

TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA AKADEMİK TARTIŞMALAR

Editör: Doç.Dr. Meltem ARIKAN MALKOÇ

yaz
yayınları

Tıbbi Biyokimya Alanında Akademik Tartışmalar

Editör

Doç.Dr. Meltem ARIKAN MALKOÇ

yaz
yayınları

2026

Tıbbi Biyokimya Alanında Akademik Tartışmalar

Editör: Doç.Dr. Meltem ARIKAN MALKOÇ

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-8996-99-9

Haziran 2026 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

İÇİNDEKİLER

Lipoproteinler ve Oksidatif Stres	1
<i>Naime ÇELİK</i>	
Propolisin Oksidatif Stres Endoplazmik Retikulum Stresi ve Hücre Ölüm Mekanizmaları Üzerine Etkileri	21
<i>Meltem ARIKAN MALKOÇ</i>	
Isabella Üzümünün Fenolik Bileşimi	44
<i>Zeynep Berin ÇELEBİ, Erol TUNCA</i>	
Bitkisel Kaynaklı Fenolik Bileşenlerin HPLC Analiz Metotları	61
<i>Erol TUNCA, Zeynep Berin ÇELEBİ</i>	
Phenethylisothiocyanate: A Phytochemical Agent Against Cancer Chemoprevention.....	82
<i>Ayşe Burçin UYUMLU</i>	

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

LİPOPROTEİNLER VE OKSİDATİF STRES

Naime ÇELİK¹

1. GİRİŞ

Oksidatif stres, hücresel düzeyde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkan bir durumdur. Bu dengesizlik, lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin oksidatif hasarına yol açarak çeşitli patolojik süreçleri başlatır. Aerobik metabolizma sırasında doğal olarak oluşan ROS, fizyolojik konsantrasyonlarda hücresel sinyal iletiminde önemli roller üstlense de, aşırı üretimi veya yetersiz temizlenmesi durumunda doku hasarına neden olur (Jialal & Devaraj, 1996; Parthasarathy & Santanam, 1994).

Kardiyovasküler hastalıklar bağlamında, oksidatif stres ateroskleroz gelişiminin temel mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir. Özellikle, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) parçacıklarının oksidatif modifikasyonu, aterogenezin erken aşamalarında kritik bir olay olarak tanımlanmıştır. Yüksek LDL kolesterol (LDL-C) seviyelerinin kardiyovasküler hastalık riskini artırdığı iyi bilinmekle birlikte, sadece LDL-C düşürmenin aterosklerotik hastalık ilerlemesini tamamen durduramayabileceği gözlemlenmiştir. İnflamasyon durumu ve oksidatif stres, LDL-C hedef seviyelerine ulaşılsa bile hastalık ilerlemesine ve kardiyovasküler olaylara katkıda bulunabilmektedir (Jialal & Devaraj, 1996).

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, ORCID: 0000-0001-9814-0359.

2. LİPOPROTEİN YAPISI VE METABOLİZMASI

2.1. Lipoprotein Sınıfları ve Yapısal Özellikleri

Lipoproteinler, hidrofobik lipidlerin (trigliseridler ve kolesterol esterleri) kan dolaşımında taşınmasını sağlayan kompleks makromoleküler yapılardır. Yoğunluklarına göre sınıflandırılan başlıca lipoprotein türleri şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL), orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinlerdir (HDL). Her lipoprotein sınıfı, hidrofobik bir çekirdek ve bu çekirdeği çevreleyen apolipoproteinler, fosfolipidler ve serbest kolesterolden oluşan amfipatik bir yüzey tabakasından oluşur (Qiao, Zou, & Guo, 2022).

LDL parçacıkları, yaklaşık 22 nm çapında olup, her bir parçacık yaklaşık 1500 kolesterol esteri molekülü, 600 fosfolipid molekülü ve bir apolipoprotein B-100 (apoB-100) molekülü içerir. ApoB-100, LDL reseptörü ile etkileşimi sağlayan ve parçacığın yapısal bütünlüğünü koruyan temel proteindir. LDL'nin primer fizyolojik fonksiyonu, kolesterolü periferik dokulara taşımaktır. Ancak, LDL parçacıklarının oksidatif modifikasyona karşı duyarlılığı, onları ateroskleroz patogenezinde merkezi bir oyuncu haline getirmektedir (Qiao et al., 2022; Maiolino, Rossitto, Caielli, Bisogni, Rossi, & Calò, 2013).

HDL parçacıkları ise ters kolesterol taşınmasında kritik rol oynar ve periferik dokulardan karaciğere kolesterol taşınmasını sağlar. HDL'nin antiaterojenik özellikleri, sadece kolesterol taşınması ile sınırlı değildir; aynı zamanda antioksidan, antiinflamatuvar ve endotel koruyucu etkilere sahiptir. HDL ile ilişkili enzimler, özellikle paraoksonaz-1 (PON1), LDL ve HDL'nin oksidatif modifikasyonuna karşı

koruma sağlar (Aviram, Kaplan, Rosenblat, & Fuhrman, 2005; Ahmadi, Jamialahmadi, & Sahebkar, 2022).

2.2. Lipoproteinlerin Oksidasyona Duyarlılığı

Lipoprotein parçacıklarının oksidasyona duyarlılığı, bileşimlerine ve yapısal özelliklerine bağlı olarak değişir. LDL parçacıkları, yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içermeleri nedeniyle özellikle oksidatif hasara karşı duyarlıdır. Lipid peroksidasyonu, PUFA'ların bis-allilik hidrojen atomlarının serbest radikaller tarafından çekilmesiyle başlar ve bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Bu süreç, lipid hidroperoksitler, aldehitler, ketonlar ve diğer reaktif ürünlerin oluşumuna yol açar (Parthasarathy & Santanam, 1994; Niki & Noguchi, 1997).

LDL parçacıklarının oksidasyona karşı duyarlılığını etkileyen faktörler arasında parçacık boyutu, yoğunluğu, lipid kompozisyonu ve antioksidan içeriği yer alır. Küçük, yoğun LDL parçacıkları, büyük, düşük yoğunluklu parçacıklara kıyasla daha fazla oksidasyona duyarlıdır. Bu parçacıklar, daha az vitamin E içerir ve daha uzun plazma yarı ömrüne sahiptir, bu da onları oksidatif saldırıya karşı daha savunmasız hale getirir (Qiao et al., 2022).

Lipoprotein oksidasyonu, sadece lipid bileşenlerini değil, aynı zamanda protein bileşenlerini de etkiler. ApoB-100'ün oksidatif modifikasyonu, lizin rezidülerinin reaktif aldehitlerle modifikasyonuna yol açar ve bu durum LDL reseptörü tarafından tanınmasını engeller. Bunun yerine, okside LDL (oxLDL), makrofajlar üzerindeki scavenger reseptörleri tarafından tanınır ve bu durum köpük hücrelerinin oluşumuna ve aterosklerotik plak gelişimine katkıda bulunur (Steinberg, 1993; Leiva, Wehinger, Guzmán, & Orrego, 2015).

3. LDL OKSİDASYONUNUN MOLEKÜLER MEKANİZMALARI

3.1. Hücresel Kaynaklar ve Reaktif Oksijen Türleri

LDL oksidasyonu, arteriyel duvarda bulunan çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen reaktif oksijen türleri aracılığıyla gerçekleşir. Endotel hücreleri, düz kas hücreleri, makrofajlar ve nötrofiller, ROS üretiminde rol oynayan başlıca hücresel kaynaklardır. Bu hücreler, NADPH oksidaz, miyeloperoksidaz, lipoksijenazlar ve nitrik oksit sentaz gibi enzimatik sistemler aracılığıyla süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve peroksinitrit gibi reaktif türler üretir (Parthasarathy & Santanam, 1994).

Makrofajlar, aterosklerotik lezyonlarda önemli bir ROS kaynağıdır. Aktive makrofajlar, fagositik NADPH oksidaz sistemi aracılığıyla büyük miktarlarda süperoksit üretir. Bu süperoksit, spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığıyla hidrojen peroksit'e dönüşebilir. Hidrojen peroksit, metal iyonlarının varlığında Fenton reaksiyonu yoluyla son derece reaktif hidroksil radikallerine dönüşebilir. Ayrıca, makrofajlar tarafından üretilen miyeloperoksidaz, hidrojen peroksit ve klorür iyonlarını kullanarak hipokloröz asit üretir; bu da LDL'nin oksidatif modifikasyonunda önemli bir rol oynar (Parthasarathy & Santanam, 1994; Napoli, 1997).

Endotel hücreleri ve düz kas hücreleri de ROS üretiminde önemli katkılarda bulunur. Endotel disfonksiyonu durumlarında, endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) "uncoupling" olarak adlandırılan bir süreçle nitrik oksit yerine süperoksit üretebilir. Süperoksit, nitrik oksit ile hızla reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturur; bu da hem güçlü bir oksidan hem de nitrozan ajanıdır. Peroksinitrit, lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif ve nitroksidatif modifikasyonuna yol açar (Parthasarathy & Santanam, 1994; Leiva et al, 2015).

3.2. Lipid Peroksidasyonu ve Oksidatif Ürünler

LDL oksidasyonunun kimyasal mekanizması, serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonu ile başlar. Bu süreç üç aşamada gerçekleşir: başlatma, yayılma ve sonlandırma. Başlatma aşamasında, bir serbest radikal (genellikle hidroksil radikali veya peroksinitrit) LDL parçacığındaki bir PUFA molekülünden bir hidrojen atomu çeker ve bir lipid radikali oluşturur. Bu lipid radikali, moleküler oksijen ile hızla reaksiyona girerek lipid peroksil radikali oluşturur (Niki & Noguchi, 1997).

Yayılma aşamasında, lipid peroksil radikali komşu bir PUFA molekülünden hidrojen atomu çekerek lipid hidroperoksit oluşturur ve yeni bir lipid radikali üretir. Bu zincir reaksiyonu, bir antioksidan tarafından durdurulana kadar devam eder. Lipid hidroperoksitler kararsız bileşiklerdir ve metal iyonlarının varlığında parçalanarak çeşitli sekonder ürünler oluşturur. Bu ürünler arasında malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE), F2-isoprostanlar, oksisteroller ve konjuge dienler bulunur (Aviram et al., 2005; Parthasarathy & Santanam, 1994; Niki & Noguchi, 1997).

F2-isoprostanlar, araşidonik asidin serbest radikal katalizli peroksidasyonundan kaynaklanan prostaglandin benzeri bileşiklerdir ve in vivo lipid peroksidasyonunun güvenilir biyobelirteçleri olarak kabul edilir. Oksisteroller, kolesterolün oksidatif modifikasyonundan kaynaklanan bileşiklerdir ve 7-ketokol, 7 α -hidroksikol ve 7 β -hidroksikol gibi çeşitli formları vardır. Bu oksisteroller, hücrel toksisiteye, apoptoza ve inflamatuvar yanıtlara katkıda bulunur (Aviram et al., 2005; Oguntibeju, Esterhuyse, & Truter, 2009).

4-HNE ve MDA gibi reaktif aldehytler, proteinlerle kovalent bağlar oluşturarak protein fonksiyonunu bozar. Özellikle, apoB-100'ün lizin rezidüleri bu aldehytlerle modifiye

olur ve bu durum LDL'nin immünojenik özellikler kazanmasına yol açar. Bu modifikasyonlar, oxLDL'ye karşı otoantikor oluşumunu tetikler ve aterosklerotik süreçte immün yanıtın aktivasyonuna katkıda bulunur (Jialal & Devaraj, 1996; Steinberg, 1993).

3.3. Oksidasyonun Kinetik Özellikleri

LDL oksidasyonunun kinetik özellikleri, in vitro çalışmalarda detaylı olarak karakterize edilmiştir. Tipik bir LDL oksidasyon eğrisi üç faz gösterir: lag fazı, yayılma fazı ve ayrışma fazı. Lag fazı, LDL parçacığındaki endojen antioksidanların (özellikle α -tokoferol) tüketildiği dönemdir. Bu fazın süresi, LDL'nin oksidatif direncinin bir göstergesi olarak kabul edilir. Lag fazı tükendiğinde, hızlı lipid peroksidasyonunun gerçekleştiği yayılma fazı başlar. Bu fazda, konjuge dien oluşumu hızla artar ve maksimum seviyeye ulaşır. Son olarak, ayrışma fazında lipid hidroperoksitler parçalanır ve sekonder oksidatif ürünler oluşur (Niki & Noguchi, 1997).

Antioksidanların LDL oksidasyonu üzerindeki etkisi, lag fazının uzatılması ve yayılma fazının yavaşlatılması şeklinde gözlemlenir. Vitamin E, karotenoidler ve polifenoller gibi lipofilik antioksidanlar, LDL parçacığına entegre olarak lag fazını uzatır. Askorbik asit gibi hidrofilik antioksidanlar ise, LDL yüzeyinde etki ederek ve tükenmiş vitamin E'yi rejenerasyona uğratarak koruma sağlar (Packer, 1997; Niki & Noguchi, 1997).

4. OKSİDATİF MODİFİKASYONUN HÜCRESEL VE MOLEKÜLER ETKİLERİ

4.1. Endotelyal Disfonksiyon ve Vasküler Etkileri

Okside LDL, endotel hücrelerinde çok sayıda zararlı etki oluşturarak endotelyal disfonksiyona yol açar. Endotelyal

disfonksiyon, aterosklerozun en erken belirtilerinden biridir ve nitrik oksit (NO) biyoyararlanımının azalması ile karakterizedir. OxLDL, eNOS ekspresyonunu ve aktivitesini baskılayarak NO üretimini azaltır. Ayrıca, oxLDL tarafından üretilen süperoksit, NO ile hızla reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturur ve bu durum NO'nun vazodilatör etkilerini ortadan kaldırır (Jialal & Devaraj, 1996; Leiva et al, 2015).

OxLDL'nin endotel hücreleri üzerindeki diğer etkileri arasında hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunun artması yer alır. Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonu, oxLDL tarafından uyarılır. Bu moleküller, monositlerin ve diğer lökositlerin endotele yapışmasını ve subendotelyal alana göç etmesini kolaylaştırır. Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi kemotaktik faktörlerin üretimi de oxLDL tarafından artırılır ve bu durum inflammatuar hücrelerin aterosklerotik lezyonlara alınmasını teşvik eder (Jialal & Devaraj, 1996; Leiva et al, 2015).

4.2. İnflammatuar Yanıt ve Sinyal İletimi

OxLDL, güçlü bir proinflammatuar uyaran olarak işlev görür ve çeşitli sinyal iletim yollarını aktive eder. Nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) ve aktivatör protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, oxLDL'nin temel etki mekanizmalarından biridir. Bu transkripsiyon faktörleri, inflammatuar sitokinler, kemokinler ve adezyon moleküllerinin gen ekspresyonunu düzenler (Jialal & Devaraj, 1996; Leiva et al, 2015).

OxLDL, makrofajlar tarafından tanındığında, toll-benzeri reseptörler (TLR) ve scavenger reseptörleri aracılığıyla sinyal iletimini başlatır. CD36, SR-A ve LOX-1 gibi scavenger reseptörleri, oxLDL'yi tanır ve hücre içine alır. Bu süreç, makrofajların lipid yüklü köpük hücrelerine dönüşmesine yol

açar. Köpük hücreleri, aterosklerotik plakların temel bileşenleridir ve inflamatuvar mediyatörlerin, matriks metalloproteinazların ve diğer doku yıkım faktörlerinin üretiminde rol oynar (Leiva et al, 2015; Maiolino et al., 2013).

OxLDL ayrıca, reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak oksidatif stresi daha da şiddetlendirir. Bu pozitif geri besleme döngüsü, aterosklerotik lezyonlarda kronik inflamasyonun sürdürülmesine katkıda bulunur. İnflamatuvar sitokinler olan interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), oxLDL tarafından uyarılır ve sistemik inflamatuvar yanıtı güçlendirir (Leiva et al, 2015; Maiolino et al., 2013).

4.3. İmmünolojik Boyut ve Otoantikör Oluşumu

OxLDL'nin oksidatif modifikasyonu, yeni epitopların oluşumuna yol açar ve bu epitoplar immün sistem tarafından yabancı olarak tanınır. Oksidasyon-özümlenen epitoplar (OSE), özellikle malondialdehit ve 4-HNE gibi reaktif aldehitlerin apoB-100 ile oluşturduğu adduktlar, immünojenik özelliklere sahiptir. Bu epitoplara karşı hem doğal hem de adaptif immün yanıtlar gelişir (Jialal & Devaraj, 1996; Steinberg, 1993).

OxLDL'ye karşı oluşan otoantikörler, in vivo LDL oksidasyonunun varlığını gösteren biyobelirteçler olarak kullanılmıştır. Bu antikörler, aterosklerotik hastalığı olan bireylerde yüksek seviyelerde bulunur ve kardiyovasküler olay riskiyle ilişkilendirilmiştir. Bazı çalışmalar, bu antikörlerin koruyucu bir rol oynayabileceğini ve oxLDL'yi nötralize ederek ateroskleroz gelişimini yavaşlatabileceğini öne sürmüştür. Ancak, diğer çalışmalar antikörlerin proinflamatuvar etkilere sahip olabileceğini ve hastalık ilerlemesine katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Jialal & Devaraj, 1996; Trpkovic, Resanovic, Stanimirovic, Radak, Mousa, Cenic-Milosevic, Jevremovic, & Isenovic, 2015).

İmmün komplekslerin oluşumu, oxLDL ve antikorların etkileşimi sonucu gerçekleşir ve bu kompleksler kompleman sistemini aktive ederek inflamasyonu daha da artırır. Ayrıca, T hücreleri de aterosklerotik süreçte rol oynar ve oxLDL epitoplarına karşı hücrel immün yanıtlar geliştirir. Bu immünolojik mekanizmalar, aterosklerozun sadece bir lipid depolama hastalığı değil, aynı zamanda kronik bir inflamatuar ve immün-aracılı hastalık olduğunu vurgular (Leiva et al, 2015; Maiolino et al., 2013).

5. ENDOJEN ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

5.1. Paraoksonazlar: Yapı, Fonksiyon ve Koruyucu Mekanizmalar

Paraoksonaz ailesi, HDL ile ilişkili enzimlerden oluşur ve üç üyeye sahiptir: PON1, PON2 ve PON3. Bu enzimler, lipid peroksitlerin hidrolizinde rol oynar ve lipoproteinleri oksidatif hasardan korur. PON1, karaciğerde sentezlenir ve plazmada HDL partikülleri ile ilişkili olarak bulunur. PON1'in temel fonksiyonu, organofosfor bileşiklerin hidrolizi olmasına rağmen, lipid peroksitleri ve laktonları da substrat olarak kullanabilir (Aviram et al., 2005; Ahmadi et al., 2022).

PON1, LDL ve HDL'deki lipid hidroperoksitleri hidrolize ederek bu partiküllerin oksidatif modifikasyonunu önler. In vitro çalışmalar, PON1'in LDL oksidasyonunun lag fazını uzattığını ve konjuge dien oluşumunu azalttığını göstermiştir. PON1 aktivitesi, genetik polimorfizmler, diyet faktörleri ve çeşitli hastalık durumları tarafından etkilenir. PON1 Q192R polimorfizmi, enzim aktivitesini ve substrat spesifitesini etkiler ve kardiyovasküler hastalık riskiyle ilişkilendirilmiştir (Aviram et al., 2005; Ahmadi et al., 2022).

PON2, ubikiter olarak eksprese edilir ve hücre membranlarında lokalize olur. PON2, hücre içi oksidatif stresi azaltır ve mitokondriyal fonksiyonu korur. PON2'nin antioksidan etkileri, süperoksit üretiminin azaltılması ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonu yoluyla gerçekleşir. PON3 de HDL ile ilişkilidir ve PON1'e benzer antioksidan özellikler gösterir. PON3, HDL'nin antioksidan kapasitesine katkıda bulunur ve LDL oksidasyonunu önler (Aviram et al., 2005; Ahmadi et al., 2022).

Diyet polifenolleri, özellikle nar suyu ve kırmızı şarap polifenolleri, PON1 aktivitesini artırabilir ve enzimi oksidatif inaktivasyondan koruyabilir. Hayvan çalışmaları, polifenol takviyesinin serum PON1 aktivitesini artırdığını, makrofaj kolesterol birikimini azalttığını ve ateroskleroz gelişimini yavaşlattığını göstermiştir. Bu bulgular, PON enzimlerinin ateroskleroz önlemede önemli bir terapötik hedef olabileceğini düşündürmektedir (Aviram et al., 2005; Ahmadi et al., 2022).

5.2. Diğer Enzimatik Antioksidan Sistemler

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), hücresel antioksidan savunmanın temel enzimleridir. SOD, süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür. İnsan dokularında üç SOD izoformu bulunur: sitoplazmik Cu/Zn-SOD (SOD1), mitokondriyal Mn-SOD (SOD2) ve hücre dışı SOD (SOD3). SOD3, vasküler dokuda yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve endotel koruyucu etkiler gösterir (Parthasarathy & Santanam, 1994).

Katalaz, hidrojen peroksidin suya ve oksijene dönüşümünü katalize eder ve peroksizomlar ile sitoplazmada lokalize olur. Glutatyon peroksidaz ailesi, hidrojen peroksit ve lipid hidroperoksitlerin indirgenmesinde glutatyonu (GSH) kullanır. GPx1, sitoplazmik izoformdur ve yaygın olarak eksprese edilir. GPx4, lipid hidroperoksitleri doğrudan membran

içinde indirgeyebilir ve ferroptoz olarak bilinen bir hücre ölümü formunun önlenmesinde kritik rol oynar (Parthasarathy & Santanam, 1994).

Glutasyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, glutasyon sisteminin işlevselliğini sürdürmek için gerekli olan enzimlerdir. Glutasyon redüktaz, okside glutasyonu (GSSG) indirgenmiş forma (GSH) dönüştürür ve NADPH kullanır. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, pentoz fosfat yolunun ilk enzimi olup NADPH üretir ve bu da glutasyon sisteminin ve diğer antioksidan enzimlerin fonksiyonu için esansiyeldir (Parthasarathy & Santanam, 1994).

Tiyoredoksin sistemi, tiyoredoksin, tiyoredoksin redüktaz ve NADPH'den oluşur ve protein disülfid bağlarının indirgenmesinde rol oynar. Bu sistem, oksidatif stres altında protein fonksiyonunun korunmasına katkıda bulunur ve hücresel redoks homeostazının düzenlenmesinde önemlidir. Peroksiredoksinler, tiyoredoksin sistemi ile birlikte çalışarak hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitleri indirger (Parthasarathy & Santanam, 1994).

5.3. Lipoproteinlerdeki Endojen Antioksidanlar

LDL partikülleri, α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, ubiquinol-10 ve likopen gibi lipofilik antioksidanlar içerir. α -Tokoferol, LDL'deki en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve lipid peroksil radikallerini yakalayarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu sonlandırır. Her LDL partikülü yaklaşık 6-12 α -tokoferol molekülü içerir ve bu moleküller lag fazının süresini belirlemede kritik rol oynar (Packer, 1997; Niki & Noguchi, 1997).

Ubiquinol-10 (koenzim Q10'un indirgenmiş formu), LDL'de bulunan bir diğer önemli antioksidandır. Ubiquinol, α -tokoferol ile sinerjistik olarak çalışır ve tükenmiş α -tokoferol radikallerini rejenerasyona uğratabilir. Karotenoidler, özellikle

β -karoten ve likopen, singlet oksijen ve peroksil radikallerini yakalama kapasitesine sahiptir. Ancak, karotenoidlerin LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkileri, konsantrasyonlarına ve oksidatif stres derecesine bağlı olarak değişebilir (Parthasarathy & Santanam, 1994; Oguntibeju et al., 2009).

HDL partikülleri, apolipoprotein A-I (apoA-I), PON1, platelet-aktif edici faktör asetilhidrolaz (PAF-AH) ve lesitin-kolesterol asiltransferaz (LCAT) gibi antioksidan proteinler içerir. ApoA-I, lipid hidroperoksitleri bağlayabilir ve onların toksik etkilerini azaltabilir. LCAT, serbest kolesterolü esterleştirirken oluşan lipid hidroperoksitleri indirgeyebilir. Bu proteinler, HDL'nin antioksidan kapasitesine katkıda bulunur ve LDL'yi oksidatif modifikasyondan korur (Aviram et al., 2005; Ahmadi et al., 2022).

6. DİYET VE FARMAKOLOJİK ANTIOKSIDANLAR

6.1. Vitamin E ve Diğer Lipofilik Vitaminler

Vitamin E, sekiz farklı formdan (dört tokoferol ve dört tokotrienol) oluşan lipofilik vitaminler ailesidir. α -Tokoferol, biyolojik olarak en aktif form olup, insan dokularında ve lipoproteinlerde baskın formdur. Vitamin E'nin temel antioksidan mekanizması, lipid peroksil radikallerini yakalayıp lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu kesmektir. Bu süreçte, α -tokoferol bir tokoferoksil radikaline dönüşür ve bu radikal, askorbik asit veya diğer antioksidanlar tarafından rejenerasyona uğratılabilir (Niki & Noguchi, 1997; Packer, 1997).

In vitro çalışmalar, vitamin E takviyesinin LDL'nin oksidatif direncini artırdığını ve lag fazını uzattığını tutarlı bir şekilde göstermiştir. Vitamin E ile zenginleştirilmiş LDL

partikülleri, bakır iyonları veya makrofajlar tarafından indüklenen oksidasyona karşı daha dirençlidir. Ayrıca, vitamin E, endotel fonksiyonunu iyileştirebilir, inflamatuvar yanıtları azaltabilir ve trombosit agregasyonunu inhibe edebilir (Packer, 1997; Gaziano ve Hennekens, 1992).

Vitamin A ve karotenoidler, retinoidler ve karotenoidler olarak iki ana gruba ayrılır. β -Karoten, α -karoten, likopen, lutein ve zeaksantin, diyetle yaygın olarak bulunan karotenoidlerdir. Karotenoidler, singlet oksijen söndürme ve peroksil radikali yakalama kapasitesine sahiptir. Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek karotenoid alımının kardiyovasküler hastalık riskinin azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak, β -karoten takviyesinin klinik faydaları tartışmalıdır ve bazı çalışmalar olumsuz etkiler bildirmiştir (Parthasarathy & Santanam, 1994; Oguntibeju et al., 2009; Gaziano ve Hennekens, 1992).

6.2. Vitamin C ve Hidrofilik Antioksidanlar

Askorbik asit (vitamin C), suda çözünen güçlü bir antioksidandır ve plazma ve hücre dışı sıvılarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Vitamin C, çeşitli serbest radikalleri doğrudan yakalayabilir ve tükenmiş α -tokoferol radikallerini rejenerasyona uğratarak vitamin E'nin antioksidan kapasitesini geri kazandırabilir. Bu sinerjistik etkileşim, lipoproteinlerin oksidatif korunmasında önemli bir rol oynar (Packer, 1997).

Vitamin C, LDL oksidasyonunu önlemede çift yönlü bir etki gösterir. Bir yandan, LDL yüzeyinde etki ederek lipid peroksidasyonunu başlatabilecek serbest radikalleri yakalayabilir. Öte yandan, metal iyonlarının varlığında pro-oksidan etki gösterebilir ve Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikali oluşumunu katalize edebilir. Bu nedenle, vitamin C'nin antioksidan veya pro-oksidan etkisi, ortamın redoks durumuna ve metal iyonu konsantrasyonuna bağlıdır (Packer, 1997).

Glutasyon, hücre içi en bol bulunan tiyol antioksidanıdır ve hücrel redoks homeostazının sürdürülmesinde merkezi bir rol oynar. Glutasyon, doğrudan serbest radikalleri yakalayabilir, glutasyon peroksidaz için substrat olarak işlev görebilir ve protein tiyol gruplarının indirgenmesinde rol oynayabilir. Plazma glutasyon seviyeleri, hücre içi seviyelerden çok daha düşüktür, ancak hücre dışı antioksidan savunmaya katkıda bulunur (Parthasarathy & Santanam, 1994).

6.3. Polifenoller ve Bitkisel Antioksidanlar

Polifenoller, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve çeşitli sağlık faydaları ile ilişkilendirilen fenolik bileşikler ailesidir. Flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler ve lignanlar, başlıca polifenol sınıflarıdır. Flavonoidler, flavonlar, flavonoller, flavononlar, flavanonlar, izoflavonlar ve antosiyaninler olarak alt sınıflara ayrılır. Kateşinler, kuersetin, resveratrol ve kurkumin, iyi çalışılmış polifenoller arasındadır (Ahmadi et al., 2022).

Polifenollerin antioksidan mekanizmaları çok yönlüdür. Doğrudan serbest radikal yakalama, metal şelasyonu, antioksidan enzimlerin aktivasyonu ve prooksidan enzimlerin inhibisyonu, polifenollerin temel etki mekanizmalarıdır. Polifenoller, LDL partikülleri ile etkileşime girerek onları oksidatif modifikasyondan koruyabilir. In vitro çalışmalar, çeşitli polifenollerin LDL oksidasyonunu inhibe ettiğini ve lag fazını uzattığını göstermiştir (Ahmadi et al., 2022.; Zhang, Li, Chen, Xu, Feng, & Zhang, 2021)

Nar suyu, yüksek konsantrasyonda polifenoller içerir ve güçlü antioksidan aktivite gösterir. Hayvan çalışmaları, nar suyu takviyesinin ateroskleroz gelişimini azalttığını, makrofaj kolesterol birikimini inhibe ettiğini ve PON1 aktivitesini artırdığını göstermiştir. İnsan çalışmalarında, nar suyu tüketiminin serum lipid profilini iyileştirdiği, sistolik kan

basıncını düşürdüğü ve endotel fonksiyonunu iyileştirdiği bildirilmiştir (Aviram et al., 2005; Ahmadi et al., 2022).

Yeşil çay kateşinleri, özellikle epigallokateşin gallat (EGCG), güçlü antioksidan özellikler gösterir. EGCG, LDL oksidasyonunu inhibe eder, makrofaj köpük hücresi oluşumunu azaltır ve antiinflamatuvar etkiler gösterir. Klinik çalışmalar, yeşil çay tüketiminin kardiyovasküler hastalık riskini azaltabileceğini öne sürmüştür, ancak sonuçlar tutarsızdır (Ahmadi et al., 2022; Zhang et al., 2021).

Resveratrol, kırmızı üzüm ve şarapta bulunan bir stilben polimeridir ve "Fransız paradoksu"nın açıklanmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Resveratrol, antioksidan, antiinflamatuvar ve antiaterojenik etkiler gösterir. Resveratrol, sirtuin-1 (SIRT1) aktivasyonu yoluyla mitokondriyal fonksiyonu iyileştirebilir ve hücrel stres yanıtlarını düzenleyebilir. Ancak, resveratrolün düşük biyoyararlanımı, klinik etkinliğini sınırlayabilir (Ahmadi et al., 2022).

6.4. Antioksidan Etkileşimleri ve Sinerjizm

Antioksidanlar, izole olarak değil, karmaşık bir ağ içinde işlev görür. Antioksidan ağ kavramı, farklı antioksidanların birbirlerini rejenerasyona uğrattığı ve sinerjistik koruma sağladığı bir sistem olarak tanımlanır. Vitamin E ve vitamin C arasındaki etkileşim, bu ağın klasik bir örneğidir. Tokoferoksil radikali, askorbik asit tarafından indirgenerek α -tokoferole geri dönüştürülür ve bu süreç vitamin E'nin antioksidan kapasitesini yeniler (Packer, 1997).

Tiyol antioksidanlar, özellikle indirgenmiş glutatyon ve dihidrolipoik asit, vitamin C'yi rejenerasyona uğratabilir ve dolaylı olarak vitamin E'nin rejenerasyonuna katkıda bulunabilir. Dihidrolipoik asit, hem lipofilik hem de hidrofilik ortamlarda etki edebilen amfifilik bir antioksidandır ve vitamin C ve E'yi rejenerasyona uğratabilir. Ayrıca, dihidrolipoik asit

metal şelasyon özelliklerine sahiptir ve Fenton reaksiyonunu inhibe edebilir (Packer, 1997).

Enzimatik antioksidan sistemler, düşük molekül ağırlıklı antioksidanlarla etkileşime girerek kapsamlı koruma sağlar. Örneğin, glutatyon peroksidaz, lipid hidroperoksitleri indirgerken glutatyonu kullanır ve okside glutatyon, glutatyon redüktaz tarafından rejenerasyona uğratılır. Bu döngü, NADPH gerektirir ve bu da pentoz fosfat yolu tarafından sağlanır. Bu karmaşık etkileşimler, antioksidan savunmanın etkinliğini artırır ve oksidatif hasara karşı çok katmanlı koruma sağlar (Ahmadi et al., 2022; Packer, 1997).

7. SONUÇ VE KLİNİK ÇIKARIMLAR

Lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonu, özellikle LDL oksidasyonu, ateroskleroz patogeneğinde merkezi bir rol oynamaktadır. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ve antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliği sonucu ortaya çıkar ve vasküler hasara, endotelial disfonksiyona, inflamasyona ve aterosklerotik plak gelişimine yol açar.

Antioksidan savunma sistemleri, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan bileşenlerden oluşan karmaşık bir ağ oluşturur. Paraoksonazlar, özellikle HDL ile ilişkili PON1, lipoproteinlerin oksidatif korunmasında kritik bir rol oynar. Diyet kaynaklı antioksidanlar, vitamin E, vitamin C, karotenoidler ve polifenoller, LDL oksidasyonunu önlemede ve ateroskleroz riskini azaltmada potansiyel faydalar sunar. Preklinik çalışmalar, bu antioksidanların güçlü koruyucu etkilerini tutarlı bir şekilde göstermiştir.

Ancak, klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar karmaşık ve bazen çelişkilidir. Gözlemsel epidemiyolojik çalışmalar, yüksek antioksidan alımının kardiyovasküler hastalık

riskini azalttığını gösterirken, randomize kontrollü çalışmalar genellikle antioksidan takviyelerinin kardiyovasküler olayları önlemede etkisiz olduğunu bildirmiştir. Bu tutarsızlık, çalışma popülasyonlarının özellikleri, müdahale zamanlaması, antioksidan dozları ve formları, ve oksidatif stresin değerlendirilmesi gibi çeşitli faktörlerle açıklanabilir.

Gelecekteki araştırmalar, daha hedeflenmiş antioksidan stratejilerin geliştirilmesine, spesifik oksidatif yolların tanımlanmasına ve kişiselleştirilmiş yaklaşımların uygulanmasına odaklanmalıdır. Oksidatif stres biyobelirteçlerinin kullanımı, yüksek riskli bireylerin belirlenmesine ve antioksidan müdahalelerin etkinliğinin izlenmesine yardımcı olabilir. Diyet paternleri, yaşam tarzı modifikasyonları ve farmakolojik müdahaleler, oksidatif stresi azaltmak ve kardiyovasküler sağlığı iyileştirmek için entegre edilmelidir.

Sonuç olarak, lipoprotein oksidasyonu ve antioksidan savunma alanındaki mevcut bilimsel anlayış, ateroskleroz patogenezinin karmaşıklığını ve çok faktörlü doğasını vurgulamaktadır. Oksidatif stresin azaltılması, kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli bir hedef olmaya devam etmektedir, ancak etkili stratejilerin geliştirilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Klinik uygulama açısından, antioksidan açısından zengin dengeli bir diyet, düzenli fiziksel aktivite ve risk faktörlerinin yönetimi, kardiyovasküler sağlığın korunmasında temel yaklaşımlar olarak kalmalıdır.

KAYNAKÇA

- Ahmadi, A., Jamialahmadi, T., & Sahebkar, A. (2022). Polyphenols and atherosclerosis: A critical review of clinical effects on LDL oxidation. *Pharmacological Research*, 184, 106414. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106414>
- Aviram, M., Kaplan, M., Rosenblat, M., & Fuhrman, B. (2005). Dietary antioxidants and paraoxonases against LDL oxidation and atherosclerosis development. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 170, 263–300. https://doi.org/10.1007/3-540-27661-0_9
- Gaziano, J. M., & Hennekens, C. H. (1992). Vitamin antioxidants and cardiovascular disease. *Current Opinion in Lipidology*, 3(4), 291–294.
- Jialal, I., & Devaraj, S. (1996). The role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(12), 676–686. https://doi.org/10.1093/jn/126.suppl_4.1053S
- Leiva, E., Wehinger, S., Guzmán, L., & Orrego, R. (2015). Role of oxidized LDL in atherosclerosis. In *Hypercholesterolemia*. InTech. <https://doi.org/10.5772/59375>
- Maiolino, G., Rossitto, G., Caielli, P., Bisogni, V., Rossi, G. P., & Calò, L. A. (2013). The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: The myths and the facts. *Mediators of Inflammation*, 2013, 714653. <https://doi.org/10.1155/2013/714653>
- Napoli, C. (1997). Low density lipoprotein oxidation and atherogenesis: From experimental models to clinical studies. *Giornale Italiano di Cardiologia*, 27(12), 1302–1314.

- Niki, E., & Noguchi, N. (1997). Dynamics of oxidation of LDL and its inhibition by antioxidants. *BioFactors*, 6(2), 201–208. <https://doi.org/10.1002/biof.5520060214>
- Oguntibeju, O. O., Esterhuyse, A. J., & Truter, E. J. (2009). Cardiovascular disease and the potential protective role of antioxidants. *African Journal of Biotechnology*, 8(14), 3107–3117. DOI: 10.5897/AJB09.160
- Packer, L. (1997). Vitamin E and the antioxidant network: Protection of human low density lipoprotein from oxidation. In H. Ohgashi, T. Osawa, J. Terao, S. Watanabe, & T. Yoshikawa (Eds.), *Food factors for cancer prevention* (pp. 452–459). Springer. https://doi.org/10.1007/978-4-431-67017-9_89
- Parthasarathy, S., & Santanam, N. (1994). Mechanisms of oxidation, antioxidants, and atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, 5(5), 371–375. <https://doi.org/10.1097/00041433-199410000-00009>
- Qiao, Y.-N., Zou, Y.-L., & Guo, S.-D. (2022). Low-density lipoprotein particles in atherosclerosis. *Frontiers in Physiology*, 13, 931931. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.931931>
- Steinberg, D. (1993). Oxidatively modified LDL and atherosclerosis. In A. L. Catapano, A. M. Gotto, L. C. Smith, & R. Paoletti (Eds.), *Drugs affecting lipid metabolism* (Medical Science Symposia Series, Vol. 2, pp. 77–83). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1703-6_8
- Trpkovic, A., Resanovic, I., Stanimirovic, J., Radak, D., Mousa, S. A., Cenic-Milosevic, D., Jevremovic, D., & Isenovic, E. R. (2015). Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Critical Reviews in*

Clinical Laboratory Sciences, 52(2), 70–85.
<https://doi.org/10.3109/10408363.2014.992063>

Zhang, S., Li, L., Chen, W., Xu, S., Feng, X., & Zhang, L. (2021). Natural products: The role and mechanism in low-density lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Phytotherapy Research*, 35, 2945–2967.
<https://doi.org/10.1002/ptr.7002>

PROPOLİSİN OKSİDATİF STRES ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ VE HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Meltem ARIKAN MALKOÇ¹

1. GİRİŞ

Propolis, bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından bitkilerin reçinelerinden, tomurcuklarından ve çiçeklerinden toplanan ve arı enzimleri, balmumu ve polenle karıştırılan reçineli ve viskoz bir maddedir (Bahari vd., 2025). Arılar propolisi kovan duvarlarını sterilize etmek, delikleri kapatmak, kovanın yapısal bütünlüğünü güçlendirmek ve istilacıları engellemek amacıyla bir yalıtım ve dezenfektan maddesi olarak kullanırlar (Burgut vd., 2020). Propolis özütleri zengin içeriği sayesinde antioksidan, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, antikanser, hepatoprotektif, nöroprotektif ve immünomodülatör gibi çok çeşitli farmakolojik özellikler sergileyerek binlerce yıldır geleneksel tıpta kullanılmaktadır (Irigoitı vd.,2021; Balasubramaniam vd, 2025).

Hücresel stres mekanizmaları, birçok kronik ve dejeneratif hastalığın temelinde yer alan kritik süreçler olarak kabul edilmektedir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkar ve lipidler, proteinler ve DNA gibi makromoleküllere zarar vererek hücresel fonksiyonları tahrip eder (Anwar vd.,2026). Endoplazmik retikulumun (ER) hücre içinde protein sentezi, katlanması ve kalsiyum

¹ Doç. Dr., Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ORCID: 0000-0002-8652-941X.

homeostazının sürdürüldüğü kritik bir organeldir ER temel işlevlerinden biri, ER'de bulunan enzimler ve moleküler şaperonlar tarafından düzenlenirken, yeni oluşan peptit zincirlerinin ve proteinlerin üç boyutlu konformasyonunun doğru sentezini sağlamaktır (Ajoollabady vd., 2023). Proteinler ER doğru konformasyonu oluşturamadığında veya yanlış katlandığında, ER lümeninde anormal agregasyon meydana gelir. Bu birikim, hücre içindeki protein dengesini yeniden şekillendirmeyi amaçlayan ve nihayetinde homeostaz dengesizliğine ve protein katlanma bozukluğuna yol açabilen, açılmamış protein yanıtı (UPR) adı verilen adaptif bir sinyal kaskadını tetikler. Bu sürecin tamamına ERS denir (Chen vd.,2023). Bunun sonucunda ortaya çıkan reaksiyonlar arasında endoplazmik retikulum otofajisi, oksidatif stres (OS), protein sentezi ve yıkımı vb. yer almaktadır (Tang vd., 2026). Bu stres yolları; Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif bozuklukların yanı sıra kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, karaciğer yağlanması ve kanser gibi geniş bir hastalık grubunun patogeneğinde merkezi bir rol oynar (Oakes ve Papa, 2015).

Güncel çalışmalar, propolisin ROS üretimini doğrudan engelleyebildiğini, Nrf2-ARE yolunu aktive ederek endojen antioksidan savunmayı uyardığını ve kritik ER stres belirteçlerini baskılayarak stres kaynaklı apoptozu önlediğini göstermektedir (Chen vd., 2023). Bu derlemenin temel amacı, propolisin oksidatif stres, ER stresi ve hücre ölüm mekanizmaları üzerine etkilerine kapsamlı bir bakış sunmayı hedeflemektedir.

