1), isoviteksin (2), striktinin (3), kaempferitin (4) ve theaflavin (5) bileşiklerinin optimize geometrilerinin GaussView5 ile alınan kimyasal yapıları

Bu çalışmada tümör hücre hattına karşı en güçlü ve en çok bilinen yeşil çay bileşenlerinden *gallokateşin* (Crespy ve Williamson, 2004; Valcic ve ark., 1996), yeşil çay yapraklarında bulunan

kaempferitin, oksidatif stresi azalttığı ve radikal temizleme yeteneğiyle *theaflavinlerin* (Higdun ve Frei, 2003; Stangl ve ark., 2006), benzer farmakolojik özellikleri gösteren *isoviteksin* (He ve ark., 2016) ve

peroksi radikallerini azaltan *strictin* (Hirofumi ve ark., 2001; Bo ve ark.,2004) olmak üzere 5 adet polifenol bileşiğinin (Şekil 1) antioksidasyon mekanizmaları yaygın ve etkili bir yöntem olan kuantum kimyasal metotlar ile ve moleküler tanımlayıcıları incelenmiştir. Literatürde antioksidan tayininde kullanılan kuantum yönteme ait çok sayıda makale mevcuttur (Al-Majedy ve ark., 2016; R. Praveena ve ark., 2013; Zheng ve ark., 2017; Saqib ve ark., 2016; Sadasivam ve ark., 2011; De Souza, 2016). Kuantum yöntemler ile yapılan antioksidan aktivite tayininde molekül içinde hangi OH grubunun daha fazla aktif olduğunun tespit edilmesi özellikle yapılacak yeni molekül araştırmaları için önemli bir ipucu sağlamaktadır. Elde edilen sonuçlar ile incelenen bileşiklerin OH gruplarının aktivitelerine göre sıralamaları yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

İncelenen moleküllerin tamamı Dr.Duke's Phytochemical ve Ethonobatical Databases-USDA (Dr.Duke's, 1992) sitesinden incelenerek 5'ten fazla hidroksi grubu içeren isoviteksin, theaflavin, striktinin, gallokateşin ve kaempferitin polifenol molekülleri araştırma seti olarak seçilmiştir. Konformer taramaları

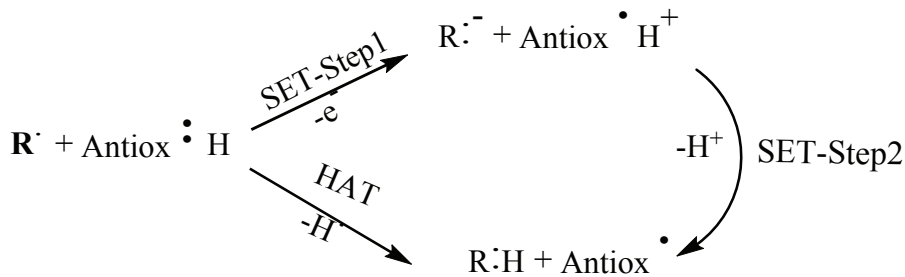
$$\text{BDE}=\text{H}(\text{ArO}\cdot)+\text{H}(\text{H}\cdot)-\text{H}(\text{ArOH})$$

Denk.1

İki basamaklı SET mekanizma ise 1. adımda serbest radikalın antioksidan molekülünden tek \bar{e} transferi yoluyla antioksidanın bir katyonik radikal ara ürün oluşması ve serbest radikal bileşiğinin anyonik forma geçmesinin ardından, 2. adımda anyonik formdaki serbest radikal antioksidan molekülünden bir H atomu alarak nötrale olur (Şekil 2). Bu mekanizma

Spartan'14 (Hehre,2003) ile yarı deneysel PM6 (Stewart, 2008) yöntemi ile yapıldı. Geometri optimizasyonları HF/6-31Gd (Axel, 1993) metodu ile, antioksidan mekanizma hesaplamaları DFT/M062X/6-311+Gdp (Lee ve ark., 1988) ve TD enerji hesabı ve $E_{\text{HOMO}} - E_{\text{LUMO}}$ enerjileri HF/6-31++Gdp metodu kullanılarak gaz ve etanol ortamlarında Gaussian09 (Frisch ve ark., 2009) ile gerçekleştirilmiş olup görüntüler GaussView5 (Dennington R ve ark., 2009) ile alınmıştır. Aynı metotla hesaplanan gaz fazında $\text{H}(\text{H}^+)$, $\text{H}(\text{e}^-)$ ve $\text{H}(\text{H}\cdot)$ değerleri -0.15995 au, -0.48696 au, -0.49817 au; etanol fazında ise sırasıyla -0.15998 au, -0.61116 au, -0.49983 au olarak bulunmuştur.