2. PROPOLİSİN KİMYASAL KOMPOZİSYONU VE BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ

Propolisin kimyasal bileşimi; bitkisel kaynakları, arı türü, coğrafi bölge, iklim koşulları ve mevsimsel değişiklikler gibi birçok faktöre bağlı olarak farklılık göstermektedir. Doğal

haldeki propolis yaklaşık olarak %50 bitki reçinesi, %30 balmumu, %10 esansiyel ve aromatik yağlar ile %5 polenden oluşmaktadır (Xu vd., 2025). Günümüze kadar farklı coğrafi bölgelerden elde edilen propolis örneklerinde 800'den fazla kimyasal bileşik tanımlanmıştır. Bu bileşikler arasında flavonoidler, fenolik asitler ve esterleri, terpenler, lignanlar, amino asitler, yağ asitleri, mineraller ve çeşitli organik bileşikler yer almaktadır (Hossain vd., 2022; Sarapa vd., 2025). Propolisin biyolojik aktivitelerinden büyük ölçüde fenolik bileşikler sorumlu olup, özellikle flavonoidler ve fenolik asitler en önemli biyoaktif bileşenler olarak kabul edilmektedir.

Propoliste yaygın olarak bulunan flavonoidler arasında krisin, pinosembrin (pinocembrin), pinobanksin, galangin, kuersetin, apigenin, baicalin ve akasetin yer alırken; başlıca fenolik asitler ve türevleri arasında kafeik asit, sinamik asit, p-kumarik asit ve bunların esterleri bulunmaktadır (Karagul vd., 2024). Ayrıca kumarinler, ketonlar, benzoik asit, benzil alkol, vanilin, kamferid ve izovanilin gibi çeşitli fenolik türevler de propolisin kimyasal yapısına katkıda bulunmaktadır. Özellikle pinosembrin ve krisin, güçlü nöroprotektif, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle dikkat çeken flavonoidler arasında yer almaktadır (Wang vd., 2023; Abd El-Emam vd., 2024). Benzer şekilde, Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE), propolisin en önemli biyoaktif bileşenlerinden biri olup güçlü antioksidan, antiinflamatuvar ve antitümör etkiler göstermektedir (Zhang vd., 2022).

Fenolik bileşiklerce zengin içeriği sayesinde propolis; antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, immünomodülatör, antidiyabetik, antikanser, kardiyoprotektif, nöroprotektif, sitostatik ve radyoprotektif etkiler sergilemektedir. Ayrıca bağırsak sağlığının korunması ve lipid metabolizmasının düzenlenmesi üzerinde de olumlu etkiler göstermektedir (Şuran vd., 2021). Propolis, fenolik bileşiklerin yanı sıra çeşitli mineral

ve vitaminleri de içermektedir. Yapısında yaklaşık otuz farklı element tanımlanmış olup bunlar arasında en yaygın olanları kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), çinko (Zn), bakır (Cu), silisyum (Si), demir (Fe) ve alüminyumdur (Al). Ayrıca provitamin A (β -karoten), B grubu vitaminleri (B1, B2, B6, niasin ve folat) ile C, D ve E vitaminlerini içermektedir. Bunlara ek olarak transhidrojenaz, maltaz, esteraz, α - ve β -amilaz ile α - ve β -laktamaz gibi bazı enzimler de eser miktarlarda bulunmaktadır (Xu vd., 2025).

Propolisin içerdiği çok sayıdaki biyoaktif bileşiğin biyolojik etkilerinin altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte mevcut çalışmalar, propolisin etkilerinin büyük ölçüde serbest radikallerin temizlenmesi, oksidatif stresin azaltılması, inflamatuvar yanıtların baskılanması ve mitokondriyal fonksiyonların korunması ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Doyle vd., 2011).

3. PROPOLİSİN OKSİDATİF STRES ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türlerinin (RNS) aşırı üretimi sonucu hücrel antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kalmasıyla ortaya çıkan ve birçok kronik hastalığın patogeneğinde rol oynayan temel bir süreçtir (Anwar vd.,2026). Son yıllarda yapılan çalışmalar, propolisin oksidatif strese karşı güçlü koruyucu etkiler gösterdiğini ve bu etkinin hem doğrudan serbest radikal süpürücü özelliklerinden hem de endojen antioksidan sistemleri aktive etmesinden kaynaklandığını ortaya koymuştur.

Propolis ve içerdiği polifenoller, süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve peroksit türevleri gibi reaktif türleri doğrudan nötralize ederek hücrel oksidatif yükü azaltmaktadır. Ayrıca nötrofil aktivasyonu sonucu oluşan ROS salınımını ve

mitokondri kaynaklı süperoksit üretimini baskılayarak oksidatif hasarın sınırlandırılmasına katkı sağlamaktadır. Bunun yanında propolis, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon (GSH) gibi endojen antioksidan savunma sistemlerinin aktivitesini artırarak hücrel redoks dengesinin korunmasına yardımcı olmaktadır (Takashima vd., 2019).

Propolisin antioksidan etkileri aynı zamanda inflamatuvar süreçlerin baskılanması ile de ilişkilidir. Yapılan çalışmalar, propolis ve flavonoid bileşenlerinin hem insan hem de hayvan hücrelerinde oksidatif stres ve inflamasyonu azaltabildiğini göstermiştir (Alanazi vd., 2020; Yang vd., 2022). Propolis uygulamasının özellikle miR-19a-3p, miR-203a-3p ve miR-27a-3p gibi inflamasyonla ilişkili mikroRNA'ların ekspresyonunu düzenleyerek proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığı bildirilmiştir (Shaha vd., 2018). Ayrıca deneysel çalışmalarda propolisin doksorubisin kaynaklı beyin hasarında SOD ve CAT aktivitelerini artırdığı, toplam glutatyon düzeylerini yükselttiği ve oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (Gelen vd., 2025). Benzer şekilde propolis takviyesinin toplam antioksidan kapasiteyi, GSH ve GPx düzeylerini anlamlı şekilde artırdığı çeşitli deneysel çalışmalar ve güncel meta-analizlerle doğrulanmıştır (Bahari vd., 2025). Propolisin oksidatif strese karşı koruyucu etkilerinde en önemli moleküler mekanizmalardan biri Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) sinyal yolunun aktivasyonudur. Nrf2, hücrel antioksidan savunmanın temel düzenleyicilerinden biri olup aktive olduğunda antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerini kodlayan genlerin transkripsiyonunu başlatmaktadır. Propolis ve biyoaktif bileşenlerinin Nrf2 yolunu aktive ederek hücrenin oksidatif strese karşı direncini artırdığı gösterilmiştir (Liu vd., 2025; Pahlavani vd., 2020).

Normal koşullarda sitoplazmada Keap1 proteini tarafından baskılanan Nrf2, propolis bileşenlerinin etkisiyle

serbestleşerek çekirdeğe transloke olmakta ve antioksidan yanıt elementi (ARE) bölgelerine bağlanmaktadır. Bunun sonucunda hem oksijenaz-1 (HO-1), NAD(P)H oksidoredüktaz-1 (NQO1), glutatyon sentez enzimleri ve diğer sitoprotektif proteinlerin ekspresyonu artmaktadır (Takashima vd., 2019). Nrf2 aktivasyonuna bağlı olarak hücresel redoks dengesi yeniden sağlanırken ROS oluşumu azalmakta ve inflamatuvar yanıtlar baskılanmaktadır. Ayrıca Nrf2 ile NF- κ B sinyal yolu arasında karşılıklı düzenleyici bir ilişki bulunduğu, Nrf2 aktivasyonunun NF- κ B aktivitesini baskılayarak antiinflamatuvar etkilere katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Sun vd., 2022).

Propolisin en önemli biyoaktif bileşenlerinden biri olan Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE), güçlü antioksidan kapasitesi nedeniyle bu koruyucu etkilerde merkezi rol oynamaktadır. CAPE' nin yapısındaki fenolik hidroksil grupları ve konjuge çift bağ sistemi, serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırabilmesine, geçiş metallerini şelatlayabilmesine ve oksidatif hasarı başlatan çeşitli enzimleri inhibe edebilmesine olanak sağlamaktadır (Zulhendri vd., 2021). Ayrıca CAPE'nin lipit peroksidasyonunu ve nitrik oksit üretimini azaltarak oksidatif hasarı sınırlandığı gösterilmiştir (Shao vd., 2021). Bunun yanında CAPE'nin Nrf2'nin Keap1 kompleksinden ayrılmasını kolaylaştırarak HO-1 başta olmak üzere çeşitli antioksidan genlerin ekspresyonunu artırdığı bildirilmektedir (Pérez vd., 2023; Yordanov vd., 2019). Propoliste bulunan diğer flavonoidler de antioksidan savunmanın güçlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Kaempferol ve kaempferidin gibi flavonoidlerin ARE aracılı transkripsiyonel aktiviteyi artırdığı ve Nrf2 yolunu aktive ettiği gösterilmiştir (Takashima vd., 2019). Benzer şekilde pinosembirin, Nrf2/HO-1 eksenini aktive ederek mitokondriyal fonksiyonların korunmasına katkı sağlamakta ve hücre sağkalımını artırmaktadır (Wang vd., 2023).

Deneyisel çalışmalar propolisin antioksidan etkilerinin farklı hastalık modellerinde tutarlı şekilde gözlemlendiğini ortaya koymaktadır. Aflatoksin B1 kaynaklı karaciğer hasarında propolis uygulamasının baskılanmış Nrf2 düzeylerini restore ettiği ve HO-1 ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Kabalı vd., 2026). Ayrıca Huang ve ark. (2024), CAPE uygulamasının embriyonik gelişim sırasında Nrf2 yolunu aktive ederek ROS düzeylerini azalttığını ve hücrel redoks homeostazını koruduğunu göstermiştir. Bu bulgular, propolisin yalnızca doğrudan serbest radikal temizleyici özellik göstermediğini, aynı zamanda hücrel antioksidan savunma sistemlerini genetik ve moleküler düzeyde yeniden programlayarak oksidatif strese karşı kapsamlı bir koruma sağladığını ortaya koymaktadır.

4. PROPOLİSİN ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Fizyolojik dengenin bozulması sonucu endoplazmik retikulum (ER) lümeninde yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin birikmesi, endoplazmik retikulum stresi (ERS) olarak tanımlanan patolojik bir duruma yol açmaktadır oynar (Oakes ve Papa, 2015). Hücre, bu duruma karşı adaptif bir savunma mekanizması olan Katlanmamış Protein Yanıtı'nı (Unfolded Protein Response; UPR) aktive ederek protein homeostazını yeniden sağlamaya çalışmaktadır (Martinotti ve Ranzato, 2025). UPR'nin temel amacı protein sentezini geçici olarak azaltmak, moleküler şaperonların üretimini artırmak ve hatalı proteinlerin yıkımını hızlandırmaktır. Ancak stresin uzun süre devam etmesi veya aşırı şiddetli olması durumunda UPR sinyalizasyonu pro-apoptotik yönde ilerleyerek hücre ölümünü tetikleyebilmektedir. UPR'nin başlıca üç sensörü protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (PERK), inositol-requiring enzyme 1 alpha

(IRE1 α) ve activating transcription factor 6 (ATF6)'dır (Cheng vd., 2023).

UPR aktivasyonunda merkezi rol oynayan glukozla düzenlenen protein 78 (GRP78/BiP), ER lümeninde görev yapan temel bir moleküler şaperondur. Normal koşullarda GRP78, PERK, IRE1 α ve ATF6'yı inaktif halde tutmaktadır. ER stresinin gelişmesiyle birlikte GRP78 bu sensörlerden ayrılarak yanlış katlanmış proteinlere bağlanır ve böylece UPR aktivasyonu başlatılır (Chen vd., 2023). Çalışmalar, propolis ve bazı biyoaktif bileşenlerinin GRP78 ekspresyonunu düzenleyerek protein katlanma kapasitesini artırdığını göstermektedir. Özellikle CAPE ve krisinin, GRP78 düzeylerini normalize ederek ER homeostazının korunmasına katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca propolisin doksorubisin kaynaklı kardiyotoksiste ve beyin hasarı modellerinde artmış GRP78 protein ve mRNA düzeylerini azaltarak koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (Cırrık vd., 2025).

4.1. PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP Yolağı

PERK, ER stresine yanıt olarak aktive olan ilk sensörlerden biridir. Aktive olmuş PERK, ökaryotik translasyon başlangıç faktörü 2 alfa (eIF2 α)'yı fosforilleyerek genel protein sentezini baskılar ve böylece ER üzerindeki yükün azaltılmasını sağlar. Bununla birlikte uzun süreli PERK aktivasyonu, activating transcription factor 4 (ATF4) ve C/EBP homologous protein (CHOP) ekspresyonunu artırarak apoptotik süreci başlatabilmektedir (Martinotti ve Ranzato, 2025). Son yıllarda yapılan çalışmalar, propolis ve bileşenlerinin PERK yolunun aşırı aktivasyonunu baskılayarak ER stresine bağlı hücre hasarı azalttığını göstermektedir. Özellikle galangin ve pinosembinin PERK fosforilasyonunu ve buna bağlı CHOP aktivasyonunu inhibe ederek hücre ölümünü geciktirdiği bildirilmiştir (Ogawa ve Terada, 2024). Benzer şekilde krisinin, diyabetik farelerde

böbrek dokusunda PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP eksenini baskılayarak ER stresine bağlı hasarı azalttığı gösterilmiştir (Kang vd., 2017).

4.2. IRE1 α /XBP1 Yolağı

IRE1 α , UPR'nin en korunmuş sensörlerinden biri olup aktive olduğunda X-box binding protein 1 (XBP1) mRNA'sının alternatif kesilip eklenmesini sağlayarak aktif spliced-XBP1 (sXBP1) oluşumunu tetikler. sXBP1, şaperon proteinlerin, ER ile ilişkili protein yıkım sistemlerinin ve protein katlanmasını destekleyen çeşitli genlerin ekspresyonunu artırarak hücrel adaptasyonu desteklemektedir. Ancak uzun süreli veya aşırı IRE1 α aktivasyonu, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve çeşitli inflamatuvar sinyal yollarını aktive ederek hücrel hasara katkıda bulunabilmektedir. Çalışmalar, propolisin IRE1 α aktivitesini düzenleyerek adaptif yanıtı desteklediğini ve inflamatuvar sinyalizasyonu baskıladığını göstermektedir. Brezilya yeşil propolisinin önemli bileşenlerinden biri olan artepillin C ile kaempferolün sXBP1 düzeylerini düzenleyerek IRE1 α aktivasyonunu modüle ettiği bildirilmiştir. Ayrıca su bazlı propolis ekstraktlarının IRE1 protein ekspresyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Hirata vd., 2021). Bunun yanında kafeik asit sinnamil esterinin (CACE), ER stresine bağlı sinyal yollarını baskılayarak hücrel metabolik bozuklukların düzeltilmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Kong vd., 2021).

4.3. ATF6 Yolağı

ATF6, ER stres koşullarında GRP78'den ayrılarak Golgi aygıtına taşınır ve burada S1P ve S2P proteazları tarafından kesilerek aktif forma dönüştürülür. Daha sonra çekirdeğe transloke olan aktif ATF6, GRP78 başta olmak üzere çeşitli moleküler şaperonların ve protein katlanmasını destekleyen genlerin ekspresyonunu artırarak ER homeostazının yeniden sağlanmasına katkıda bulunur (Ong ve Logue, 2023). Bununla

birlikte aşırı ve uzun süreli ATF6 aktivasyonu, ER stresinin ilerlemesine ve hücresel fonksiyonların bozulmasına neden olabilmektedir. Çalışmalar, propolis ve içerdiği biyoaktif bileşenlerin özellikle karaciğer ve beyin dokularında aşırı ATF6 aktivasyonunu baskılayarak ER stres yükünü azalttığını göstermektedir. Bu etkinin hücresel homeostazın korunmasına ve ER kaynaklı hasarın sınırlandırılmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Gelen vd., 2025; Ogawa ve Terada, 2024).

Genel olarak değerlendirildiğinde, propolis ve içerdiği biyoaktif bileşenlerin ER stresine karşı koruyucu etkileri; GRP78 aracılı protein katlanma kapasitesinin desteklenmesi, PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP ekseninin baskılanması, IRE1 α /XBP1 sinyalizasyonunun dengelenmesi ve ATF6 aktivasyonunun düzenlenmesi ile ilişkilendirilmektedir. Böylece propolis, ER stresine bağlı inflamasyonun, oksidatif hasarın ve apoptotik hücre ölümünün azaltılmasına katkıda bulunmaktadır. Son yıllarda elde edilen bulgular, propolisin yalnızca güçlü bir antioksidan değil, aynı zamanda ER homeostazını koruyan önemli bir hücresel stres düzenleyicisi olduğunu ortaya koymaktadır.

5. PROPOLİSİN HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI ÜZERİNE REGÜLATÖR ETKİLERİ

Hücresel homeostazın bozulması, oksidatif hasar, protein agregasyonu, DNA hasarı ve organel disfonksiyonu gibi çeşitli stres faktörleri hücre ölüm mekanizmalarının aktive olmasına neden olmaktadır. Hücre ölümü, organizmanın gelişimi ve doku bütünlüğünün korunması için gerekli fizyolojik bir süreç olmakla birlikte, aşırı veya kontrolsüz aktivasyonu birçok hastalığın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (Abd El-Emam vd., 2024). Son yıllarda yapılan çalışmalar, propolis ve içerdiği

biyoaktif bileşenlerin apoptoz, otofaji, mitofaji ve ferroptoz gibi farklı hücre ölüm mekanizmalarını düzenleyebildiğini göstermektedir. Bu etkiler doku tipine ve patolojik koşullara bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Propolis, normal dokularda hücre sağkalımını desteklerken, kanser hücrelerinde ise hücre ölümünü uyarak antitümöral etki gösterebilmektedir (Jiang vd., 2020).

5.1. Apoptozun Düzenlenmesi

Apoptoz, programlanmış hücre ölümünün en iyi karakterize edilmiş formu olup intrinsik (mitokondriyal) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü aracılı) olmak üzere iki temel yolak üzerinden gerçekleşmektedir. Bu süreçte Bax, Bcl-2, sitokrom c ve kaspazlar gibi proteinler merkezi rol oynamaktadır (Jiang vd., 2020).

5.1.1. Normal Dokularda Anti-apoptotik Etkiler

Propolis ve bileşenleri, oksidatif stres veya toksik ajanlara bağlı gelişen aşırı apoptozu baskılayarak doku koruyucu etki göstermektedir. Bu etkinin temelinde Bax/Bcl-2 dengesinin hücre sağkalımı lehine düzenlenmesi, kaspaz aktivasyonunun baskılanması ve PI3K/Akt/mTOR gibi hücre yaşamını destekleyen sinyal yollarının aktive edilmesi yer almaktadır.

Doksorubisin kaynaklı beyin hasarında propolis uygulamasının pro-apoptotik Bax düzeylerini azalttığı, anti-apoptotik Bcl-2 düzeylerini artırdığı ve kaspaz-3 aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Bu değişiklikler nöronal sağkalımın korunmasına katkıda bulunmuştur (Gelen vd., 2025). Benzer şekilde aflatoxin B1 kaynaklı karaciğer hasarında propolis takviyesinin Bax/Bcl-2 dengesini normalize ettiği ve kaspaz-3 ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (Kabalı vd., 2026). Ayrıca polifenol açısından zengin propolis ekstraktlarının bağırsak epitel hücrelerinde AMPK ve ERK1/2 sinyal yollarını aktive ederek tight junction proteinlerinin ekspresyonunu artırdığı, böylece

bağırsak bariyer bütünlüğünü koruduğu ve doku onarımını desteklediği gösterilmiştir (Wang vd., 2016).

5.1.2. Kanser Hücrelerinde Pro-apoptotik Etkiler

Normal dokulardan farklı olarak propolis, birçok kanser hücresinde apoptotik mekanizmaları aktive ederek antitümöral etki göstermektedir. Bu etkiler genellikle mitokondriyal membran potansiyelinin bozulması, sitokrom c salınımının artması, Bax/Bcl-2 oranının yükselmesi ve kaspaz kaskadının aktivasyonu ile ilişkilendirilmektedir.

Türk propolisinin meme kanseri (MCF-7) hücrelerinde mitokondriyal membran potansiyelini düşürdüğü ve kaspaz-3 ile kaspaz-9 aktivasyonunu artırarak apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Tartik vd., 2016). Benzer şekilde Changbai Dağları propolisinin mide kanseri hücrelerinde kaspaz-8, kaspaz-9 ve kaspaz-3'ün aktif formlarını artırdığı, Bax/Bcl-2 oranını pro-apoptotik yönde değiştirdiği ve sitokrom c salınımını tetiklediği bildirilmiştir (Jiang vd., 2020). Ayrıca propolis flavonoidlerinden krisinin, prostat kanseri hücrelerinde p53/Bcl-2/kaspaz-9 eksenini üzerinden apoptotik hücre ölümünü aktive ettiği gösterilmiştir (Ryu vd., 2017). Bunun yanında propolis ve özellikle CAPE gibi biyoaktif bileşenlerinin MAPK/ERK ve NF- κ B sinyal yollarını modüle ederek tümör hücre proliferasyonunu baskıladığı ve apoptozu desteklediği bildirilmektedir (Zhu vd., 2024).

5.2. Otofaji ve Mitofajinin Düzenlenmesi

Otofaji, hücrenin hasarlı organelleri ve protein agregatlarını lizozomal sistem aracılığıyla uzaklaştırdığı temel bir hücresel kalite kontrol mekanizmasıdır. Mitokondrilere özgü otofaji süreci olan mitofaji ise mitokondriyal bütünlüğün korunması ve aşırı ROS oluşumunun önlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Çalışmalar, propolis bileşenlerinin otofajik süreçleri düzenleyerek hücresel homeostazın korunmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir. Pinosembrinin Nrf2 sinyal

yolunu aktive ederek kıkırdak endplate kondrositlerinde mitofajiyi artırdığı ve böylece oksidatif stres kaynaklı dejenerasyonu azalttığı bildirilmiştir (Wang vd., 2023). Ayrıca CAPE'nin embriyo modellerinde hem apoptoz hem de otofaji düzeylerini düzenleyerek gelişimsel kapasiteyi artırdığı gösterilmiştir (Zhang vd., 2024). Propolis bileşenlerinin PI3K/Akt/mTOR sinyal eksenini üzerinden otofajiyi düzenlediği ve böylece hücrenin stres koşullarındaki yaşam-ölüm dengesinin belirlenmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Wang vd., 2020; Gelen vd., 2025).

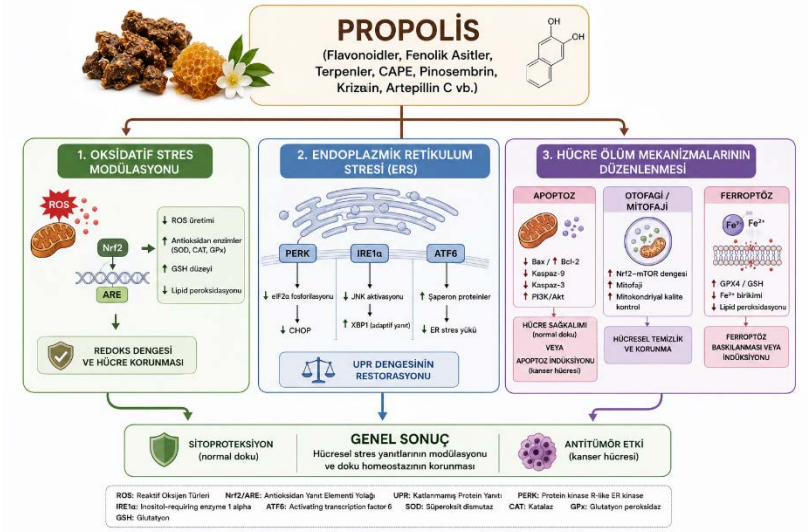
5.3. Ferroptoz ve Oksitozun Düzenlenmesi

Ferroptoz, demire bağımlı lipid peroksidasyonu ile karakterize düzenlenmiş bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Oksitoz ise özellikle nöronlarda tanımlanan ve glutatyon (GSH) tükenmesine bağlı gelişen, ferroptoz ile önemli ölçüde örtüşen bir hücre ölüm şeklidir. Brezilya yeşil propolisinden elde edilen ekstraktların fare hipokampal HT22 hücrelerinde oksitoz ve ferroptozu karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu etkinin kaempferol ve kaempferid tarafından Nrf2/ARE aracılı antioksidan savunmanın güçlendirilmesi ve artemisin C tarafından mitokondriyal süperoksit üretiminin azaltılması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Takashima vd., 2019). Bu bileşenlerin, GSH depoları tükendikten sonra bile serbest radikal temizleyici özelliklerini sürdürdükleri gösterilmiştir. Bununla birlikte propolisin etkileri hücre tipine göre farklılık gösterebilmektedir. Yaygın büyük B hücreli lenfoma (DLBCL) hücrelerinde propolis uygulamasının ferroptozu aktive ederek tümör hücrelerinin ölümünü hızlandırdığı ve serin/treonin protein kinaz PLK1 ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir (Liu vd., 2023). Bu bulgu, propolisin normal hücrelerde ferroptozu karşı koruyucu etki gösterirken, kanser hücrelerinde ferroptotik mekanizmaları aktive edebileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE GELECEK PERSPEKTİFLER

Propolis ve içerdği biyoaktif bileşenlerin, oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi ve hücre ölüm mekanizmaları üzerinde önemli düzenleyici etkilere sahip olduğu görülmektedir. Mevcut çalışmalar, propolisin ROS üretimini azaltarak, Nrf2/ARE aracılı antioksidan savunmayı güçlendirerek ve UPR sinyal yollarını modüle ederek hücresel homeostazın korunmasına katkı sağladığını göstermektedir. Ayrıca propolis; normal dokularda sitoprotektif etki gösterirken, kanser hücrelerinde apoptotik ve ferroptotik mekanizmaları aktive ederek antitümöral özellikler sergileyebilmektedir (Şekil 1).

Bununla birlikte, mevcut verilerin büyük ölçüde in vitro ve deneysel hayvan çalışmalarına dayanması, propolisin klinik etkinliğinin tam olarak ortaya konulmasını sınırlandırmaktadır. Ayrıca propolisin kimyasal bileşiminin coğrafi ve botanik kökenlere bağlı olarak değişkenlik göstermesi, standartlaştırılmış preparatların geliştirilmesini güçleştirmektedir. Bu nedenle gelecekteki araştırmaların, propolisin farmakokinetik özelliklerinin aydınlatılmasına, biyoyararlanımını artıracak yeni formülasyonların geliştirilmesine ve iyi tasarlanmış klinik çalışmaların yürütülmesine odaklanması gerekmektedir. Sonuç olarak propolis, çok hedefli etki mekanizmaları sayesinde hücresel stres yanıtlarının düzenlenmesinde ve stres kaynaklı hastalıkların önlenmesi veya tedavisinde umut vadeden doğal bir biyolojik ajan olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 1. Propolisin Oksidatif stres ve Endoplazmik Retikulum Stresi ve Hücre Ölüm Mekanizmaları Üzerine Etkileri

KAYNAKÇA

- Abd El-Emam, M. M., Behairy, A., Mostafa, M., Khamis, T., Osman, N. M., Alsemeh, A. E., & Mansour, M. F. (2024). Chrysin-loaded PEGylated liposomes protect against alloxan-induced diabetic neuropathy in rats: the interplay between endoplasmic reticulum stress and autophagy. *Biological Research*, 57(1), 45.
- Ajoolabady, A., Kaplowitz, N., Lebeaupin, C., Kroemer, G., Kaufman, R. J., Malhi, H., & Ren, J. (2023). Endoplasmic reticulum stress in liver diseases. *Hepatology*, 77(2), 619-639.
- Alanazi, S., Alenzi, N., Fearnley, J., Harnett, W., & Watson, D. G. (2020). Temperate propolis has anti-inflammatory effects and is a potent inhibitor of nitric oxide formation in macrophages. *Metabolites*, 10(10), 413.
- Alfons, M. S., Ibrahim, A. T. A., Harabawy, A. S., Al-Salahy, M. B., & Badr, G. (2023). Cytoprotective effect of propolis on heat stress induces alteration to histological, ultrastructural, and oxidative stress in catfish (*Clarias gariepinus*). *Environmental Science and Pollution Research*, 30(53), 114152-114165.
- Anwar, S., Alharbi, H. O. A., Babiker, A. Y., & Rahmani, A. H. (2026). Oxidative Stress in Health and Disease: Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 27(6), 2681.
- Bahari, H., Shahraki Jazinaki, M., Aliakbarian, M., Rashidmayvan, M., Golafrouz, H., Rahnama, I., Malekahmadi, M. (2025). Propolis supplementation on inflammatory and oxidative stress biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in nutrition*, 12, 1542184.

- Balasubramaniam, A. K., Elangovan, A., Rahman, M. A., Nayak, S., Swain, D., Babu, H. P., Monga, V. (2025). Propolis: A comprehensive review on the nature's polyphenolic wonder. *Fitoterapia*, 183, 106526.
- Burgut, A., Kuley, E., Ucar, Y., Özogul, F. (2020). Suppression effects of aqueous and ethanolic extracts of propolis on biogenic amine production by *Morganella psychrotolerans*. *LWT*, 131, 109771.
- Chen, X., Shi, C., He, M., Xiong, S., & Xia, X. (2023). Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 352
- Cırrık, S., Çökeli, E. K., Hacıoğlu, G., & Peker, E. G. G. (2025). Turkish Propolis Mitigates Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress in Cardiac Damage Caused by Doxorubicin in Rats. *Journal of Basic and Clinical Health Sciences*, 9(2), 299-308.
- Doyle, K. M., Kennedy, D., Gorman, A. M., Gupta, S., Healy, S. J., & Samali, A. (2011). Unfolded proteins and endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disorders. *Journal of cellular and molecular medicine*, 15(10), 2025-2039.
- Gelen, V., Başığmez, M., Dursun, İ., Çinar, I., & Kara, A. (2025). Propolis Extract Reduces Doxorubicin-Induced Brain Damage by Regulating Inflammation, ER Stress, Oxidative Stress, and Apoptosis. *Food Science & Nutrition*, 13(4), e70194.
- Hirata, Y., Motoyama, M., Kimura, S., Takashima, M., Ikawa, T., Oh-Hashi, K., & Kamatari, Y. O. (2021). Artepillin C, a major component of Brazilian green propolis, inhibits

endoplasmic reticulum stress and protein aggregation. *European journal of pharmacology*, 912, 174572.

- Hossain, R., Quispe, C., Khan, R. A., Saikat, A. S. M., Ray, P., Ongalbek, D., ... & Cho, W. C. (2022). Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chinese medicine*, 17(1), 100.
- Huang, C. M., Huang, H. M., Li, Y. H., Liang, X. W., Kim, N. H., & Xu, Y. N. (2024). Effects of caffeic acid phenethyl ester on embryonic development through regulation of mitochondria and endoplasmic reticulum. *Veterinary Sciences*, 11(12), 625.
- Irigoit, Y., Navarro, A., Yamul, D., Libonatti, C., Tabera, A., Basualdo, M. (2021). The use of propolis as a functional food ingredient: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 115, 297-306.
- Jiang, X. S., Xie, H. Q., Li, C. G., You, M. M., Zheng, Y. F., Li, G. Q., Hu, F. L. (2020). Chinese propolis inhibits the proliferation of human gastric cancer cells by inducing apoptosis and cell cycle arrest. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020(1), 2743058.
- Kabalı, S., Öner, N., Kara, A., Söğüt, M. Ü., & Elgün, Z. (2026). Alleviation of Aflatoxin B1-Induced Hepatic Damage by Propolis: Effects on Inflammation, Apoptosis, and Cytochrome P450 Enzyme Expression. *Current Issues in Molecular Biology*, 48(1), 56.
- Kang, M. K., Park, S. H., Kim, Y. H., Lee, E. J., Antika, L. D., Kim, D. Y., & Kang, Y. H. (2017). Chrysin ameliorates podocyte injury and slit diaphragm protein loss via inhibition of the PERK-eIF2 α -ATF-CHOP pathway in

- diabetic mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(8), 1129-1140.
- Karagul, B., Ugras, S., Karagul, P., Usta, M., & Ugras, H. İ. (2024). Analysis and evaluation of quality parameters of commercial propolis products using a new high Performance Liquid Chromatography (HPLC) method and Comparison of antimicrobial properties. *Microchemical Journal*, 204, 111023.
- Kong, L., Zhang, Y., Feng, Z., Dong, J., & Zhang, H. (2021). Phenolic compounds of propolis alleviate lipid metabolism disorder. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1), 7615830.
- Liu, X., Tian, Y., Yang, A., Zhang, C., Miao, X., & Yang, W. (2023). Antitumor effects of poplar propolis on DLBCL SU-DHL-2 cells. *Foods*, 12(2), 283.
- Liu, Z.; Li, Z.; Guo, Y.; Li, Y.; Xuan, H. The protective effects of propolis against lipopolysaccharide-induced acute liver injury by modulating serum metabolites and gut flora. *Sci. Rep.* 2025, 15, 16959.
- Martinotti, S., & Ranzato, E. (2025). Targeting the unfolded protein response with natural products: therapeutic potential in ER stress-related diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(18), 8814.
- Oakes, S. A., & Papa, F. R. (2015). The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 10(1), 173-194.
- Ogawa, T., & Terada, T. (2024). The Beneficial Effect of Brazilian Propolis for Liver Damage through Endoplasmic Reticulum Stress. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 47(7), 1265-1274.

- Ong, G., & Logue, S.E. (2023). Unfolding the interactions between endoplasmic reticulum stress and oxidative stress. *Antioxidants*. 2023; 12: 981.
- Pahlavani, N.; Malekahmadi, M.; Firouzi, S.; Rostami, D.; Sedaghat, A.; Moghaddam, A.B.; Ferns, G.A.; Navashenaq, J.G.; Reazvani, R.; Safarian, M.; et al. Molecular and cellular mechanisms of the effects of Propolis in inflammation, oxidative stress and glycemic control in chronic diseases. *Nutr. Metab.* 2020, 17, 65.
- Pérez, R.; Burgos, V.; Marín, V.; Camins, A.; Olloquequi, J.; González-Chavarría, I.; Ulrich, H.; Wyneken, U.; Luarte, A.; Ortiz, L.; et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE): Biosynthesis, Derivatives and Formulations with Neuroprotective Activities. *Antioxidants* 2023, 12, 1500.
- Reyes-Fermín, L. M., Aparicio-Trejo, O. E., Avila-Rojas, S. H., Gómez-Sierra, T., Martínez-Klimova, E., & Pedraza-Chaverri, J. (2020). Natural antioxidants' effects on endoplasmic reticulum stress-related diseases. *Food and Chemical Toxicology*, 138, 111229.
- Ryu, S., Lim, W., Bazer, F. W., Song, G. (2017). Chrysin induces death of prostate cancer cells by inducing ROS and ER stress. *Journal of cellular physiology*, 232(12), 3786-3797.
- Sarapa, A., Peter, A., Buettner, A., Loos, H. M. (2025). Organoleptic and chemical properties of propolis: a review. *European food research and technology*, 251(6), 1331-1352.
- Shaha, A., Mizuguchi, H., Kitamura, Y., Fujino, H., Yabumoto, M., Takeda, N., & Fukui, H. (2018). Effect of royal jelly and Brazilian green propolis on the signaling for histamine H1 receptor and interleukin-9 gene expressions

- responsible for the pathogenesis of the allergic rhinitis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 41(9), 1440-1447.
- Shao, B., Mao, L., Tang, M., Yan, Z. Y., Shao, J., Huang, C. H., Zhu, B. Z. (2021). Caffeic acid phenyl ester (CAPE) protects against iron-mediated cellular DNA damage through its strong iron-binding ability and high lipophilicity. *Antioxidants*, 10(5), 798.
- Sun, W.; Xie, W.; Huang, D.; Cui, Y.; Yue, J.; He, Q.; Jiang, L.; Xiong, J.; Sun, W.; Yi, Q. Caffeic acid phenethyl ester attenuates osteoarthritis progression by activating NRF2/HO-1 and inhibiting the NF- κ B signaling pathway. *Int. J. Mol. Med.* 2022, 50, 134.
- Šuran, J., Ceganec, I., Mašek, T., Radić, B., Radić, S., Tlak Gajger, I., & Vlaineć, J. (2021). Propolis extract and its bioactive compounds—From traditional to modern extraction technologies. *Molecules*, 26(10), 2930.
- Takashima, M., Ichihara, K., Hirata, Y. (2019). Neuroprotective effects of Brazilian green propolis on oxytosis/ferroptosis in mouse hippocampal HT22 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 132, 110669.
- Tang, S., Ren, Z., Zhu, B., & Li, K. (2026). Mechanism of endoplasmic reticulum stress: Insights for potential therapeutic benefits in burns. *Tissue and Cell*, 100, 103378.
- Tartik, M., Darendelioglu, E., Aykutoglu, G., Baydas, G. (2016). Turkish propolis supresses MCF-7 cell death induced by homocysteine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 704-712.
- Wang, H., Liu, X., Yang, H., Jing, X., Wang, W., Liu, X., Cui, X. (2023). Activation of the Nrf-2 pathway by pinocembrin

safeguards vertebral endplate chondrocytes against apoptosis and degeneration caused by oxidative stress. *Life Sciences*, 333, 122162.

Wang, K., Jin, X., Chen, Y., Song, Z., Jiang, X., Hu, F., Topping, D. L. (2016). Polyphenol-rich propolis extracts strengthen intestinal barrier function by activating AMPK and ERK signaling. *Nutrients*, 8(5), 272.

Xu, X., Hu, B., & Qu, X. (2025). Effects of propolis intake on endurance exercise and molecular signaling related to inflammation and oxidative stress. *Frontiers in Nutrition*, 12, 1539701.

Yang, P., Li, X., Wen, Q., Zhao, X. (2022). Quercetin attenuates the proliferation of arsenic-related lung cancer cells via a caspase-dependent DNA damage signaling. *Molecular carcinogenesis*, 61(7), 655-663.

Yordanov, Y. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): Pharmacodynamics and potential for therapeutic application. *Pharmacia* 2019, 66, 107–114.

Zheng, Y., Wu, Y., Chen, X., Jiang, X., Wang, K., & Hu, F. (2018). Chinese propolis exerts anti-proliferation effects in human melanoma cells by targeting NLRP1 inflammatory pathway, inducing apoptosis, cell cycle arrest, and autophagy. *Nutrients*, 10(9), 1170.

Zhu, H., Li, C., Jia, L., Qiao, J., El-Seedi, H. R., Zhang, Y., & Zhang, H. (2024). Supercritical CO₂ extracts of propolis inhibits tumor proliferation and Enhances the immunomodulatory activity via activating the TLR4-MAPK/NF- κ B signaling pathway. *Food Research International*, 196, 115137.

Zulhendri, F., Perera, C. O., Tandean, S., Abdulah, R., Herman, H., Christoper, A., Lesmana, R. (2022). The potential use

of propolis as a primary or an adjunctive therapy in respiratory tract-related diseases and disorders: A systematic scoping review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112595.

ISABELLA ÜZÜMÜNÜN FENOLİK BİLEŞİMİ¹

Zeynep Berin ÇELEBİ^{2,3}

Erol TUNCA⁴

1. GİRİŞ

Üzüm türleri (*Vitis* sp.), dünya genelinde yaygın olarak yetiştirilen ve ekonomik açıdan önemli tarım ürünleri arasında yer almaktadır. Türkiye, üzüm yetiştiriciliği bakımından önemli bir konuma sahip olup *Vitis vinifera* türünün gen merkezlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü bünyesindeki Ulusal Üzüm Koleksiyonu Bağı'nda 1600'den fazla kültüvarın tespit edilerek koruma altına alınmış olması, Türkiye'nin üzüm genetik kaynakları açısından taşıdığı önemi gösterir niteliktedir (Köse vd., 2024).

Türkiye'de iklim ve toprak özellikleri bakımından hemen hemen tüm bölgeler üzüm yetiştiriciliğine uygun olmakla birlikte, Doğu Anadolu'nun yüksek rakımlı alanları ve Doğu Karadeniz kıyıları bazı sınırlayıcı koşullar taşımaktadır. Özellikle Karadeniz kıyılarında yoğun yağış, yetersiz güneş ışığı ve yüksek nem, üzüm tanelerinin tam olgunlaşmasını güçleştirebilmekte ve

¹ Bu kitap bölümü, yazarın Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı'nda "İsabella Üzümü İçeren Yüksek Katma Değerli Ürünlerin Üretilmesi" başlıklı yüksek lisans tez çalışması kapsamında edinilen literatür birikimi ve ilgili bilimsel değerlendirmelerden yararlanılarak hazırlanmıştır.

² Eczacılık Fakültesi Teknik Üniversitesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 61080 Trabzon, Türkiye.

³ Biyokimya Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 61080 Trabzon, Türkiye, ORCID: 0009-0001-2606-8973.

⁴ Kimya bölümü, Fen Fakültesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 61080 Trabzon, Türkiye, ORCID: 0009-0006-3548-0085.

mantar hastalıklarının yaygınlaşmasına bağlı olarak verimi olumsuz etkileyebilmektedir. Bununla birlikte, *Vitis labrusca* L. çeşitlerinin mantar hastalıklarına karşı daha yüksek direnç gösterebilmesi, bu türlerin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde daha kolay yetiştirilebilmesine olanak sağlamaktadır. Isabella adıyla da bilinen *V. labrusca*, aromatik tat ve koku özellikleriyle tanımlanmakta; kolay soyulabilen kalın kabuk yapısıyla dikkat çekmektedir. Bu üzüm çeşidi, özellikle Doğu Karadeniz'de çoğunlukla sofralık üzüm veya meyve suyu olarak tüketilmektedir (Aydemir ve Göksu, 2023).

Isabella üzümü, farklı üzüm çeşitleri arasında çevresel koşullara uyum sağlayabilen dayanıklı çeşitlerden biri olarak değerlendirilmektedir. Özellikle sıcak ve nemli koşullara dayanıklılığı ile öne çıkmaktadır. Kendine özgü aromatik karakteri nedeniyle şarap üretiminde her zaman öncelikli olarak tercih edilmese de, Brezilya Isabella üzümünün önemli yetiştiricilerinden biri olup bu üzüm çeşidi özellikle meyve suyu üretiminde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Gobilik ve Enggihon, 2019).

1.1. Isabella Üzümünün Kimsayal Bileşimi ve Polifenoller

Üzüm meyvesinin bileşiminde en yüksek oranda su ve mineral tuzları bulunmakta; bunları şekerler, polimerler, lifler, yağ asitleri, organik asitler, vitaminler, terpenler ve polifenoller izlemektedir. Bu bileşenlerin üzümün antioksidan, bağırsak mikrobiyotasını düzenleyici, kardiyoprotektif, antidiyabetik ve antikanser potansiyeli gibi çeşitli biyolojik etkileriyle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Söz konusu biyolojik etkilerin önemli bir bölümünün ise özellikle polifenolik bileşiklerle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (Rached vd., 2024).