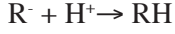
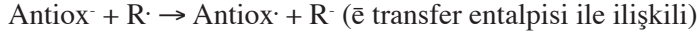
Literatürde hidrojen atomu transfer (HAT), tek e^- transfer (SET) ve SPLET olmak üzere 3 adet önemli antioksidan mekanizma vardır (Lu ve ark., 2014). HAT mekanizması, serbest radikalın antioksidanın bir H atomu ile birleştiği ve antioksidan radikalini tek adımda meydana geldiği, bağ ayrışma entalpisi (BDE)'nin hesaplandığı (Denk. 1) mekanizmadır (Şekil 2). O-H bağ enerjisi ne kadar düşük ise serbest radikallerin inaktive edilebilmesini o denli kolay sağlayacağı için düşük BDE değerleri incelenen molekül için yüksek antioksidan kapasiteyi temsil eder (Nenadis ve Sigalas, 2011).



Şekil 2. SET ve HAT reaksiyon mekanizmaları



SPLET mekanizma üç adımda gerçekleşmektedir:



SPLET mekanizmada Antiox⁻ anyonun oluşumu 1. adım, söz konusu bileşikteki OH⁻ grubunun asitlik gücü (PA, Denk.4) ile ilişkilidir, 2. adım e⁻ transfer entalpisi (ETE, Denk.5)'nden sorumludur ve son

adımda serbest radikalın nötralize olmuş formu elde edilir. Düşük PA ve ETE değerlerine sahip antioksidanların daha yüksek antioksidatif aktiviteye sahip olması beklenmektedir.



Moleküler tanımlayıcı olan elektronegatiflik (c), elektron afinitesi (EA), kimyasal sertlik (h) ve elektrofilitite indeksi (ω) antioksidan özelliklerini tespit etmek için kullanılan parametrelerdir. χ, η, S ve ω hesaplarında çalışmada $IA = -E_{\text{HOMO}}$ ve $EA = -E_{\text{LUMO}}$

değerleri Koopman'ın teorisine (Ji ve ark., 2006) göre nötral moleküllerin HOMO-LUMO enerjilerinin hesaplanması (Denk. 6-9) ile elde edilmişlerdir (Urbaniak ve ark., 2012).

$$X = -\mu \approx (IP + EA) / 2 \quad \text{Denk.6} \quad S \approx 1 / (2\eta) \quad \text{Denk.7}$$

$$\eta \approx (IP - EA) / 2 \quad \text{Denk.8} \quad \omega \approx \mu^2 / 2\eta \quad \text{Denk.9}$$

BULGULAR VE TARTIŞMA

Polifenol bileşiklerinin gaz ve etanol ortamlarında DFT/M062X/6-311+Gdp metodu ile elde edilen HAT mekanizması üzerinden hesaplanan BDE değerleri Çizelge 1'de listelenmiştir. Çizelge 1 incelendiğinde genel eğilim olarak etanol ortamında hemen hemen çalışılan tüm polifenol bileşiklerinde birkaç istisna dışında BDE değerlerinin düştüğü gözlemlenmiştir. İncelenen moleküller arasında gaz ve etanol fazında en düşük BDE theaflavin 5-OH grubunda sırasıyla 184.10

kJ mol⁻¹, 247.044 kJ mol⁻¹ tespit edilmiştir. Gaz fazında en büyük BDE değeri kaempferitin 6-OH (821.145 kJ mol⁻¹)'da gözlenmişken, etanol solventinde en büyük BDE değeri isoviteksin 2-OH (1458.332 kJ mol⁻¹)'a aittir. İncelenen moleküllerin BDE değerlerinin gaz fazındaki antioksidan aktiviteleri sırasıyla theaflavin > gallokateşin > striktinin > isoviteksin > kaempferitin etanol fazında ise theaflavin > striktinin > gallokateşin > isoviteksin > kaempferitin şeklindedir. Moleküllerinin gaz fazında tespit edilen BDE değerleri solventte tespit edilen değerlerden farklıdır.