Polifenoller, bitkilerde yaygın olarak bulunan sekonder metabolitler arasında yer almaktadır. Bitkilerde birincil

metabolizma; fotosentez, solunum, karbonhidrat, lipit ve protein biyosentezi, çözünmüş madde taşınımı, besin özümlemesi ve doku farklılaşması gibi büyüme, üreme ve yaşamın sürdürülmesi için gerekli temel süreçleri kapsamaktadır. Bu süreçlerden türetilen amino asitler, nükleotidler, karbonhidratlar ve yağ asitleri gibi bileşikler ise birincil metabolitler olarak tanımlanmaktadır. Birincil metabolizma bitki âleminde yaygın ve temel bir özellik gösterirken, sekonder metabolitler birincil metabolitlerin çeşitli biyosentetik modifikasyonları sonucunda oluşmakta ve bitki türleri arasında farklılık gösterebilmektedir (Marchiosi vd., 2020).

Sekonder metabolitler, bitkinin normal gelişim süreçlerine katkı sağlayabilmelerinin yanı sıra UV maruziyeti, patojen saldırıları ve çevresel stres koşullarına yanıt olarak da sentezlenebilmektedir. Bitki sekonder metabolitleri genel olarak fenolik bileşikler, terpenler ve steroidler ile azot içeren bileşikler olmak üzere üç ana grupta değerlendirilmektedir. Bu gruplar içinde yer alan fenolik bileşikler, bitkilerde başlıca fenilpropanoid yolu üzerinden sentezlenmekte ve oldukça çeşitli moleküler yapılar sahip olmalarıyla dikkat çekmektedir. Ayrıca çiçek ve meyve gibi bitki kısımlarında renk oluşumuna katkı sağlayabilmektedirler (Twaij ve Hasan, 2022).

Fenolik bileşikler, yapılarında bulunan fenol halkalarının sayısı ve yapısal özellikleri dikkate alınarak fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, lignanlar ve diğer fenolik bileşikler şeklinde sınıflandırılmaktadır. Diğer fenolik bileşikler arasında tanenler, ksantonlar, kromonlar ve antrakınonlar yer almaktadır. Flavonoidler ise flavonoller, izoflavonlar, flavanonlar ve antosiyaninler gibi alt grupları içeren geniş bir bileşik sınıfını oluşturmaktadır. Fenolik asitler temel olarak hidroksisinnamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Prabhu vd., 2021).

2. ISABELLA ÜZÜMÜ FENOLİK BİLEŞENLERİ

Üzüm meyvesinde polifenolik bileşiklerin dokuya göre dağılımı farklılık gösterebilmektedir. Bu bileşiklerin yaklaşık %60-70'inin çekirdekte, %20-30'unun kabukta ve yaklaşık %10'unun meyve etinde bulunduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, doğal ürünlerin fenolik bileşimi; yetiştirilme koşulları, iklim, toprak özellikleri, çeşit, olgunluk düzeyi ve işleme koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir (Zhao vd., 2020).

Dünya genelinde yetiştirilen üzümlerin önemli bir bölümü şarap, meyve suyu ve benzeri işlenmiş ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Üzümde fenolik bileşiklerin özellikle kabuk ve çekirdek gibi kısımlarda yoğunlaşması, üzüm işleme artıklarını da biyoaktif bileşikler açısından önemli bir araştırma konusu haline getirmektedir. Üzüm posası olarak adlandırılan atık fraksiyon; kabuk, çekirdek, sap ve posa gibi kısımlardan oluşan organik bir materyaldir. İşleme sırasında biyoaktif polifenolik bileşiklerin bir kısmı ürüne geçerken, önemli bir bölümünün posa içerisinde farklı formlarda kalabildiği bildirilmektedir. Bu nedenle üzüm işleme artıkları, fenolik bileşenler açısından değerlendirilebilecek potansiyel kaynaklar arasında yer almakta; gıda, kozmetik ve nutrasötik alanlarda kullanım açısından ilgi çekmektedir. Ayrıca bu atıkların güvenli ve kullanılabilir formlara dönüştürülmesi, sürdürülebilirlik ve çevresel atık yönetimi açısından da önem taşımaktadır. Üzüm polifenollerinin antioksidan ve kardiyoprotektif potansiyelleriyle ilişkilendirilmesi, bu bileşiklerin ve polifenolce zengin yan ürünlerin değerlendirilmesine yönelik çalışmaları desteklemektedir (Averilla vd., 2019).

2.1. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerde fenilpropanoid yolu aracılığıyla fenilalaninden sentezlenen sekonder metabolitler arasında yer

almaktadır. Bu biyosentetik yol üzerinden kalkon sentaz enzimi aracılığıyla flavonoidler, stilben sentaz enzimi aracılığıyla ise stilbenler oluşabilmektedir. Flavonoidler; flavonoller, flavanonlar, izoflavonlar, flavan-3-oller, flavonlar ve antosiyaninler olmak üzere farklı alt sınıflara ayrılmaktadır. Genel olarak C₆-C₃-C₆ karbon iskeletine sahip olan bu bileşikler, meyvelerde sarı, kırmızı ve mavi renk oluşumuna katkı sağlayabilmektedir. Bitkisel dokularda çoğunlukla serbest formda değil, glikozitleri veya esterleşmiş formları halinde bulunabildikleri bildirilmektedir (Haminiuk vd., 2012).

Isabella üzümünün çekirdek kısmının flavonoidler açısından önemli bir kaynak olabileceği bildirilmektedir. Özellikle flavan-3-oller bu açıdan öne çıkmaktadır. Çekirdeklerde en yüksek miktarda bildirilen flavonoidlerin kateşin ve epikateşin olduğu raporlanmıştır. Bunun yanında rutin, krisin, pinosembrin ve luteolin varlığı da çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Zhao vd., 2020; Burin vd., 2014; Kavgacı vd., 2023). Meyve etinin ise flavonoid içeriği bakımından daha sınırlı bir profile sahip olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, meyve etinde de krisin, pinosembrin, luteolin ve epikateşin varlığı bildirilmiş; bazı çalışmalarda en yüksek konsantrasyonda bulunan flavonoidin krisin olduğu rapor edilmiştir (Kavgacı vd., 2023). Şarap ve meyve suyu üretimi sonrası oluşan Isabella üzümü posalarının incelendiği çalışmalarda kuersetin, rutin, kemferol ve mirisetin varlığı bildirilmektedir (Rockenbach vd., 2011; Burin vd., 2014). Ayrıca Isabella üzümünden elde edilen üzüm suyu ve şaraplarda kateşin, epikateşin ve kuersetin konsantrasyonlarının yüksek olabildiği; bu bileşiklerin işleme sırasında sıraya geçebildiği yönünde bulgular mevcuttur (Neira-Ospina vd., 2024). Isabella üzümünün yapraklarının fitokimyasal açıdan değerlendirildiği çalışmalarda ise başlıca kuersetin tespit edilmiş, daha düşük düzeyde rutin varlığı da bildirilmiştir (Dresch vd., 2014).

Flavonoidlerin bir alt sınıfı olan antosiyaninler, üzüm meyvesinin renk özellikleri açısından önemli bileşikler arasında yer almaktadır. Antosiyanin sentezinin meyvenin olgunlaşma sürecinde arttığı ve belirli bir olgunluk düzeyinden sonra yavaşlayabildiği ya da durabildiği bildirilmektedir. Bitkilerde antosiyanin sentezi sitozolde gerçekleşmekte, sentezlenen bileşikler daha sonra vakuollerde depolanmaktadır. Antosiyaninler bitkisel dokularda genellikle glikozillenmiş formda bulunmakta ve glikozillenmiş formlarının aglikon formlarına göre daha stabil olduğu bilinmektedir (Flamini vd., 2013).

Antosiyaninlerin yapısal özellikleri, pigmentin renk karakterini ve stabilitesini etkileyebilmektedir. Molekülün C-3 ve C-5 pozisyonlarındaki glikozilasyon, algılanan renk üzerinde etkili olup 3-glukozit türevlerinin 3,5-diglukozit türevlerine kıyasla daha yoğun renk gösterebildiği bildirilmektedir. *Vitis labrusca* üzümlerinde ise sıklıkla 3,5-O-diglukozit antosiyaninlerin tespit edildiği raporlanmaktadır. Antosiyaninlerin renk tonları bileşiğin yapısına göre kırmızıdan maviye kadar değişebilmektedir. Bu kapsamda delfinidin türevleri daha çok mavi tonlarla, siyanidin türevleri ise kırmızımsı renklerle ilişkilendirilmektedir. Üzüm türlerinde yaygın olarak bildirilen antosiyanin türevleri arasında delfinidin, siyanidin, petunidin, peonidin ve malvidin yer almaktadır. Toplam antosiyanin miktarı ise çoğunlukla malvidin-3-O-glukozit eşdeğeri olarak ifade edilmektedir (Flamini vd., 2013).

Üzümlerde antosiyaninler özellikle kabuk kısmında yoğunlaşmakta ve meyvenin renk karakterinin oluşumunda temel rol oynamaktadır. Bu nedenle şarap, meyve suyu ve benzeri ürünlerin üretimi sonrasında oluşan kabuk ve posa fraksiyonları da antosiyaninler açısından değerlendirilebilecek kaynaklar arasında yer almaktadır (Rockenbach vd., 2011; Burin vd., 2014). Antosiyanin bileşimi ise üzüm türleri ve genotipleri arasında

belirgin farklılıklar gösterebilmektedir. Literatürde *V. vinifera* türlerinde antosiyaninlerin çoğunlukla 3-monoglukozit türevleri şeklinde bulunduğu, diglukozit türevlerine ise bu türde rastlanmadığı bildirilmektedir. Buna karşılık *V. vinifera* ve *V. labrusca* melezlerinde hem monoglukozit hem de diglukozit türevlerinin bulunabilmesi, antosiyanin profilinin tür ve genetik kökene bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Geniş çeşitlilikte üzüm kabuklarının değerlendirildiği bir çalışmada ise tüm antosiyaninler içerisinde malvidin türevlerinin en bol bulunan grup olduğu ve toplam antosiyaninlerin yaklaşık %69'unu oluşturduğu bildirilmiştir (Liang vd., 2008).

Isabella üzümü gibi *V. labrusca* kökenli çeşitlerde antosiyanin içeriği yalnızca tür özelliğiyle sınırlı olmayıp yetiştirme bölgesi, genotip, olgunluk derecesi ve işleme koşulları gibi birçok faktörden etkilenebilmektedir. Brezilya'da yetiştirilen Isabella üzümlerinden elde edilen şaraplarda toplam antosiyanin miktarının 88.76–258.88 mg/L siyanidin-3-glukozit eşdeğeri aralığında değiştiği raporlanmıştır. Bu farklılığın, şarap üretiminde farklı üzüm çeşitlerinin karıştırılmasıyla ilişkili olabileceği gibi, antosiyanin miktarının üzümün olgunluk düzeyine bağlı olarak değişmesinden de kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Arcanjo vd., 2017). Benzer şekilde, Bolu'da yetiştirilen farklı *V. labrusca* varyetelerine ait 72 genotipin incelendiği bir çalışmada toplam monomerik antosiyanin miktarının 16.37–83.50 mg/L siyanidin-3-glukozit eşdeğeri arasında dağılım göstermesi, aynı tür içinde dahi genotip farklılıklarının antosiyanin birikimi üzerinde etkili olabileceğini desteklemektedir (Güler vd., 2023).

Bu bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, üzüm antosiyanin profilinin tür, genotip, yetiştirme çevresi, olgunluk düzeyi ve ürün işleme basamaklarından etkilenebileceği anlaşılmaktadır. Ayrıca *V. labrusca* türlerinde toplam fenolik madde miktarı ile toplam antosiyanin içeriği arasında negatif

korelasyon bildirilmiş olması, fenolik bileşik gruplarının birikiminin her zaman paralel ilerlemeyebileceğini göstermesi açısından dikkat çekicidir (Güler vd., 2023). Bu nedenle Isabella üzümünün antosiyanin içeriği değerlendirilirken yalnızca toplam miktarın değil; antosiyaninlerin yapısal dağılımının, genotipik farklılıkların, çevresel koşulların ve işleme süreçlerinin de birlikte ele alınması gerekmektedir.

2.2. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, yapısında asidik grup bulunduran fenolik bileşikler olup diyetle alınan polifenoller içerisinde önemli bir grup olarak değerlendirilmektedir. Bu bileşiklerin temel yapısı tek bir aromatik halkadan oluşmakta ve yapısal özelliklerine göre başlıca hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Hidroksibenzoik asitler, aromatik halkaya doğrudan bağlı bir karboksil grubu içermekte ve genel olarak C₆-C₁ karbon iskeletine sahip olmaktadır. Gallik asit, protokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit ve siringik asit bu grupta yer alan başlıca bileşikler arasındadır. Hidroksisinnamik asitler ise 2-propenoik asit grubu taşımakta ve C₆-C₃ karbon iskeletiyle karakterize edilmektedir. Ferulik asit, kafeik asit, p-kumarik asit ve sinapik asit bu grup için örnek olarak verilebilmektedir. Bitkilerde sinnamik asitten türetilen basit fenolik asitlerin biyosentezi, şikimat ve fenilpropanoid yollarının katılımıyla gerçekleşmektedir. Fenolik asitler meyveler, baklagiller, yulaf, tahıllar, yağlar ve bu ürünlerin yan ürünleri gibi çeşitli gıda kaynaklarında bulunabilmektedir (Da Silva vd., 2025). Bitkisel dokularda ise çoğunlukla serbest formdan ziyade esterleşmiş formlarda yer aldıkları bildirilmektedir (Haminiuk vd., 2012).

Üzüm türlerinin fenolik bileşimi ağırlıklı olarak flavonoidlerle ilişkilendirilse de, farklı fenolik asitlerin varlığı da Isabella üzümünün fenolik profiline katkı sağlamaktadır.

Literatürde bildirilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, Isabella üzümünde fenolik asit dağılımının meyve dokusuna ve işleme sonrası elde edilen fraksiyona göre değişebildiği görülmektedir. Özellikle çekirdek ve posa gibi kısımların, meyve etine kıyasla daha belirgin bir fenolik asit içeriğine sahip olduğu dikkat çekmektedir (Rockenbach vd., 2011).

Isabella üzümünde en sık bildirilen fenolik asitlerden biri gallik asittir. Hidroksibenzoik asit yapısında olan bu bileşiğin özellikle çekirdeklerde ve şarap üretimi sonrası oluşan posa fraksiyonlarında tespit edildiği bildirilmektedir (Rockenbach vd., 2011; Kavgacı vd., 2023). Karadeniz Bölgesi'nde yetiştirilen Isabella üzümlerinin değerlendirildiği bir çalışmada gallik asidin meyve etinde tespit edilmediği, buna karşılık çekirdeklerde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu raporlanmıştır (Kavgacı vd., 2023). Brezilya kökenli Isabella örneklerinde yapılan çalışmalarda da gallik asit varlığının bildirilmiş olması, bu bileşiğin Isabella üzümünün özellikle çekirdek ve posa gibi fenolikçe zengin fraksiyonlarında öne çıkabileceğini düşündürmektedir (Rockenbach vd., 2011; Burin vd., 2014). Gallik aside ek olarak Isabella üzümünde farklı hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asit türevlerinin de varlığı bildirilmektedir. Kafeik asit ve kafeik asit fenetil esterinin meyve eti ve çekirdek kısımlarında tespit edildiğine yönelik bulgular mevcuttur (Kavgacı vd., 2023). Bunun yanında *p*-kumarik asit, *t*-sinnamik asit, *t*-kaftarik asit ve ferulik asit gibi hidroksisinnamik asit türevleri de çeşitli çalışmalarda raporlanmıştır (Burin vd., 2014; Kavgacı vd., 2023; Kara vd., 2025). Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, Isabella üzümünde fenolik asit profilinin yalnızca tek bir bileşikle sınırlı olmadığı; ancak doku dağılımı açısından çekirdek ve posa fraksiyonlarının meyve etine göre daha zengin bir kaynak olabileceği anlaşılmaktadır.

2.3. Stilbenler

Stilbenler, polifenoller içerisinde yer alan ve bitkilerde daha sınırlı ancak farklı taksonomik gruplara dağılmış şekilde bulunan özelleşmiş metabolitlerdir. Yapısal olarak etilen köprüsüyle birbirine bağlanan iki benzen halkasından oluşan C₆-C₂-C₆ karbon iskeletiyle karakterize edilmektedir. Aromatik halkalar arasında yer alan merkezi etilen grubu nedeniyle stilbenler cis ve trans izomerleri halinde bulunabilmektedir. Doğal kaynaklarda ise çoğunlukla trans formun daha yaygın olduğu bildirilmektedir. Bu bileşik sınıfı içinde resveratrol, özellikle üzüm ve üzüm ürünleriyle ilişkilendirilen en iyi bilinen stilbenlerden biridir (Teka vd., 2022).

Stilbenlerin bitkilerdeki biyosentezi genel olarak şikimat ve fenilpropanoid yollarıyla ilişkilidir. Şikimat yolu aracılığıyla oluşan aromatik amino asitlerden fenilalanin, fenilpropanoid metabolizmasının başlangıç moleküllerinden biri olarak görev yapmaktadır. Bu metabolik yol üzerinden farklı fenolik bileşik grupları sentezlenebilmekte; stilbenlerin oluşumunda ise stilben sentaz enzimi anahtar rol oynamaktadır. Stilben sentaz enziminin bitki âleminde yaygın bir dağılım göstermemesi, stilbenlerin belirli bitki familyalarında daha sınırlı bulunmasının nedenlerinden biri olarak değerlendirilmektedir (Teka vd., 2022; Valletta vd., 2021).

Bitkisel metabolizma açısından stilbenler, çoğunlukla savunma mekanizmalarıyla ilişkilendirilen bileşiklerdir. Patojen enfeksiyonları, UV radyasyonu, oksidatif stres, ozon maruziyeti ve diğer biyotik ya da abiyotik stres koşulları stilben sentezini uyarabilmektedir. Bu yönüyle stilbenler, fitoaleksin olarak tanımlanan ve bitkinin stres koşullarına karşı geliştirdiği kimyasal savunma yanıtının bir parçası olarak değerlendirilmektedir. Özellikle resveratrol ve türevleri, asma gibi bazı bitkilerde

enfeksiyon ve çevresel streslere yanıt olarak birikebilen stilben bileşikleri arasında yer almaktadır (Teka vd., 2022).

Stilbenler yapısal açıdan yalnızca resveratrol ile sınırlı değildir. Basit stilbenler, dihidrostilbenler, pinosilvin türevleri, piceatannol, pterostilben ve viniferinler gibi monomerik ya da oligomerik yapılar bu grup içerisinde değerlendirilebilmektedir. Bu çeşitlilik, stilbenlerin hem bitki fizyolojisindeki rollerinin hem de biyolojik aktivite potansiyellerinin farklılaşmasına neden olabilmektedir. Stilben türevleri arasında resveratrol, üzerinde en fazla çalışılan bileşiklerden biri olmakla birlikte, son yıllarda pterostilben, piceatannol ve viniferin gibi diğer stilben türevlerine yönelik ilgi de artmıştır (Valletta vd., 2021).

Stilbenler çeşitli bitki familyalarında tanımlanmış olmakla birlikte, beslenme açısından en fazla dikkat çeken kaynaklardan biri Vitaceae familyasıdır. Bu familya içerisinde yer alan *Vitis* türleri, özellikle üzüm, üzüm kabuğu, üzüm çekirdeği, üzüm posası ve şarap gibi ürünlerde bulunan stilben bileşikleri nedeniyle araştırmalara konu olmaktadır. Üzüm ve üzüm ürünleri, diyetle alınabilen stilben kaynakları arasında değerlendirilmekte; bunun yanında yer fıstığı, bazı orman meyveleri, kakao ve bazı tıbbi bitkilerde de stilben türevlerinin bulunabileceği bildirilmektedir (Valletta vd., 2021).

Stilbenlere yönelik bilimsel ilgi büyük ölçüde resveratrol üzerinden şekillenmiştir. Resveratrol ve diğer bazı stilben türevleri antioksidan, antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanser ve yaşlanma karşıtı potansiyelleri açısından çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarda incelenmektedir. Bununla birlikte bu etkilerin bileşiğin formuna, dozuna, biyoyararlanımına, uygulama yoluna ve kullanılan deneysel modele bağlı olarak değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle stilbenlerin biyolojik aktiviteleri değerlendirilirken doğrudan sağlık etkisi iddiasından kaçınılmalı;

mevcut bulgular daha çok potansiyel etkiler ve araştırma alanları çerçevesinde ele alınmalıdır (Teka vd., 2022; Valletta vd., 2021).

Üzüm türleri açısından stilbenler, fenolik bileşik profilinin flavonoidler ve fenolik asitlere kıyasla daha küçük bir bölümünü oluşturabilmekle birlikte, biyolojik aktivite ve bitki savunmasıyla ilişkileri nedeniyle dikkat çekici bir grup olarak değerlendirilmektedir. Özellikle *Vitis* türlerinde resveratrol ve türevlerinin varlığı, üzümün fitokimyasal bileşimini yalnızca renk, tat ve antioksidan kapasite yönünden değil, aynı zamanda stres yanıtı ve fonksiyonel ürün geliştirme potansiyeli açısından da önemli hale getirmektedir. Bu nedenle Isabella üzümü gibi *Vitis labrusca* kökenli çeşitlerde stilben bileşiklerinin varlığı, miktarı ve dokulara göre dağılımı ayrıca değerlendirilmesi gereken konular arasında yer almaktadır (Valletta vd., 2021).

Isabella üzümü, stilbenler içerisinde özellikle resveratrol varlığı açısından dikkat çeken *V. labrusca* kökenli çeşitlerden biri olarak değerlendirilmektedir. *V. labrusca* ve *V. vinifera* türleri üzerinde yapılan karşılaştırmalı analizlerde, Isabella üzümünde belirlenen resveratrol düzeylerinin bazı örneklerde *V. vinifera* çeşitleriyle karşılaştırılabilir düzeyde olduğu, bazı örneklerde ise daha yüksek değerler gösterebildiği bildirilmiştir (Burin vd., 2014). Bu durum, Isabella üzümünün resveratrol içeriği açısından değerlendirmeye değer bir fenolik kaynak olabileceğini düşündürmektedir. Isabella üzümünün farklı dokularının incelendiği çalışmalarda, resveratrolün özellikle kabuk kısmında belirgin düzeylerde bulunabildiği belirtilmektedir. Bunun yanında çekirdek fraksiyonunun da resveratrol içeriği bakımından katkı sağlayabileceği raporlanmıştır (Santos vd., 2011). Üzümün işlenmesiyle elde edilen ürünlerde de resveratrol varlığına ilişkin bulgular mevcuttur. Isabella üzümünden üretilen şarap ve meyve sularında resveratrol tespit edildiği, ayrıca üretim sonrasında kalan posa fraksiyonunda da bu bileşiğin bulunabildiği bildirilmektedir (Neira-Ospina vd., 2024). Bu

bulgular, Isabella üzümünde resveratrol dağılımının yalnızca taze meyve dokularıyla sınırlı olmadığını; işlenmiş ürünler ve yan ürünler açısından da değerlendirilmesi gereken bir özellik taşıdığını göstermektedir.

3. SONUÇ

Sonuç olarak Isabella üzümü, fenolik bileşik profili bakımından farklı bileşik gruplarını bir arada bulunduran dikkat çekici bir bitki olarak değerlendirilebilir. Literatür bulguları, bu üzüm çeşidinde flavonoidlerin, fenolik asitlerin, antosiyaninlerin ve stilbenlerin farklı meyve dokularında değişen düzeylerde bulunabildiğini göstermektedir. Özellikle çekirdek kısmında kateşin, epikateşin, rutin ve gallik asit gibi bileşiklerin; meyve etinde krisin, pinosembirin ve bazı fenolik asit türevlerinin; kabuk ve posa fraksiyonlarında ise antosiyaninler, kuersetin türevleri ve resveratrol gibi bileşiklerin öne çıkabildiği bildirilmektedir. Bu dağılım, Isabella üzümünün fenolik bileşiminin yalnızca taze meyve ile sınırlı olmadığını, aynı zamanda işleme sonrası ortaya çıkan posa, kabuk ve çekirdek gibi yan ürünlerin de biyoaktif bileşikler açısından değerlendirilebilecek potansiyel kaynaklar arasında yer aldığını göstermektedir. Bununla birlikte fenolik bileşik içeriğinin genotip, yetiştirme bölgesi, çevresel koşullar, olgunluk düzeyi, meyve dokusu, işleme basamakları ve kullanılan analiz yöntemlerine bağlı olarak değişebileceği dikkate alınmalıdır. Bu nedenle Isabella üzümünün antioksidan kapasite, renk özellikleri, ürün kalitesi ve fonksiyonel ürün geliştirme potansiyeli açısından değerlendirilmesinde yalnızca toplam fenolik içerik değil, bireysel fenolik bileşiklerin yapısal dağılımı ve dokulara göre değişimi de birlikte ele alınmalıdır.

KAYNAKÇA

- Arcanjo, N. M. de O., Neri-Numa, I. A., Bezerra, T. K. A., Silva, F. L. H. da, Pastore, G. M., & Madruga, M. S. (2017). Quality evaluation of red wines produced from the Isabella and Ives cultivar (*Vitis labrusca*): Physicochemical parameters, phenolic composition and antioxidant activity. *Food Science and Technology (Campinas)*, 37, 184–192.
- Averilla, J. N., Oh, J., Kim, H. J., Kim, J. S., & Kim, J. S. (2019). Potential health benefits of phenolic compounds in grape processing by-products. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1607.
- Aydemir, B. Ç., & Göksu, B. (2023). Phenological, morphological and genetic characterization of local grapevine (*Vitis labrusca* L.) genotypes grown in the Black Sea Region in Northern Turkey. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 35, 774–781.
- Burin, V. M., Ferreira-Lima, N. E., Panceri, C. P., & Bordignon-Luiz, M. T. (2014). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. *Microchemical Journal*, 114, 155–163.
- Da Silva, A. P. G., Sganzerla, W. G., John, O. D., & Marchiosi, R. (2025). A comprehensive review of the classification, sources, biosynthesis, and biological properties of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids. *Phytochemistry Reviews*, 24(2), 1061–1090.
- Dresch, R. R., Dresch, M. K., Guerreiro, A. F., Biegelmeyer, R., Holzschuh, M. H., Rambo, D. F., & Henriques, A. T. (2014). Phenolic compounds from the leaves of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* L. as a source of waste

byproducts: Development and validation of LC method and antichemotactic activity. *Food Analytical Methods*, 7(3), 527–539.

- Flamini, R., Mattivi, F., De Rosso, M., Arapitsas, P., & Bavaresco, L. (2013). Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: Anthocyanins, stilbenes and flavonols. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 19651–19669.
- Gobilik, J., & Enggihon, J. (2019). Some aspects on growth, yield, phenology and grape quality of ‘Isabella’ grapevine (*Vitis × labruscana*) planted in Sandakan, Sabah as ornamental plant. *Transactions on Science and Technology*, 6, 235–252.
- Güler, E., Kan, E., & Ünal, M. S. (2023). The diversity in grapes of *Vitis labrusca* grown in Bolu (Türkiye) assessed by multivariate approaches. *Genes*, 14.
- Haminiuk, C. W., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits: An overview. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(10), 2023–2044.
- Kara, Y., Aybar, M., & Kolaylı, S. (2025). Physicochemical, phenolic, and antioxidant profiles of *Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L. grapes from Artvin, Eastern Black Sea Region. *Journal of Food Science*, 90, e70435.
- Kavgacı, M., Yukunc, G. O., Keskin, M., Can, Z., & Kolaylı, S. (2023). Comparison of phenolic profile and antioxidant properties of pulp and seeds of two different grapes types (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) grown in Anatolia. *Chemistry Africa*, 6, 2463–2469.
- Köse, B., Uray, Y., Bayram, K., & Türk, F. (2024). Cold hardiness degrees of some *Vitis vinifera* L. and *Vitis*

- labrusca* L. cultivars grown in temperate climate condition. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 35(1), 253–262.
- Liang, Z., Wu, B., Fan, P., Yang, C., Duan, W., Zheng, X., ... Li, S. (2008). Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm. *Food Chemistry*, 111, 837–844.
- Marchiosi, R., dos Santos, W. D., Constantin, R. P., de Lima, R. B., Soares, A. R., Finger-Teixeira, A., ... Ferrarese-Filho, O. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. *Phytochemistry Reviews*, 19(4), 865–906.
- Neira-Ospina, E., Rojas, J., Santa-Gonzalez, G. A., & Garzón, M. A. G. (2024). Phenolic compounds in grapes genus *Vitis*: A review of their antioxidant activity, antiproliferative capacity, and cytotoxic effect on colorectal cancer. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 14(6), 071–089.
- Prabhu, S., Molath, A., Choksi, H., Kumar, S., & Mehra, R. (2021). Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. *International Journal of Physiology, Nutrition and Physical Education*, 6(1), 293–301.
- Rached, R. A., Perra, M., Manca, M. L., Rajha, H. N., Louka, N., Maroun, R. G., & Firoznejhad, M. (2024). Exploring the efficacy and industrial potential of polyphenol products from grapes and their by-products. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 42, 101805.
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliari, V., Genovese, M. I., Gonçalves, A. E. D. S. S., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant

- activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, 127(1), 174–179.
- Santos, L. P., Morais, D. R., Souza, N. E., Cottica, S. M., Boroski, M., & Visentainer, J. V. (2011). Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* grapes. *Food Research International*, 44(5), 1414–1418.
- Teka, T., Zhang, L., Ge, X., Li, Y., Han, L., & Yan, X. (2022). Stilbenes: Source plants, chemistry, biosynthesis, pharmacology, application and problems related to their clinical application: A comprehensive review. *Phytochemistry*, 197, 113128.
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14.
- Valletta, A., Iozia, L. M., & Leonelli, F. (2021). Impact of environmental factors on stilbene biosynthesis. *Plants*, 10(1), 90.
- Zhao, D., Simon, J. E., & Wu, Q. (2020). A critical review on grape polyphenols for neuroprotection: Strategies to enhance bioefficacy. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(4), 597–625.

BİTKİSEL KAYNAKLI FENOLİK BİLEŞENLERİN HPLC ANALİZ METOTLARI

Erol TUNCA¹

Zeynep Berin ÇELEBİ^{2,3}

1. GİRİŞ

Fenolik bileşikler yapılarında hidroksil “-OH” bulunduran aromatik yapılardır. Hidroksil bir veya birden fazla olabilmekle birlikte aromatik yapıya bağlıdır. Fenolik bileşikler, doğal ürünlerin sekonder metabolitlerinin önemli bir kısmıdır. Fenolik bileşikler, hidroksil yapısının aromatik halkaya bağlanması ve sayısının farklılığı nedeniyle farklı şekillerde sınıflandırılırlar. Fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler bunlara örnek gösterilebilir. Bu yapıların ortak noktası yapısında aromatik halka bulunması ve bu yapıya bağlı bir hidroksil grubunun bulunmasıdır. Bununla birlikte fenolik asitler bir karboksilik asit rubu bulundururken, flavonoidler karboksilik asit grubu bulundurmadan iki aromatik halka ve bir heterosiklik halka bulundurabilir. Tanenler ise fenolik asitlere kıyasla molekül ağırlığı oldukça yüksek olabilmektedir. Bu yapısal farklılıklar ve ortak özellikler, toplam fenolik madde tayini ile yalnızca flavonoidler veya tanenler gibi belirli grupların tayinine yönelik farklı analitik yaklaşımların geliştirilmesine yol açmıştır (Ignat vd., 2011; Tsao, 2010).

¹ Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya bölümü, 61080 Trabzon, Türkiye, ORCID: 0009-0006-3548-0085

² Karadeniz Teknik Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 61080 Trabzon, Türkiye.

³ Biyokimya Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 61080 Trabzon, Türkiye, ORCID: 0009-0001-2606-8973.

Fenolik bileşiklerin miktarı, türü ve çeşitliliği doğal ürünün cinsine ya da orijinine göre oldukça değişmektedir. Bu çeşitlilik ve fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerini de göz önüne alındığında oldukça farklı alanların dikkatini çekmiştir. Gıda, farmasötik, kozmetik ve doğal ürün araştırmaları buna örnek gösterilebilir. Çok sayıda çalışma, fenolik bileşiklerin antioksidan özellik gösterebildiğini bildirmektedir (Manach vd., 2004; Tsao, 2010). Fenolik bileşiklerin bulunduğu bitkisel materyaller, meyveler, sebzeler, çay, kahve ve arı ürünleri bu sebeple antioksidan çalışmalarında yer almaktadır. Bu çalışmalar yapılırken fenolik bileşiklerin tanımlanması antioksidan karakterizasyonunda önem taşımaktadır. Ancak doğal ürünlerin ekstraktları sadece fenolik bileşikler bulundurmaz. Bu sebeple karmaşık matrislerde fenolik bileşikler oldukça az miktarda bulunabildiği gibi izomer yapılarını ayırt edilmesi zor olabilir. Bu sebeple güvenilir bir karakterizasyon yüksek seçici, hassas ve tekrarlanabilir analitik yöntemlere ihtiyaç duyar.

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC), fenolik bileşiklerin ayrılması, tanımlanması ve miktar tayininde en yaygın kullanılan analitik tekniklerden biridir. HPLC sistemleri, farklı polarite ve yapısal özelliklere sahip fenolik bileşiklerin etkin şekilde ayrılmasına olanak sağlamakta; UV, DAD/PDA, floresans ve kütle spektrometrisi gibi farklı dedektörlerle birlikte kullanılarak güvenilir sonuçlar sunmaktadır. Özellikle ters faz HPLC (RP-HPLC) yöntemleri, fenolik asitler ve flavonoidler başta olmak üzere çok sayıda fenolik bileşiğin analizinde kullanılan yöntemlerdendir. Günümüzde HPLC tabanlı yöntemler, fenolik profillemeye çalışmalarından kalite kontrol analizlerine, biyolojik aktivite araştırmalarından gıda otantisite çalışmalarına kadar geniş bir uygulama alanına sahiptir (Stalikas, 2007; Ignat vd., 2011).

2. BİTKİSEL KAYNAKLI FENOLİK BİLEŞİKLERİN SINIFLANDIRILMASI

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve yapılarında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik bileşiklerdir. Bu bileşikler yapısal özelliklerine göre fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, stilbenler ve lignanlar gibi farklı gruplara ayrılmaktadır (Crozier vd., 2009). Bitkilerde savunma mekanizmaları, büyüme ve gelişme süreçleri ile çevresel stres faktörlerine karşı koruma gibi önemli biyolojik işlevlere sahip olan fenolik bileşikler, aynı zamanda insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle yoğun ilgi görmektedir (Tsao, 2010; Manach vd., 2004).

2.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, fenolik bileşiklerin en yaygın ve en basit yapıları gruplarından birini oluşturmaktadır. Temel olarak aromatik halka yapısına bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubu ile karboksilik asit fonksiyonel grubu içermektedirler (Heleno vd., 2015). Fenolik asitler bitkilerde serbest halde bulunabildiği gibi ester veya glikozit formunda da bulunabilmektedir. Bu bileşikler bitki metabolizmasında önemli görevler üstlenmekte ve özellikle antioksidan aktiviteleri ile dikkat çekmektedir (Robbins, 2003).

Fenolik asitler genel olarak hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır.

2.1.1. Hidroksibenzoik Asitler

Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ karbon iskeletine sahip olup benzoik asit türevleri olarak sınıflandırılmaktadır. Bitkilerde yaygın olarak bulunurlar ve özellikle antioksidan aktiviteleri ile bilinmektedirler (Robbins, 2003).

Gallik Asit (Gallic Acid)

Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit), bitkisel kaynaklarda en yaygın bulunan fenolik asitlerden biridir (Heleno vd., 2015). Çay, üzüm, nar, sumak ve çeşitli tıbbi bitkilerde yüksek miktarlarda bulunabilmektedir. Antioksidan özelliğinin yanı sıra antimikrobiyal, antienflamatuvar ve antikanser etkileri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Gallik asit ayrıca hidrolizlenebilir tanenlerin yapısında yer alan temel yapı taşlarından biridir (Robbins, 2003).

Protokateşuik Asit (Protocatechuic Acid)

Protokateşuik asit (3,4-dihidroksibenzoik asit), birçok meyve, sebze ve tıbbi bitkide doğal olarak bulunan bir hidroksibenzoik asittir (Heleno vd., 2015). Serbest radikal giderici özellik göstermekte olup antioksidan aktivitesi nedeniyle sıklıkla araştırılmaktadır. Ayrıca antiinflamatuvar, kardiyoprotektif ve nöroprotektif etkileri üzerine çalışmalar bulunmaktadır (Robbins, 2003).

Vanilik Asit (Vanillic Acid)

Vanilik asit (4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit), lignin metabolizmasının önemli ürünlerinden biridir (Heleno vd., 2015). Vanilya, tam tahıllar ve çeşitli bitkisel ürünlerde bulunabilmektedir. Antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra bazı çalışmalarda antiinflamatuvar aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Robbins, 2003).

2.1.2. Hidroksisinamik Asitler

Hidroksisinamik asitler C6-C3 karbon iskeletine sahip fenolik asitlerdir. Bitkilerde hidroksibenzoik asitlere göre daha yaygın bulunmakta ve çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedirler (Robbins, 2003).

Kafeik Asit (Caffeic Acid)

Kafeik asit (3,4-dihidroksisinamik asit), kahve, meyveler, sebzeler ve birçok tıbbi bitkide bulunan önemli bir fenolik bileşiktir (Heleno vd., 2015). Antioksidan özelliği nedeniyle oksidatif stresle ilişkili hastalıklara karşı koruyucu etkileri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca antimikrobiyal ve antienflamatuvar aktiviteler gösterdiği bildirilmektedir (Robbins, 2003).

Ferulik Asit (Ferulic Acid)

Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinamik asit), özellikle tahıllar, pirinç kepeği ve bitki hücre duvarlarında yaygın olarak bulunmaktadır (Kumar & Pruthi, 2014). Bitki hücre duvarının yapısal bütünlüğüne katkı sağlayan önemli fenolik bileşiklerden biridir. Antioksidan kapasitesinin yüksek olması nedeniyle gıda, kozmetik ve farmasötik uygulamalarda ilgi görmektedir (Robbins, 2003).

p-Kumarik Asit (p-Coumaric Acid)

p-Kumarik asit (4-hidroksisinamik asit), fenilpropanoid metabolizmasının temel ara ürünlerinden biridir (Heleno vd., 2015). Meyveler, sebzeler, tahıllar ve çeşitli bitkisel ürünlerde yaygın olarak bulunur. Antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuvar özellikleri nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuştur. Ayrıca flavonoid ve lignin biyosentez yollarında önemli bir öncü molekül olarak görev yapmaktadır (Robbins, 2003).

Fenolik asitler, bitkisel kaynaklarda yaygın bulunmaları, biyolojik aktiviteleri ve analitik açıdan kolay belirlenebilmeleri nedeniyle fenolik profil çalışmalarında en sık incelenen bileşik grupları arasında yer almaktadır. Özellikle HPLC analizlerinde fenolik asitler, bitkisel materyallerin kimyasal karakterizasyonunda ve kalite kontrol çalışmalarında önemli

biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır (Ignat vd., 2011; Robbins, 2003).

2.2. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerde en yaygın bulunan fenolik bileşik gruplarından biridir ve fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerinden büyük ölçüde sorumlu kabul edilmektedir. Temel olarak iki aromatik halka (A ve B halkaları) ile bunları birbirine bağlayan üç karbonlu heterosiklik bir halkadan (C halkası) oluşan C₆-C₃-C₆ iskeletine sahiptirler (Panche vd., 2016). Yapılarındaki hidroksilasyon, metoksilasyon, glikozilasyon ve diğer modifikasyonlar flavonoidlerin kimyasal ve biyolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir (Tsao, 2010; de Rijke vd., 2006).

Bitkilerde flavonoidler; ultraviyole (UV) ışınlarına karşı koruma, patojen ve zararlılara karşı savunma, pigment oluşumu ve bitki-mikroorganizma etkileşimleri gibi çok sayıda biyolojik süreçte görev almaktadır. İnsan sağlığı açısından ise antioksidan, antienflamatuvar, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antikanser potansiyelleri nedeniyle yoğun olarak araştırılmaktadırlar (Manach vd., 2004; Tsao, 2010).

Kateşin (Catechin)

Kateşin, flavan-3-ol grubuna ait bir flavonoid olup çay, kakao, üzüm ve çeşitli meyvelerde yaygın olarak bulunmaktadır (Bernatoniene ve Kopustinskiene, 2018). Özellikle yeşil çayın temel fenolik bileşenlerinden biridir. Antioksidan özelliği nedeniyle serbest radikallerin uzaklaştırılmasında rol oynadığı bildirilmektedir. Ayrıca kardiyovasküler hastalıklar, inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkili çeşitli sağlık etkileri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Manach vd., 2004).

Epikateşin (Epicatechin)

Epikateşin, kateşinin stereoizomeridir ve benzer biyolojik özellikler göstermektedir (Bernatoniene ve Kopustinskiene, 2018). Kakao, çay, üzüm ve bazı meyvelerde yüksek miktarlarda bulunur. Antioksidan kapasitesi yüksek olan bu bileşiğin damar fonksiyonlarının iyileştirilmesi, oksidatif stresin azaltılması ve kardiyovasküler sağlığın desteklenmesi üzerine olumlu etkileri rapor edilmiştir (Manach vd., 2004).

Kuersetin (Quercetin)

Kuersetin, flavonol grubunun en yaygın üyelerinden biridir ve birçok meyve, sebze ve tıbbi bitkide bulunmaktadır (Anand David vd., 2016). Soğan, elma, üzüm ve çay önemli kuersetin kaynakları arasında yer almaktadır. Antioksidan ve antienflamatuar özelliklerinin yanı sıra antikanser, antiviral ve kardiyoprotektif etkileri nedeniyle en fazla araştırılan flavonoidlerden biridir. Bitkilerde ise UV koruması ve savunma mekanizmalarında önemli rol oynadığı bilinmektedir (de Rijke vd., 2006; Manach vd., 2004).

Kemferol (Kaempferol)

Kemferol, flavonol grubuna ait bir diğer önemli flavonoiddir (Panche vd., 2016). Çay, brokoli, lahana, ıspanak ve çeşitli tıbbi bitkilerde doğal olarak bulunmaktadır. Antioksidan özelliklerinin yanı sıra antienflamatuar, antimikrobiyal ve antikanser etkileri üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Kemferolün hücrel sinyal mekanizmalarını etkileyerek çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynadığı bildirilmektedir (de Rijke vd., 2006).