Çizelge 1. DFT//M062X/6-311+Gdp yöntemi ile hesaplanan BDE (kJ mol⁻¹) değerleri

striktinin			theaflavin			kaempferitin		
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol
3-OH	334.806	538.639	3-OH	589.216	484.427	5-OH	344.257	343.707
4-OH	326.666	578.8	4-OH	640.939	496.352	6-OH	821.145	338.726
10-OH	270.481	361.756	5-OH	184.10	247.044	7-OH	348.196	344.06
11-OH	268.643	284.606	6-OH	239.762	362.132	8-OH	746.633	348.474
12-OH	286.234	277.366	7-OH	469.231	397.379	9-OH	351.15	586.501
13-OH	279.407	272.062	8-OH	344.782	422.756	10-OH	336.977	340.979
14-OH	279.145	272.062	9-OH	660.63	429.896	13-OH	339.794	326.676
15-OH	263.751	269.438	11-OH	603.657	430.515	14-OH	273.369	530.522
16-OH	290.697	280.677	12-OH	682.684	436.479			
17-OH	263.796	268.595						
18-OH	280.72	274.732						
isoviteksin			gallokateşin					
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol			
2-OH	320.628	583.777	2-OH	327.253	548.236			
3-OH	324.304	582.234	3-OH	278.095	497.936			
4-OH	767.478	593.497	4-OH	346.095	504.645			
5-OH	1639.76	1458.332	5-OH	263.917	438.973			
6-OH	348.541	331.726	6-OH	258.403	390.986			
7-OH	299.361	298.776	7-OH	277.832	269.6813			
10-OH	266.805	282.349						

SET-PT mekanizması üzerinden hesaplanan polifenol türevi bileşiklerin IP değerleri (Çizelge 2) incelendiğinde IP değerleri için gaz ve solvent fazları

arasında yaklaşık 450 kJ mol⁻¹ ve 500 kJ mol⁻¹ daha düşük elde edilmiştir.

Çizelge 2. DFT//M062X/6-311+Gdp yöntemi ile hesaplanan IP (kJ mol⁻¹) değerleri

molekül	gaz	etanol
gallokateşin	699.1421	265.2542
kaempferitin	747.4776	258.3631
striktinin	726.2636	251.6681
theaflavin	610.2953	153.1068
isoviteksin	732.5648	258.1268

Elektronun en kolay koparıldığı en fazla antioksidan olan molekül theaflavindir, bunu gaz fazında sırasıyla gallokateşin>striktinin>isoviteksin>kaempferitin takip etmektedir, etanol fazında ise striktinin>isoviteksin>kaempferitin>gallokateşin sırasındadır. Yüklü molekül türleri ortamların

polaritesine karşı oldukça duyarlıdır (Lee ve ark., 1988; Frisch ve ark., 2009). Polifenol türevi bileşikler için gaz ve etanol ortamlarında SET-PT mekanizmasının ikinci adımından elde PDE değerleri Çizelge 3'te listelenmiştir.

Çizelge 3. DFT//M062X/6-311+Gdp yöntemi ile hesaplanan PDE (kJ mol⁻¹) değerleri

striktinin			theaflavin			kaempferitin		
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol
3-OH	1838.91	931.962	3-OH	2209.38	931.299	5-OH	1827.29	659.501
4-OH	1830.77	927.123	4-OH	2261.10	943.224	6-OH	2336.35	680.362
10-OH	1774.58	710.079	5-OH	1804.19	693.972	7-OH	1831.23	685.695
11-OH	1772.74	632.929	6-OH	1859.92	702.525	8-OH	2258.92	690.110
12-OH	1790.34	625.689	7-OH	2089.39	844.251	9-OH	1834.38	928.614
13-OH	1783.51	620.385	8-OH	1964.94	869.628	10-OH	1822.30	682.614
14-OH	1783.25	620.812	9-OH	2280.79	876.768	13-OH	1822.82	668.312
15-OH	1767.85	617.762	11-OH	2223.82	877.388	14-OH	1756.40	872.157
16-OH	1794.80	629.000	12-OH	2302.85	883.351			
17-OH	1767.90	616.918						
18-OH	1784.82	623.055						
isoviteksin			gallokateşin					
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	Etanol			
2-OH	1818.67	925.610	2-OH	1824.36	922.72			
3-OH	1822.34	924.067	3-OH	1773.95	874.42			
4-OH	2265.52	935.330	4-OH	1841.95	879.13			
5-OH	3138.24	1800.38	5-OH	1759.77	813.46			
6-OH	1846.76	673.559	6-OH	1754.26	765.26			
7-OH	1797.40	640.609	7-OH	1773.69	644.17			
10-OH	1764.84	611.959						

Çizelge 3 incelendiğinde IP ve PDE değerlerinin gaz fazındakilere kıyasla önemli ölçüde değiştiği ve özellikler PDE değerlerindeki değişimin yaklaşık olarak 1100-1600 kJ mol⁻¹ arasında düştüğü belirlenmiştir. Gallokateşin molekülünün gaz fazında 6-OH bağının PDE enerjisi (1754.26 kJ mol⁻¹) en düşük çıkarken

etanol fazında isoviteksin molekülünün 10-OH bağı (1764.84 kJ mol⁻¹) için en düşük bulunmuştur. SET-PT mekanizması için gaz fazında PDE değerleri sıralaması gallokateşin < kaempferitin < isoviteksin < striktinin < theaflavin etanol fazında ise isoviteksin < striktinin < gallokateşin < kaempferitin < theaflavin sırasındadır.