Rutin (Rutin)

Rutin, kuersetinin bir glikozit türevidir olup flavonol glikozitleri arasında en yaygın bulunan bileşiklerden biridir (Panche vd., 2016). Karabuğday, turunçgiller, üzüm ve çeşitli bitkilerde bulunmaktadır. Antioksidan aktivite göstermesinin

yanı sıra kapiller damarların korunması, damar geçirgenliğinin azaltılması ve kardiyovasküler sistemin desteklenmesi ile ilişkilendirilmektedir. Yapısındaki şeker grubu nedeniyle aglikon formu olan kuersetine göre daha yüksek çözünürlük gösterebilmektedir (de Rijke vd., 2006).

Mirisetin (Myricetin)

Mirisetin, flavonol grubuna ait çok hidroksilli bir flavonoiddir (Panche vd., 2016). Çay, üzüm, dut ve çeşitli meyvelerde doğal olarak bulunmaktadır. Yapısındaki yüksek hidroksil grubu sayısı nedeniyle belirgin antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Ayrıca antimikrobiyal, antidiyabetik, nöroprotektif ve antikanser etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yürütülmektedir (de Rijke vd., 2006).

Flavonoidler, bitkisel kaynaklarda yaygın bulunmaları ve yüksek biyolojik aktivite göstermeleri nedeniyle fenolik profil çalışmalarında önemli yer tutmaktadır. Özellikle HPLC ve HPLC-MS tabanlı analizlerde kateşinler, flavonoller ve flavonoid glikozitleri bitkisel materyallerin kimyasal karakterizasyonunda sıklıkla kullanılan belirteç bileşikler arasında yer almaktadır (de Rijke vd., 2006; Stalikas, 2007).

2.3. Tanenler

Tanenler, yüksek molekül ağırlıklı fenolik bileşikler olup bitkilerde yaygın olarak bulunan ve proteinlerle kompleks oluşturabilme özellikleri ile tanınan önemli sekonder metabolitlerdir (Smeriglio vd., 2017). Tanenler birçok meyve, kabuk, yaprak, tohum ve odunsu bitki dokusunda bulunmakta olup bitkilere karakteristik buruk tat kazandırmaktadır. Bitkilerde temel olarak savunma mekanizmalarının bir parçası olarak görev yapmakta, otçul hayvanlar ve çeşitli mikroorganizmalara karşı koruma sağlamaktadır (Tsao, 2010).

Tanenler genel olarak iki ana gruba ayrılmaktadır: hidrolizlenebilir tanenler ve kondanse tanenler. Hidrolizlenebilir tanenler, gallik asit veya ellagik asit türevlerinin glikoz gibi bir çekirdek moleküle bağlanmasıyla oluşurken, kondanse tanenler flavan-3-ol birimlerinin polimerizasyonu sonucu meydana gelmektedir (Smeriglio vd., 2017). Proantosiyanidinler olarak da bilinen kondanse tanenler, bitkisel kaynaklarda en yaygın bulunan tanen grubunu oluşturmaktadır (Tsao, 2010).

Tanenlerin antioksidan aktivitelerinin yanı sıra antimikrobiyal, antienflamatuvar ve potansiyel antikanser etkileri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak yüksek molekül ağırlıkları ve karmaşık yapıları nedeniyle kromatografik analizleri fenolik asitler ve flavonoidlere göre daha zor olabilmektedir. Bu nedenle tanen analizlerinde sıklıkla HPLC-MS ve ileri analitik tekniklerden yararlanılmaktadır (Tsao, 2010; de Rijke vd., 2006).

2.4. Stilbenler

Stilbenler, iki aromatik halkayı birbirine bağlayan etilen köprüsünden oluşan C6-C2-C6 karbon iskeletine sahip fenolik bileşiklerdir (Crozier vd., 2009). Bitkilerde genellikle stres koşullarına yanıt olarak sentezlenmekte ve fitoaleksin olarak görev yapmaktadırlar. Mantar enfeksiyonları, UV radyasyonu ve çeşitli çevresel stres faktörleri stilben biyosentezini tetikleyebilmektedir (Tsao, 2010).

Bu grubun en iyi bilinen üyesi resveratroidir. Resveratrol özellikle üzüm, kırmızı şarap, yer fıstığı ve bazı tıbbi bitkilerde bulunmaktadır (Salehi vd., 2018). Son yıllarda kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser üzerine potansiyel etkileri nedeniyle yoğun ilgi görmektedir. Bunun yanı sıra pterostilben ve piceid gibi diğer stilben türevleri de çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle araştırılmaktadır (Tsao, 2010).

Stilbenler bitkilerde flavonoid ve fenolik asitlere göre daha düşük miktarlarda bulunmalarına rağmen yüksek biyolojik aktiviteleri nedeniyle önemli fenolik bileşik grupları arasında yer almaktadır. HPLC ve özellikle HPLC-MS sistemleri stilbenlerin belirlenmesinde en yaygın kullanılan analitik yöntemlerdir (Tsao, 2010).

2.5. Lignanlar

Lignanlar, fenilpropanoid yapısındaki iki C6-C3 biriminin oksidatif birleşmesi sonucu oluşan fenolik bileşiklerdir (Rodríguez-García vd., 2019). Bitkilerde yaygın olarak bulunmakta ve özellikle tohumlar, tahıllar, baklagiller ve çeşitli tıbbi bitkilerde yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmektedir. Ketan tohumu, susam ve tam tahıllar lignanlar açısından zengin kaynaklar arasında yer almaktadır (Tsao, 2010).

Bitkilerde lignanlar savunma mekanizmalarında görev almakta ve çevresel stres koşullarına karşı koruyucu rol üstlenmektedir. İnsan beslenmesinde ise fitoöstrojen özellikleri nedeniyle dikkat çekmektedirler (Rodríguez-García vd., 2019). Enterolakton ve enterodiol gibi metabolitlere dönüşebilen lignanların kardiyovasküler hastalıklar, hormon ilişkili kanserler ve çeşitli metabolik hastalıklar üzerindeki potansiyel etkileri araştırılmaktadır (Tsao, 2010).

Başlıca lignanlar arasında secoisolariciresinol, matairesinol, lariciresinol ve pinoresinol bulunmaktadır. Bu bileşikler yapısal çeşitlilikleri ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle doğal ürün kimyası ve gıda bilimleri alanlarında önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır. HPLC-DAD, HPLC-MS ve UHPLC-MS sistemleri lignanların ayrılması, tanımlanması ve miktar tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ignat vd., 2011; Tsao, 2010).

Tanenler, stilbenler ve lignanlar, fenolik asitler ve flavonoidler kadar yaygın çalışılmamakla birlikte, sahip oldukları

biyolojik aktiviteler ve doğal ürünlerin fenolik profiline katkıları nedeniyle fenolik bileşikler sınıflandırmasında önemli yer tutmaktadır. Bu bileşiklerin güvenilir şekilde belirlenmesi ve karakterizasyonu, doğal ürünlerin kimyasal yapılarının ve biyolojik potansiyellerinin anlaşılmasında önemli katkılar sağlamaktadır (Tsao, 2010).

3. FENOLİK BİLEŞİKLERİN HPLC ANALİZİNDE KULLANILAN MOBİL FAZ SİSTEMLERİ

Fenolik bileşiklerin HPLC ile analizinde başarılı bir ayırımın elde edilmesi, uygun mobil faz sisteminin seçilmesine bağlıdır. Mobil faz bileşimi, fenolik bileşiklerin alıkonma davranışlarını, pik şekillerini, analiz süresini ve ayırım verimini doğrudan etkilemektedir. Fenolik bileşiklerin büyük çoğunluğu orta ve yüksek polariteye sahip olduğundan, ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) sistemlerinde genellikle su-organik çözücü karışımları kullanılmaktadır. Organik çözücü olarak en yaygın tercih edilen bileşikler metanol ve asetonitrildir (Tsao & Yang, 2003). Ayrıca fenolik bileşiklerin iyonlaşmasını kontrol etmek ve daha iyi pik şekilleri elde etmek amacıyla mobil fazlara çeşitli asidik modifikatörler ilave edilmektedir (Stalikas, 2007; Naczek ve Shahidi, 2004).

3.1. Su-Metanol Sistemleri

Su-metanol karışımları, fenolik bileşiklerin analizinde en uzun süredir kullanılan mobil faz sistemlerinden biridir. Metanol, yüksek çözme gücüne sahip olması ve birçok fenolik bileşiğin ayırımında yeterli seçicilik sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir. Su-metanol sistemleri özellikle fenolik asitler ve bazı flavonoidlerin analizlerinde başarılı sonuçlar verebilmektedir (Naczek ve Shahidi, 2004; Robbins, 2003).

Metanolün viskozitesinin asetonitrile göre daha yüksek olması nedeniyle sistem basıncı artabilmekte ve analiz süreleri uzayabilmektedir. Bununla birlikte bazı fenolik bileşiklerin ayırımında farklı seçicilik sağlayarak kritik pik çiftlerinin daha iyi ayrılmasına katkıda bulunabilmektedir. Bu nedenle birçok metot geliştirme çalışmasında su–metanol sistemleri alternatif mobil faz olarak değerlendirilmektedir (Stalikas, 2007).

3.2. Su–Asetonitril Sistemleri

Su–asetonitril sistemleri günümüzde fenolik bileşik analizlerinde en yaygın kullanılan mobil faz kombinasyonlarından biridir. Asetonitril, düşük viskozitesi sayesinde daha düşük sistem basıncı oluşturmakta ve daha kısa analiz sürelerine olanak sağlamaktadır (Tsao & Yang, 2003). Ayrıca birçok fenolik bileşiğin daha keskin ve simetrik pikler halinde elüe olmasına katkı sağlamaktadır (Naczki ve Shahidi, 2004).

Fenolik asitler, flavonoidler ve diğer fenolik bileşiklerin eş zamanlı analizlerinde su–asetonitril sistemleri sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle karmaşık bitkisel ekstraktların analizinde yüksek ayırma gücü sağlaması nedeniyle RP-HPLC metotlarının önemli bir bölümünde temel organik faz olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte bazı uygulamalarda seçiciliği artırmak amacıyla metanol ve asetonitril birlikte de kullanılabilir (Stalikas, 2007; Robbins, 2003).

3.3. Asidik Modifikatörler

Fenolik bileşiklerin çoğu zayıf asidik karakter göstermektedir. Bu nedenle mobil faz pH'sının kontrol edilmesi, pik şekillerinin iyileştirilmesi ve iyonlaşmanın baskılanması açısından büyük önem taşımaktadır. Mobil fazlara düşük konsantrasyonlarda eklenen asidik modifikatörler, daha simetrik pikler elde edilmesine ve ayırım performansının artırılmasına yardımcı olmaktadır (Robbins, 2003).

3.3.1. Formik Asit

Formik asit, özellikle HPLC-MS ve LC-MS/MS uygulamalarında en yaygın kullanılan asidik modifikatörlerden biridir. Uçucu bir asit olması nedeniyle kütle spektrometrik dedeksiyon ile uyumludur. Genellikle %0.05–0.5 aralığında kullanılmakta ve fenolik bileşiklerin iyonlaşmasını baskılayarak daha iyi pik şekilleri elde edilmesini sağlamaktadır (de Rijke vd., 2006).

3.3.2. Asetik Asit

Asetik asit, fenolik bileşik analizlerinde sıklıkla kullanılan bir diğer organik asittir. Formik aside göre daha zayıf bir asit olmasına rağmen birçok fenolik bileşiğin ayrımında başarılı sonuçlar vermektedir. Özellikle HPLC-UV ve HPLC-DAD uygulamalarında yaygın olarak tercih edilmektedir. Genellikle %0.1–2 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (Robbins, 2003).

3.3.3. Fosforik Asit

Fosforik asit, güçlü pH kontrolü sağlaması nedeniyle fenolik analizlerinde uzun yıllardır kullanılmaktadır. Özellikle UV ve DAD dedektörlü sistemlerde etkili sonuçlar vermektedir. Mobil faz pH'sını düşük seviyelerde tutarak fenolik asitlerin iyonlaşmasını azaltmakta ve daha iyi kromatografik ayırım sağlamaktadır. Ancak uçucu olmaması nedeniyle LC-MS uygulamalarında kullanımı sınırlıdır (Robbins, 2003).

3.4. Gradient Elüsyon Programları

Fenolik bileşiklerin analizinde mobil faz bileşiminin analiz süresince değiştirilmesine dayanan gradient elüsyon programları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkisel ekstraktlar genellikle çok sayıda ve farklı polaritelere sahip fenolik bileşik içerdiğinden, izokratik sistemler çoğu zaman yeterli ayrımı sağlayamamaktadır. Bu nedenle analiz başlangıcında yüksek

oranda sulu faz kullanılırken, analiz ilerledikçe organik çözücü oranı kademeli veya doğrusal olarak artırılmaktadır (Stalikas, 2007).

Gradient elüsyon programları, erken elüe olan yüksek polariteli fenolik asitler ile geç elüe olan düşük polariteli flavonoidlerin aynı analiz içerisinde etkin şekilde ayrılmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca analiz süresinin kısaltılması, pik genişlemesinin azaltılması ve kolon veriminin artırılması gibi avantajlar sunmaktadır. Günümüzde fenolik profil çalışmalarının büyük çoğunluğunda su–asetonitril veya su–metanol sistemleri ile birlikte optimize edilmiş gradient programları kullanılmakta ve başarılı ayrımlar elde edilmektedir (Ignat vd., 2011; Stalikas, 2007).

Mobil faz bileşimi ve gradient programının uygun şekilde optimize edilmesi, fenolik bileşiklerin güvenilir tanımlanması ve miktar tayininde kritik öneme sahiptir. Bu nedenle HPLC metot geliştirme çalışmalarında mobil faz seçimi, kolon tipi ve dedektör özellikleri ile birlikte değerlendirilmesi gereken temel parametrelerden biri olarak kabul edilmektedir (Naczki ve Shahidi, 2004).

4. BİTKİSEL FENOLİKLERİN HPLC İLE AYRILMASI VE TANIMLANMASI

Bitkisel kaynaklı fenolik bileşiklerin güvenilir şekilde belirlenebilmesi için yalnızca kromatografik ayrımın sağlanması yeterli değildir. Ayrılan piklerin doğru şekilde tanımlanması ve doğrulanması da analiz sürecinin önemli bir aşamasını oluşturmaktadır. Fenolik bileşiklerin yapısal benzerlik göstermeleri ve birçok doğal matriste birlikte bulunmaları nedeniyle tanımlama işlemlerinde farklı analitik yaklaşımlar kullanılmaktadır. HPLC analizlerinde fenolik bileşiklerin tanımlanmasında en yaygın kullanılan yöntemler alıkonma

zamanı karşılaştırması, UV spektral değerlendirmeleri, diyet dizilimli dedektör (DAD) analizleri ve kütle spektrometrisi tabanlı yöntemlerdir (Ignat vd., 2011; de Rijke vd., 2006).

4.1. Retention Time Yaklaşımı

Fenolik bileşiklerin tanımlanmasında en temel ve yaygın kullanılan yöntemlerden biri alıkonma zamanı (retention time, tR) karşılaştırmasıdır. Bu yaklaşımda analiz edilen örnekte elde edilen piklerin alıkonma zamanları, aynı kromatografik koşullar altında çalışılan standart fenolik bileşiklerin alıkonma zamanları ile karşılaştırılmaktadır (Robbins, 2003).

Her fenolik bileşik belirli kromatografik koşullar altında karakteristik bir alıkonma zamanına sahiptir. Bu nedenle standart ve örnek kromatogramlarının karşılaştırılmasıyla bileşiklerin ön tanımlaması yapılabilmektedir. Ancak alıkonma zamanı; kolon tipi, mobil faz bileşimi, sıcaklık, akış hızı ve sistem performansından etkilenebildiği için tek başına kesin tanımlama amacıyla kullanılması yeterli görülmemektedir. Özellikle karmaşık bitkisel ekstraktlarda aynı veya benzer alıkonma zamanlarına sahip farklı bileşiklerin bulunabilmesi nedeniyle ilave doğrulama yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Robbins, 2003; Stalikas, 2007).

Bununla birlikte retention time yaklaşımı, hızlı ve ekonomik olması nedeniyle fenolik profil çalışmalarında ilk değerlendirme yöntemi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Stalikas, 2007).

4.2. UV Spektral Karşılaştırma

Fenolik bileşiklerin büyük çoğunluğu aromatik yapılar içermeleri nedeniyle ultraviyole (UV) bölgede karakteristik absorpsiyon göstermektedir. Bu özellik, kromatografik ayırım sonrasında bileşiklerin UV spektrumlarının incelenmesine olanak sağlamaktadır (de Rijke vd., 2006).

Fenolik asitler ve flavonoidler farklı dalga boylarında maksimum absorpsiyon değerleri göstermektedir. Örneğin birçok hidroksibenzoik asit türevi 250–280 nm aralığında absorpsiyon maksimumuna sahipken, flavonoidlerin çoğu 250–380 nm aralığında birden fazla absorpsiyon bandı göstermektedir (Tsao & Yang, 2003; de Rijke vd., 2006). Bu spektral özellikler bileşiklerin sınıflandırılmasında ve ön tanımlanmasında önemli bilgiler sağlamaktadır (de Rijke vd., 2006; Stalikas, 2007).

UV spektral karşılaştırma, retention time yaklaşımına göre daha güvenilir sonuçlar sunmasına rağmen yapısal olarak birbirine çok benzeyen bileşiklerin ayırt edilmesinde yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle genellikle diğer analitik yöntemlerle birlikte kullanılmaktadır (de Rijke vd., 2006).

4.3. HPLC-DAD Analizleri

Diyot diziliimli dedektörler (Diode Array Detector, DAD), fenolik bileşik analizlerinde en yaygın kullanılan dedektör sistemlerinden biridir. DAD sistemleri, tek bir dalga boyunda ölçüm yapan klasik UV dedektörlerinden farklı olarak geniş bir spektral aralıkta eş zamanlı veri toplayabilmektedir (Ignat vd., 2011).

Bu sayede her kromatografik pik için tam UV spektrumu elde edilmekte ve hem alıkonma zamanı hem de spektral bilgiler birlikte değerlendirilebilmektedir. DAD sistemleri özellikle fenolik asitler, flavonoidler ve diğer fenolik bileşiklerin ön tanımlanmasında önemli avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca pik saflığının değerlendirilmesine olanak tanıyarak eş elüsyon (co-elution) problemlerinin belirlenmesine yardımcı olmaktadır (de Rijke vd., 2006; Ignat vd., 2011).

Bitkisel ekstraktların analizinde HPLC-DAD sistemleri yüksek hassasiyet, kolay kullanım ve düşük maliyet gibi avantajları nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir. Günümüzde fenolik profil çalışmalarının büyük bir bölümü

HPLC-DAD tabanlı yöntemlerle gerçekleştirilmektedir (Ignat vd., 2011).

4.4. HPLC-MS ve HPLC-MS/MS Uygulamaları

Kütle spektrometrisi ile birleştirilmiş HPLC sistemleri, fenolik bileşiklerin tanımlanmasında en sık başvurulanan analitik araçlardan biridir (de Rijke vd., 2006). HPLC-MS sistemlerinde kromatografik ayırım sonrasında bileşiklerin moleküler ağırlıkları ve parçalanma desenleri belirlenebilmekte, böylece daha güvenilir yapısal bilgiler elde edilebilmektedir.

Özellikle karmaşık bitkisel ekstraktlarda bulunan bilinmeyen veya düşük konsantrasyonlu fenolik bileşiklerin belirlenmesinde HPLC-MS sistemleri büyük avantaj sağlamaktadır. Elektrospray iyonizasyon (ESI) kaynağı ile birlikte kullanılan HPLC-MS yöntemleri, fenolik bileşiklerin moleküler iyonlarının belirlenmesine olanak tanımaktadır (de Rijke vd., 2006).

Daha ileri bir yaklaşım olan HPLC-MS/MS sistemlerinde ise seçilen iyonların kontrollü parçalanması sağlanarak karakteristik fragment iyonları elde edilmektedir. Bu yöntem, izomerik bileşiklerin ayırt edilmesi ve fenolik bileşiklerin kesin yapısal doğrulamasında önemli rol oynamaktadır (de Rijke vd., 2006).

Günümüzde HPLC-MS ve HPLC-MS/MS teknikleri metabolomik çalışmalar, doğal ürün araştırmaları ve fenolik profillemeye uygulamalarında yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır. Bu sistemler sayesinde daha önce tanımlanmamış fenolik bileşiklerin belirlenmesi ve karmaşık bitkisel matrislerin kapsamlı şekilde karakterize edilmesi mümkün hale gelmiştir (de Rijke vd., 2006; Stalikas, 2007).

5. SONUÇ

Sonuç olarak fenolik bileşiklerin tanımlanmasında retention time karşılaştırması, UV spektral değerlendirmeleri, HPLC-DAD ve HPLC-MS tabanlı yöntemler birbirini tamamlayıcı şekilde kullanılmaktadır. Özellikle karmaşık bitkisel ekstraktların analizinde birden fazla tanımlama yaklaşımının birlikte değerlendirilmesi daha güvenilir ve doğru sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (Ignat vd., 2011).

KAYNAKÇA

- Anand David, A. V. A., Arulmoli, R. ve Parasuraman, S. (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 84-89. doi:10.4103/0973-7847.194044
- Bernatoniene, J. ve Kopustinskiene, D. M. (2018). The role of catechins in cellular responses to oxidative stress. *Molecules*, 23(4), 965. doi:10.3390/molecules23040965
- Crozier, A., Jaganath, I. B. ve Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), 1001-1043. doi:10.1039/b802662a
- de Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C. ve Brinkman, U. A. Th. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 31-63. doi:10.1016/j.chroma.2006.01.019
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P. ve Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry*, 173, 501-513. doi:10.1016/j.foodchem.2014.10.057
- Ignat, I., Volf, I. ve Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835. doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.026
- Kumar, N. ve Pruthi, V. (2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Reports*, 4, 86-93. doi:10.1016/j.btre.2014.09.002
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability.