Çizelge 4. DFT//M062X/6-311+Gdp yöntemi ile hesaplanan PA değerleri(kJ mol⁻¹)

striktinin			theaflavin			kaempferitin		
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol
3-OH	1177.79	947.479	3-OH	1175.13	971.487	5-OH	1225.80	970.479
4-OH	1165.15	935.396	4-OH	1172.76	960.982	6-OH	1201.65	956.400
10-OH	1077.72	863.305	5-OH	995.067	834.96	7-OH	1225.27	966.683
11-OH	1094.79	881.896	6-OH	1034.66	866.46	8-OH	1145.98	941.673
12-OH	1123.67	886.012	7-OH	1101.88	892.721	9-OH	1158.59	938.380
13-OH	1098.73	873.675	8-OH	1068.01	883.900	10-OH	1185.10	948.109

14-OH	1077.98	863.883	9-OH	1091.37	885.259	13-OH	1133.12	914.181
15-OH	1028.62	850.296	11-OH	1091.11	891.147	14-OH	1115.00	882.489
16-OH	1125.77	889.196	12-OH	1115.27	895.348			
17-OH	1062.23	858.154						
18-OH	1079.56	866.928						

isoviteksin			gallokateşin		
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol
2-OH	1142.31	938.928	2-OH	1176.97	949.213
3-OH	1159.37	994.317	3-OH	1089.01	881.849
4-OH	1179.59	949.598	4-OH	1109.23	888.229
5-OH	2065.45	1816.37	5-OH	1128.39	887.114
6-OH	1148.09	923.706	6-OH	1083.76	867.515
7-OH	1063.81	881.318	7-OH	1164.89	903.009
10-OH	1070.63	878.429			

SPLET mekanizmasından gaz ve etanol fazında hesaplanan elde edilen PA değerleri (Çizelge 4) incelendiğinde etanol fazındaki PA değerlerinin gaz fazındaki değerlerden yaklaşık 200 kJ mol⁻¹ düşük olduğu bulunmuştur. Theaflavin molekülünün 5-OH grubunun diğer moleküllerin OH gruplarının PA değerlerinden daha küçük olduğu dolayısıyla 5-O⁻ anyon oluşumunun diğer anyon oluşumlarından daha kolay olabileceği anlamına gelir. SPLET mekanizmasında PA'ların değerine göre en yüksek antioksidan etki gösteren molekül theaflavindir, diğer

moleküllerin antioksidan sıralaması ise striktinin > isoviteksin > gallokateşin > kaempferitin şeklindedir. Gaz ve etanol fazlarında hesaplanan ETE değerleri (Çizelge 5) incelendiğinde gaz fazındaki sıralaması kaempferitin < gallokateşin < isoviteksin < striktinin < theaflavin şeklinde iken etanol fazında isoviteksin < gallokateşin < kaempferitin < striktinin < theaflavin şeklindedir. Düşük ETE değerleri yüksek antioksidan etkiyi temsil etmeleri nedeni ile en yüksek antioksidan etkiyi gaz fazında kaempferitin 5-OH, etanol fazında ise isoviteksin 3-OH grubu göstermiştir.

Çizelge 5. DFT//M062X/6-311+Gdp metodu ile hesaplanan ETE değerleri (kJ mol⁻¹)

striktinin			theaflavin			kaempferitin		
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol
3-OH	41.118	236.131	3-OH	287.165	125.958	5-OH	2.786	-26.801
4-OH	45.844	243.374	4-OH	339.211	141.412	6-OH	536.004	-17.702
10-OH	77.087	98.4221	5-OH	60.79	17.638	7-OH	7.249	-22.653
11-OH	58.184	2.6812	6-OH	86.055	4.125	8-OH	514.233	6.771
12-OH	46.894	-8.6753	7-OH	242.193	111.077	9-OH	77.087	248.091
13-OH	65.01	-1.643	8-OH	155.029	144.382	10-OH	50.57	-7.277
14-OH	85.489	8.5766	9-OH	436.481	147.291	13-OH	91.003	12.466
15-OH	119.621	19.1135	11-OH	381.908	144.981	14-OH	42.693	248.008
16-OH	49.257	-7.532	12-OH	434.712	146.963			
17-OH	86.014	10.4117						
18-OH	85.489	7.7744						
isoviteksin			gallokateşin					
bağ	gaz	etanol	bağ	gaz	etanol			
2-OH	62.647	244.8296	2-OH	35.867	198.993			
3-OH	49.257	-74.6523	3-OH	73.412	216.057			
4-OH	29.041	243.8784	4-OH	121.196	216.386			
5-OH	458.835	241.9025	5-OH	19.852	151.83			
6-OH	84.964	7.9998	6-OH	58.972	123.441			
7-OH	119.883	17.4378	7-OH	7.774	-33.357			
10-OH	80.501	-8.3225						

Flavonoidin e⁻ verme yeteneği HOMO enerjileri ile ilgilidir, düşük HOMO enerjisi proton vermekteki zayıf yetenekleri, yüksek HOMO enerjisi ise daha güçlü e⁻ bağışlama yeteneklerini gösterir (Axel, 1993; Vleeschouwer ve ark., 2007). Gaz ve etanol fazlarında en yüksek HOMO enerjisi ile en güçlü e⁻ veren yeteneğe theaflavin (sırasıyla -0.2055 eV ve -0.2103 eV) molekülünün sahip olduğu, diğer moleküllerdeki sıralamanın ise gallokateşin > striktinin > isoviteksin > kaempferitin şeklinde (Çizelge 6) olduğu tespit

edilmiştir. Δ(HOMO-LUMO) molekülün kimyasal kararlılığını göstermektedir. ΔE enerjinin küçük olması reaktantların etkileşimini ve reaksiyon kolaylığını, dolayısıyla daha antioksidan özellik taşıdığını göstermektedir. Dolayısıyla en kararlı ve antioksidan etkisi en fazla olan molekül sıralaması theaflavin(0.1246 eV) > isoviteksin(0.1604 eV) > kaempferitin (0.1666 eV) > striktinin(0.1751 eV) > gallokateşin(0.1958 eV) şeklindedir.

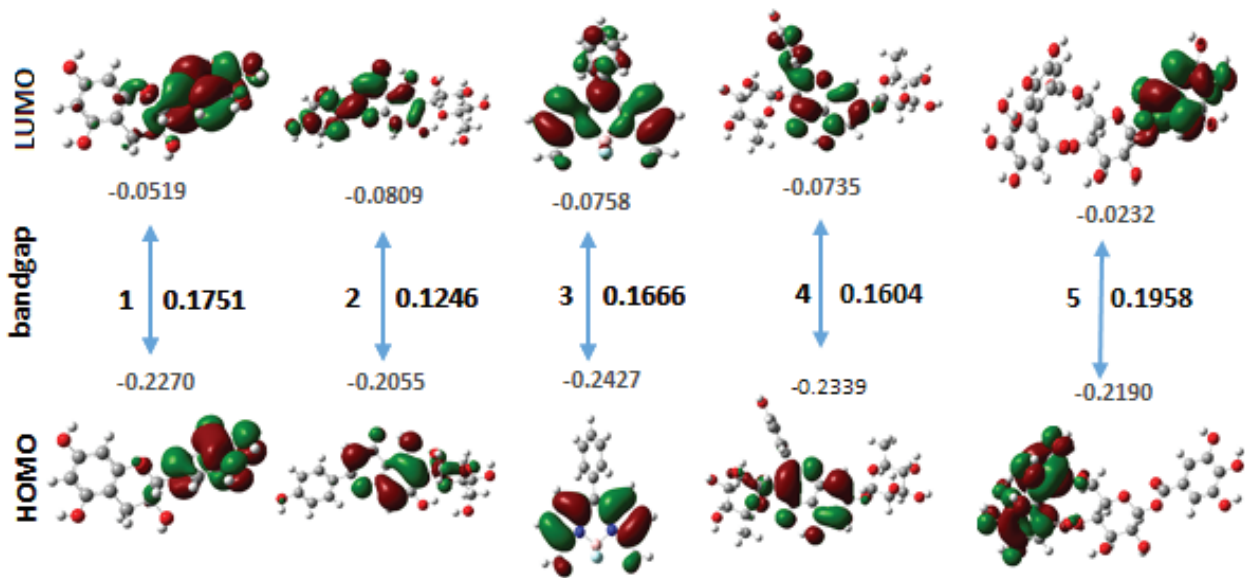
Çizelge 6. TDSP//HF/6-31++Gdp metodu ile hesaplanan moleküler tanımlayıcılar

	striktinin		theaflavin		keampferitin		isoviteksin		gallokateşin	
	gaz	etanol	gaz	etanol	gaz	etanol	gaz	etanol	gaz	etanol
HOMO	-0.2270	-0.2337	-0.2055	-0.2103	-0.2427	-0.2432	-0.2339	-0.2359	-0.2190	-0.2272
LUMO	-0.0519	-0.0564	-0.0809	-0.0883	-0.0761	-0.0758	-0.0735	-0.0754	-0.0232	-0.0172
ΔE	0.1751	0.1773	0.1246	0.122	0.1666	0.1674	0.1604	0.1605	0.1958	0.21
χ	0.1394	0.1450	0.1432	0.1493	0.1594	0.1595	0.1537	0.1556	0.1211	0.1222
η	0.0875	0.0886	0.0623	0.061	0.0833	0.0837	0.0802	0.0802	0.0979	0.105
S	5.7110	5.6401	8.0256	8.1967	6.0024	5.9737	6.2344	6.2305	5.1072	4.7619
ω	0.1110	0.1185	0.1645	0.1827	0.1525	0.1519	0.1472	0.1508	0.0748	0.0711

İncelenen polifenol türevi bileşiklerin için HF/6-31++Gdp yöntemi ile elde edilen HOMO-LUMO dağılımları Şekil 3'te verilmiştir. Şekil 3 incelendiğinde genel olarak HOMO orbitalleri moleküllerde daha çok fenolik OH grubunun olduğu bölgelerde lokalize olurken LUMO orbitalleri ise aksine molekülün OH gruplarının daha az olduğu bölgelerde lokalize olmuşlardır.

Hesaplanan c , h , S ve ω moleküler özellikleri incelenen moleküllerin çalışılan ortamlarda e^- alıcısı yerine e^- vericisi olarak hareket etmeyi tercih ettiklerini

açıkça göstermektedir. Bu antioksidatif aktivitelerinin bir göstergesidir. Öte taraftan termodinamik olarak tercih edilen mekanizmayı tespit ederken hesaplanan IP ve BDE değerleri PA değerlerinden daha yüksek olduğundan termodinamik açıdan SPLET mekanizmasının gaz fazında en uygun prosesi temsil edildiği bulunmuştur. En düşük PA değerinin büyüklüğünden gaz fazında antioksidatif kapasite artışı sırayla theaflavin > striktinin > isoviteksin > gallokateşin > keampferitin şeklindedir. Gaz fazından etanol solventine geçişte PA'larda büyük azalma gözlenmesi SPLET'i HAT ve SET-PT'den daha uygun bir mekanizma haline getirir.



Şekil 3. İncelenen gallokateşin (1), isoviteksin (2), striktinin (3), keampferitin (4) ve theaflavin (5) bileşiklerinin HF/6-31++Gdp yöntemi ile gaz fazındaki HOMO-LUMO dağılımları, bandgap (ΔE) ve $E_{\text{HOMO}}-E_{\text{LUMO}}$ değerleri

Flavonoidler için yapılan bu çalışma polar çözücülerde SPLET mekanizmasının önemli bir rolü olduğunu doğrulamıştır. En düşük PA değerine bakılarak moleküllerin gaz fazında antioksidatif kapasitelerinin sıralaması isoviteksin > theaflavin > striktinin > gallokateşin > kaempferitin şeklindedir. PA değerine bakılarak gaz fazında en yüksek antioksidan özellik gösteren molekülün theaflavin olduğu söylenebilir.

SONUÇ

Bu çalışmada yeşil çayın içinde 5'ten fazla OH grubu içeren gallokateşin, theaflavin, isoviteksin, kaempferitin ve striktinin molekülleri gaz ve etanol fazlarında HAT, SET-PT ve SPLET olmak üzere üç ana antioksidasyon mekanizma incelenerek BDE, ETE, PA, ETE ve PDE değerleri ile DFT//M062X metodu ile incelemiştir. HAT mekanizması için gaz fazında BDE'ye göre antioksidan dizisi theaflavin > gallokateşin > striktinin > isoviteksin > kaempferitin iken etanol fazında ise theaflavin > striktinin > gallokateşin > isoviteksin > kaempferitin şeklindedir. SET-PT mekanizması için gaz fazında en düşük PDE'ye göre antioksidan kabiliyeti dizisi gallokateşin > kaempferitin > isoviteksin > striktinin > theaflavin şeklinde iken etanol fazında ise isoviteksin > striktinin

> gallokateşin > kaempferitin > theaflavin sırasındadır. SPLET mekanizmasından elde edilen PA değerleri incelendiğinde en yüksek antioksidan etki sıralaması theaflavin > striktinin > isoviteksin > gallokateşin > kaempferitin şeklindedir. Hesaplanan IP ve BDE değerleri PA değerlerinden daha yüksek olduğundan termodinamik açıdan SPLET mekanizmasının gaz fazında en uygun prosesi temsil edildiği bulunmuştur. Polar faz yüklü türlerin entalpilerinde önemli değişiklikler meydana getirmekte olup bunlar baskın olarak SET-PT ve SPLET'i, özellikle de PA değerlerini etkilemişlerdir. Bu çalışmada gaz fazında SPLET mekanizması etanol fazında ise SET-PT mekanizması tercih edilir. Antioksidan aktivite sırası gaz fazında gallokateşin > kaempferitin > isoviteksin > striktinin > theaflavin şeklinde iken etanol fazında ise isoviteksin > striktinin > gallokateşin > kaempferitin > theaflavin sıralamasındadır. HOMO-LUMO enerjileri arasındaki fark ΔE enerjisinin küçük olması reaktantların etkileşimini ve reaksiyon kolaylığını tanımlar ve bu enerjinin en düşük olduğu theaflavin (0.1249 eV) molekülü için daha antioksidan karakter taşımaktadır. Bu çalışmalar isoviteksin, theaflavin, striktinin, gallokateşin, kaempferitin moleküllerinin gaz ve etanol fazlarındaki antioksidatif kapasitesine dair bilgi edinmemizi sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- ACD/Chemsketch, 2017, Version 2.1, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada.
- Al-Majedy Y K, Al-Amiry A A, Kadhum A A H, Mohamad A B, 2016. Antioxidant Activities of 4-Methylumbelliferone Derivatives, PLoS One. 2016; 11(5), e0156625
- Axel DB, 1993. A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories. The Journal of Chemical Physics, 98, 1372.
- Benzie IF, Strain JJ, 1999. Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration. Methods in Enzymology. 299, 15-27.
- Berlett BS, Stadtman ER, 1997. Protein Oxidation in Aging, Disease and Oxidative Stress. The Journal of Biological Chemistry, 272 (33): 20313-6.
- Bo Zhou, Li Yang, Zhong-Li Liu, 2004. Striktinin as An Efficient Antioxidant in Lipid Peroxidation. Chemistry and Physics of Lipids, 131(1):15-25.
- Bruno RS, Leonard SW, Atkinson J, Montine TJ, Ramakrishnan R, Bray TM, Traber MG, 2006. Faster Plasma Vitamin E Disappearance in Smokers is Normalized by Vitamin C Supplementation. Free Radical Biology and Medicine, 40(4):689-97.
- Chung MY, Park HJ, Manautou JE, Koo SI, 2012. Green Tea Extract Protects Against Nonalcoholic Steatohepatitis in Ob/Ob Mice by Decreasing Oxidative and Nitritive Stress Responses Induced by Proinflammatory Enzymes. The Journal of Nutritional Biochemistry, 23 (4): 361-7.
- Crespy V, Williamson G, 2004. A Review of the Health Effects of Green Tea Catechins in Vivo Animal Models. The Journal of Nutrition. 134 (12): 3431-3440.
- De Souza GLC, De Oliveira LMF, Vicari RG, Brown A, 2016. DFT investigation on the structural and antioxidant properties of new isolated interglycosidic O-(1→3) linkage flavonols, Journal of Molecular Modelling, 22:100
- Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, 1992-2016, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture.

- Frisch MJ, "Gaussian 09", Gaussian, Inc, 2009. Version 6.
- GaussView, Version 5, Dennington R, Keith T, Millam J, 2009. Semichem Inc., Shawnee Mission KS.
- Guo Q, Zhao B, Shen S, Hou J, Hu J, Xin W, 1999. ESR Study on the Structure-Antioxidant Activity Relationship of Tea Catechins and Their Epimers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1427 (1): 13-23.
- He M, Min JW, Kong WL, He XH, Li JX, Peng BW, 2016. A Review on the Pharmacological Effects of Vitexin and Isovitexin. *Fitoterapia*, 115: 74-85.
- Hehre WJ, 2003. A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations, Wavefunction, Inc., Irvine, CA.
- Higdon JV, Frei B, 2003. Tea Catechins and Polyphenols: Health Effects, Metabolism and Antioxidant Functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1):89-143.
- Hirofumi T, Takao K, Toshio M, Sousuke T, Miki Y, Mitsuaki S, Mari YM, Koji Y, 2001. Identification of An Inhibitor for Interleukin 4-Induced E Germline Transcription and Antigen-Specific Ige Production in Vivo. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, No: 280, 53-60.
- Ji L, Zeng QX, Wei ML, Jin LW, Zhong QY, 2006. Koopmans Theorem for Large Molecular Systems within Density Functional Theory. *The Journal of Physical Chemistry*, 110 (43): 12005-12009.
- Krzysztof B, 2005. Free radicals in chemistry, biology and medicine: contribution of radiation chemistry. *Nukleonika*, 50 (3): 67-76.
- Lee C, Yang W, Parr RG, 1988. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 37: 785-789.
- Lu L, Qiang M, Li F, Zhang H, Zhang S, 2014. Theoretical Investigation on the Antioxidative Activity of Anthocyanidins: A DFT/B3LYP Study. *Dyes And Pigments*, 103: 175-182.
- Manzocco L, Anese M, Nicoli MC, 1998. Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processing. *Lebensmittel-Wissenschaft Und -Technologie* 31: 694-698.
- Nenadis N, Sigalas MP, 2011. A DFT Study on the Radical Scavenging Potential of Selected Natural 3',4'-Dihydroxy Aurones. *Food Research International*, 44 (1): 114-120.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z, 2015. Oksidatif Stres ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3): 331-336.
- Praveena R, Sadasivam K, Kumaresan R, Deepa V, Sivakumar R, 2013. Experimental and DFT studies on the antioxidant activity of a C-glycoside from *Rhynchosia capitata* *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 10: 442-452.
- Reed DJ, 1995. Toxicity of Oxygen In Molecular And Cellular Mechanisms of Toxicity. CRC Press, pp. 35-68, Boca Raton- USA.
- Sadasivam K, Kumaresan R, 2011. Theoretical investigation on the antioxidant behavior of chrysoeriol and hispidulin flavonoid compounds – A DFT study. *Computational and Theoretical Chemistry*, 963: 227-235.
- Saqib M, I Shahid, M Asif, and A Raheel, 2016. Theoretical Investigation for Exploring the Antioxidant Potential of Chlorogenic Acid: A Density Functional Theory Study, *International Journal of Food Properties*, 19:745-751.
- Stangl V, Lorenz M, Stangl K, 2006. The Role of Tea and Tea Flavonoids in Cardiovascular Health. *Molecular Nutrition Food Research*, No: 50., 218-228.
- Stewart JJP, 2008. *J Mol Model*. 14 (6): 499-535; Stewart JJP, 2009. *J. Mol. Model*. 15: 765-805
- Şahin DY, Elbasan Z, Gür M, Türkoğlu C, Özaltun B, Sümbül Z, Çaylı M, 2012. Relationship Between Oxidative Stress Markers and Cardiac Syndrome. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 3 (2): 174-180.
- Urbaniak A, Molski M, Szelag M, 2012. Quantum-Chemical Calculations of the Antioxidant Properties of Trans-P-Coumaric Acid and Trans-Sinapinic Acid. *Computational Methods in Science And Technology*, 18 (2): 117-128.
- Valcic S, Timmermann BN, Alberts DS, Wächter GA, Krutzsch M, Wymer J, Guillén JM, 1996. Inhibitory Effect of Six Green Tea Catechins And Caffeine on the Growth of Four Selected Human Tumor Cell Lines. *Anti-Cancer Drugs*, 7 (4): 461-468.
- Vleeschouwer F, Van Speybroeck V, Waroquier M, Geerlings P, Proft F, 2007. Electrophilicity and Nucleophilicity Index for Radicals. *Organic Letters*, 14, 2721-2724.
- Younes M, 1999. Free Radicals and Reactive Oxygen Species, in Toxicology, 'By H. Marguardt, Mechanisms of Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Lipoic Acid in the Diabetic and Nondiabetic Kidney'. *Kidney International*, 67 (4): 1371 - 1380.
- Zheng YZ, Deng G, Liang Q, Chen DF, Guo R, Lai RC, 2017. Antioxidant Activity of Quercetin and Its Glucosides From Propolis: A Theoretical Study. *Scientific Reports*, 7(1): 7543.
- Zhishen, J, Mengcheng T, Jianming W, 1999. The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals *Food Chemistry*. 64: 555-559.
- Zhou B, Pan J, Dai F, Zhao CY, Zhang LP, Wei QY, Yang L, Zheng RL, Liu ZL, 2004. Redifferentiation of Human Hepatoma Cells Induced by Green Tea Polyphenols. *Research on Chemical Intermediates*, 30:627-636.