The American Journal of Clinical Nutrition, 79(5), 727-747. doi:10.1093/ajcn/79.5.727

- Naczki, M. ve Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 95-111. doi:10.1016/j.chroma.2004.08.059
- Panche, A. N., Diwan, A. D. ve Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. doi:10.1017/jns.2016.41
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866-2887. doi:10.1021/jf026182t
- Rodríguez-García, C., Sánchez-Quesada, C., Toledo, E., Delgado-Rodríguez, M. ve Gaforio, J. J. (2019). Naturally lignan-rich foods: A dietary tool for health promotion? *Molecules*, 24(5), 917. doi:10.3390/molecules24050917
- Salehi, B., Mishra, A. P., Nigam, M., Sener, B., Kilic, M., Sharifi-Rad, M., ... Sharifi-Rad, J. (2018). Resveratrol: A double-edged sword in health benefits. *Biomedicines*, 6(3), 91. doi:10.3390/biomedicines6030091
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocchio, E. ve Trombetta, D. (2017). Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: Occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1244-1262. doi:10.1111/bph.13630
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18), 3268-3295. doi:10.1002/jssc.200700261
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246. doi:10.3390/nu2121231

Tsao, R. ve Yang, R. (2003). Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1018(1), 29-40. doi:10.1016/j.chroma.2003.08.034

PHENETHYLISOTHIOCYANATE: A PHYTOCHEMICAL AGENT AGAINST CANCER CHEMOPREVENTION

Ayşe Burçin UYUMLU¹

1. INTRODUCTION

Carcinogenesis can be described as a multistage biological process characterized by the gradual accumulation of molecular alterations that ultimately disrupt normal regulatory mechanisms of cell growth. In this context, human cancer is understood as a progressive condition that evolves through well-defined stages over prolonged periods, frequently taking decades to manifest clinically detectable symptoms. This lengthy latency period means that the onset of cancer can occur long before it is diagnosed. The progression of carcinogenesis involves various disruptions at the molecular level, primarily characterized by tumor initiation, development, and progression (Sung, et al., 2021). Epidemiologic and pathologic studies proposed that cancer could be prevented or its progression halted (Weinstein, 1991). In this context, cancer prevention using natural or synthetic compounds is termed chemoprevention (Sporn et al., 1976). Cancer chemoprevention is broadly defined as the strategic application of pharmacological agents, micronutrients, or other bioactive compounds with the objective of lowering the likelihood of cancer onset, as well as postponing its progression or reappearance (Sporn et al., 1976; Surh, 2003). The concept of chemoprevention using non-toxic agents, dietary components,

¹ Associate Professor, İnönü University, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Biochemistry, ORCID: 0000-0001-9517-9274.

and natural products has emerged as a promising strategy for preventing cancer development and inhibiting carcinogenesis (Surh, 2003; Shankar et al., 2022).

The term was first introduced by Sporn and colleagues and defined as the use of natural or synthetic agents to inhibit, suppress, or reverse carcinogenesis (Sporn et al., 1976). Since its inception, cancer chemoprevention has become a rapidly expanding research field, making it one of the most active areas in cancer and mutation studies (Surh, 2003). Steele and Kelloff further advanced the field of cancer chemoprevention by proposing strategies for the development and evaluation of chemopreventive agents based on their mechanisms of action (Steele & Kelloff, 2005). With the growing body of research supporting the chemopreventive potential of various phytochemicals and their synthetic counterparts, chemoprevention has become an important strategy in cancer prevention. According to De Flora and Ferguson (2005), chemoprevention can be classified into three levels: primary, secondary, and tertiary. Primary chemoprevention involves the prevention of carcinogenesis in healthy individuals at low risk of developing cancer. Secondary chemoprevention aims to prevent premalignant lesions from progressing into malignant tumors, whereas tertiary chemoprevention focuses on preventing the recurrence of primary tumors following their eradication (De Flora & Ferguson, 2005).

The interest in cancer chemoprevention research has surged due to improved understanding of the biology of carcinogenesis and the identification of molecular targets involved in the process. It has become increasingly evident that the concept of cancer latency should be considered in chemoprevention strategies, as delaying carcinogenesis may reduce cancer burden and improve life expectancy. This interest has been further fueled by successful studies on the prevention of

cancers such as prostate, breast, and colon cancers, with the FDA approving several agents for cancer risk reduction. (Wu et al., 2011).

Over the past two to three decades, cancer chemoprevention research has evolved into a highly specialized field, with natural phytochemicals emerging as promising agents in cancer prevention and control. Dietary components and natural products have been shown to modulate key signaling pathways involved in cancer development, suggesting their potential as agents in cancer prevention (Surh, 2003; Shankar et al., 2022).

Slowing the progression of cancer is particularly relevant for cancers with long latency periods. While cancer chemoprevention has shown considerable efficacy in animal models, translation of these findings into successful human interventions has been more challenging. Dinkova-Kostova (2013) highlights isothiocyanates (ITCs) as some of the most extensively studied chemoprotective agents, with the Cruciferae (Brassicaceae) family being a rich source of glucosinolates. Numerous studies have demonstrated the chemoprotective effects of ITCs across various animal models of carcinogenesis, involving different organ sites and carcinogen types. Effective protection against tumor formation and metastasis may arise from multiple mechanisms, including the Keap1–Nrf2–ARE and NF- κ B and NF-kB signaling pathways (Dinkova-Kostova, 2013).

Phenethylisothiocyanate (PEITC), a member of the isothiocyanates family, is particularly abundant in watercress and is also present in other cruciferous vegetables. PEITC displays diverse bioactive properties, including anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, and anticancer effects (Coscueta et al., 2022); however, its antitumor activity has been particularly emphasized due to its potent chemopreventive capacity and its

ability to eliminate cancer cells through coordinated modulation of key cellular signaling pathways (Coscueta et al., 2021).

2. GENERAL ASPECTS OF PEITC

2.1. Natural Sources of PEITC

PEITC is a phytochemical naturally occurring in cruciferous vegetables. Cruciferae (Brassicaceae) vegetables are a group of vegetables with important anticarcinogenic properties. The Brassicaceae family includes vegetables such as red cabbage, white cabbage, cauliflower, Brussels sprouts, broccoli, and watercress, as well as oilseed crops such as rapeseed and condiments such as mustard (Morris & Dave, 2014; Gupta et al., 2014). Numerous studies have suggested that the consumption of Cruciferae vegetables can lower the risk of developing various types of cancer, including kidney, prostate, colon, bladder, lung, and rectal cancer (Bonnesen et al., 2001; Wu et al., 2013).

2.2. Formation of Isothiocyanates and PEITC from Glucosinolates

Glucosinolates (GLS; β -thioglucoside-N-hydroxysulfates) are sulfur- and nitrogen-containing secondary plant metabolites commonly found in cruciferous vegetables (Vig et al., 2009). These compounds are water soluble, anionic, non-volatile and heat stable (Fahey et al., 2001). Glucosinolates generally consist of a β -D-thioglucose group, a sulfonated oxime group, and a side chain originating from amino acids such as methionine, phenylalanine, tryptophan, or branched-chain amino acids (Figure 1) (Kliebenstein et al., 2005). While glucosinolates themselves are not biologically active, they exert chemopreventive effects after being converted into isothiocyanates (ITCs) and indole-3-carbinols through the enzymatic action of myrosinase (Hayes et al., 2008).

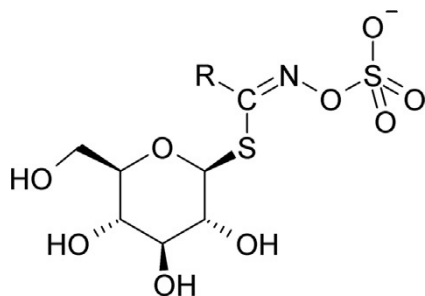


Figure 1. Schematic representation of the core glucosinolate structure, consisting of a β -D-thioglucose moiety, a sulfonated oxime group, and a variable side chain (R) derived from different amino acids (Modified from Prieto et al., 2019).

Isothiocyanates are not an independent class of phytochemicals but are formed through the enzymatic hydrolysis of glucosinolates. Mechanical disruption of Brassicaceae vegetables, such as cutting, chopping, or chewing, leads to the release of the enzyme myrosinase, which catalyzes this conversion (Shapiro et al., 2001). In addition, when plant-derived myrosinase is inactivated by cooking, intestinal microbiota may partially contribute to glucosinolate hydrolysis and subsequent ITC formation (Shapiro et al., 1998).

Myrosinase is heat-labile; therefore, cooking significantly reduces isothiocyanate formation, whereas higher levels are generally obtained from raw vegetable consumption (Shapiro et al., 2001). The enzymatic hydrolysis of glucosinolates by myrosinase results in the formation of isothiocyanates ($R-N=C=S$) (Bayat Mokhtari et al., 2018). These compounds have been reported to exert chemopreventive effects, partly through mechanisms that may help protect against DNA damage (Shapiro et al., 1998). In addition, isothiocyanates exhibit antimicrobial, antifungal, insecticidal, and nematocidal activities (Singh & Singh, 2012). These properties further support the relevance of dietary Brassicaceae vegetables as a source of chemopreventive compounds.

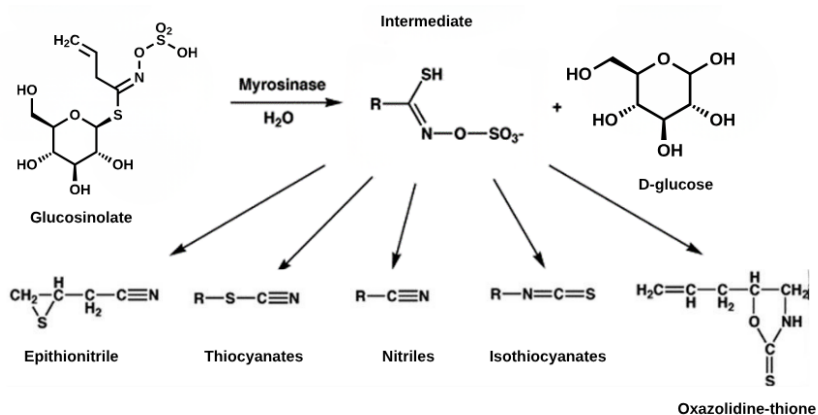


Figure 2. Major breakdown products generated following myrosinase-mediated hydrolysis of glucosinolates, including isothiocyanates, nitriles, thiocyanates, and epithionitriles. (The illustration was generated using Canva, modified from Vaughn & Berhow, 2005).

Phenethylisothiocyanate (PEITC; C_9H_9NS) is an isothiocyanate formed through the enzymatic hydrolysis of gluconasturtiin, a glucosinolate predominantly found in watercress (*Nasturtium officinale*) (Getahun & Chung, 1999). In intact plant tissues, glucosinolates and the enzyme myrosinase (β -thioglucosidase) are stored in separate cellular compartments. Upon tissue disruption, such as chewing, cutting, or mechanical damage, myrosinase comes into contact with glucosinolates and catalyzes their hydrolysis.

When plant-derived myrosinase is inactivated by heat during cooking, partial hydrolysis of glucosinolates may still occur in the human colon through the activity of gut microbiota (Shapiro et al., 1998; Fahey et al., 2001).

PEITC and other isothiocyanates are chemically reactive compounds due to the electrophilic nature of the central carbon atom in the isothiocyanate functional group (Mi et al., 2007). As

a result, ITCs can form covalent bonds with nucleophiles, particularly the thiol (–SH) groups of cysteine residues in proteins, which contributes to their broad spectrum of biological activities (Hansch et al., 2012).

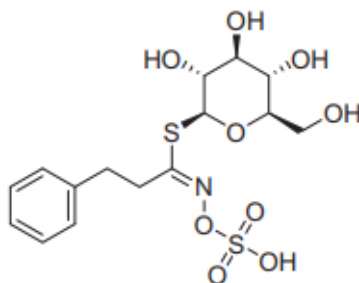


Figure 3. Molecular structure of gluconasturtiin, the predominant glucosinolate precursor of phenethyl isothiocyanate, commonly found in watercress.

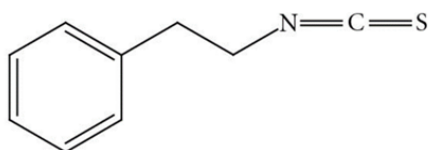


Figure 4. Chemical structure of PEITC, highlighting the electrophilic isothiocyanate functional group responsible for its biological reactivity.

2.3. Pharmacokinetics and Metabolism of PEITC

Phenethylisothiocyanate (PEITC) is an isothiocyanate formed through the enzymatic hydrolysis of gluconasturtiin, a glucosinolate predominantly found in watercress and other cruciferous vegetables (Bonnesen et al., 2001). Watercress is considered a major dietary source of gluconasturtiin, containing high levels of total glucosinolates, more than half of which consist of gluconasturtiin (Steinbrecher & Linseisen, 2009). Upon consumption, gluconasturtiin can be converted into PEITC

through myrosinase-mediated hydrolysis, with reported conversion rates ranging from 30% to 67% (Chung et al., 1992).

In human dietary studies, cruciferous vegetable intake has been associated with measurable PEITC formation. For example, one ounce of watercress consumption has been reported to yield approximately 2–6 mg of PEITC (Chung et al., 1992). In addition, pharmacokinetic studies in humans have shown that consumption of 100 g of watercress results in peak plasma PEITC concentrations of approximately 928.5 ± 250 nM within 2.6 ± 1.1 hours (Ji & Morris, 2003). These findings suggest that systemic exposure to PEITC following dietary intake may vary depending on dose and bioavailability.

PEITC exhibits relatively high oral bioavailability. In animal studies, oral administration of PEITC at doses of 10–100 $\mu\text{mol/kg}$ resulted in bioavailability ranging from 90% to 114%, accompanied by low clearance and significant plasma protein binding (Ji et al., 2005). However, its long-term systemic exposure and safety profile require further investigation.

PEITC is primarily eliminated from the body as mercapturic acid derivatives following conjugation with glutathione via the action of glutathione-S-transferases (GST) (Morris & Dave, 2014; Zhao et al., 2001; Shapiro et al., 2001). These conjugates are subsequently transported out of cells by efflux transporters and further metabolized by enzymes such as γ -glutamyltransferase and dipeptidases.

Interestingly, conjugation of PEITC with glutathione may influence cellular redox balance by transiently depleting intracellular glutathione levels and inducing oxidative stress. In addition, N-acetylcysteine (NAC) conjugates of PEITC remain biologically active and may exhibit effects similar to the parent compound, potentially contributing to prolonged biological activity (Tang et al., 2006).

PEITC and its glutathione conjugates have been reported to interact with several ATP-binding cassette (ABC) efflux transporters, including breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2), multidrug resistance-associated proteins (MRP1 and MRP2), and P-glycoprotein (P-gp/ABCB1). These transporters play a key role in the absorption, distribution, and excretion of a wide range of endogenous and exogenous compounds. BCRP, in particular, is involved in the intestinal absorption and biliary or renal excretion of various xenobiotics and pharmaceuticals (Ji & Morris, 2004). As a substrate of BCRP, PEITC may influence the pharmacokinetic behavior of co-administered compounds that are also transported by this protein.

In addition, PEITC has been shown to interact with P-glycoprotein, potentially affecting drug efflux mechanisms (Chiao et al., 2004). Beyond transporter-mediated effects, PEITC has also been reported to modulate cytochrome P450 enzyme activity, thereby influencing phase I metabolic processes (Nakajima et al., 2001).

Collectively, the interaction of PEITC with efflux transporters and metabolic enzymes may contribute to its chemopreventive properties by modulating cellular exposure, bioavailability, and the metabolism of xenobiotics.

3. CHEMOPREVENTIVE EFFECTS OF PEITC

The anti-cancer properties of PEITC can be broadly classified into chemopreventive and chemotherapeutic effects. While its chemopreventive activity has been supported by epidemiological studies, chemical carcinogenesis models, and transgenic animal models, further mechanistic investigations have explored its effects in preclinical systems. The cellular and molecular targets underlying the chemopreventive activity of

PEITC involve multiple pathways, including the modulation of xenobiotic-metabolizing enzymes.

3.1. Phase I Inhibition of Drug Metabolising Enzymes

PEITC exerts chemopreventive effects partly through the modulation of phase I drug-metabolizing enzymes involved in carcinogen activation (Singh et al, 2012). Carcinogenesis often involves metabolic activation of pro-carcinogens through oxidation, reduction, or hydrolysis reactions catalyzed by phase I drug-metabolizing enzymes, particularly cytochrome P450 (CYP) enzymes (Wogan et al., 2004). Therefore, modulation of these enzymes plays a critical role in determining susceptibility to chemically induced carcinogenesis.

PEITC has been shown to modulate the expression and activity of several CYP enzymes involved in xenobiotic metabolism. It induces the expression of CYP1A1 and CYP1A2, while inhibiting the activity of enzymes such as CYP2E1, CYP3A4, and CYP2A3 (Gross-Steinmeyer et al., 2004; Gross-Steinmeyer et al., 2010; Morris et al., 2004). This dual regulatory effect suggests that PEITC may shift xenobiotic metabolism toward reduced activation of pro-carcinogens and enhanced detoxification pathways.

The inhibition of CYP2A6 and CYP2E1 is particularly relevant to cancer prevention because these enzymes participate in the metabolic activation of tobacco-specific nitrosamines such as NNK and NNN, potent carcinogens found in tobacco products (Hecht, 1999). PEITC has been shown to act as a mechanism-based inactivator of CYP enzymes, particularly CYP2E1, through metabolic activation and covalent modification of the enzyme, resulting in reduced catalytic activity (Yoshigae et al., 2013). Consequently, the metabolic activation of tobacco-specific nitrosamines is diminished, reducing DNA adduct formation and mutagenic events associated with tumor initiation (Hecht, 1999).

Collectively, these modulatory effects on phase I enzymes contribute to the chemopreventive potential of PEITC by influencing the metabolic fate of carcinogenic compounds.

3.2. Phase II Induction of Drug Metabolising Enzymes

Phase I drug-metabolizing enzymes can catalyze oxidation, reduction and hydrolysis reactions, resulting in the formation of hydroxylated or epoxidized intermediates. These intermediates have the potential to generate electrophilic reactive metabolites or precursors of carcinogens (Meunier et al., 2004). Although electrophilic metabolites exhibit high reactivity, cells possess several defense mechanisms to mitigate the damage they may cause. One key defense mechanism is the activation of phase II drug-metabolizing enzymes. These enzymes, recognized for their detoxifying roles, facilitate the conjugation of endogenous compounds such as glutathione (GSH), glucuronide, and sulfate with phase I metabolites (Kensler, 1997). The process of conjugating large polar molecules, such as sulphate, glucuronide, and glutathione (GSH), to phase I metabolites is referred to as phase II metabolism. This process restricts further biotransformation of phase I metabolites, thereby promoting their elimination and excretion (Chen & Kong, 2005). Phase II enzymes, primarily consisting of transferases, are crucial in the detoxification of xenobiotics and carcinogens. Various isothiocyanates (ITCs), such as PEITC, have been demonstrated to activate phase II detoxification enzymes, which may account for their chemopreventive properties (Cheung, & Kong, 2010). Phase II enzymes commonly induced by this compound include glutathione S-transferase (GST), NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO-1), and UDP-glucuronosyltransferase (UGT). GSTs primarily facilitate the nucleophilic addition of glutathione (GSH) to electrophilic sites on a wide range of xenobiotics (Pool-Zobel et al., 2005). Conversely, UGTs mediate the conjugation of glucuronic acid to hydrophobic compounds,

thereby aiding in their detoxification and promoting their elimination (Saracino, & Lampe, 2007). NQO-1 catalyses the two-electron reduction of quinones to hydroquinones, thereby preventing their one-electron reduction by other quinone reductases, which leads to the production of radical species (Vasilidou et al., 2006).

Multiple studies have demonstrated that PEITC activates phase II enzymes both in vitro and in vivo. In a study assessing the chemopreventive potential of PEITC against a heterocyclic amine found in cooked meat, which may pose a carcinogenic risk, PEITC was observed to induce one or more hepatic phase II enzymes (Dingley, et al., 2003). GSTs have a substantial role in the chemopreventive mechanisms of PEITC. Some of the GST isozymes are upregulated by PEITC in mouse liver (Hu, et al., 2006). A recent investigation revealed that PEITC administration enhanced hepatic GST activity in rats, while no such effect was observed in the lung or kidney (Konsue & Ioannides, 2008). Several epidemiological and preclinical studies have shown that the anti-cancer effects of ITC may vary significantly with GST polymorphism (Morris & Dave, 2014; Zhao, et al., 2001). Prolonged elevated levels of reactive oxygen species (ROS) contribute to carcinogenesis by inducing oxidative DNA damage, which can result in mutations (Waris, & Ahsan, 2006). Consistent with these observations, consumption of watercress, a dietary source of PEITC, has been associated with modulation of detoxification-related enzymes in human peripheral blood cells (Hofmann, et al., 2009).

3.3. Modulation of Nrf2-Keap1-ARE pathway

3.3.1. Nrf2: Structure and Functional Regulation

Nrf2 is a key regulator of cellular defense against oxidative and electrophilic stress. Nrf2 is a transcription factor that regulates the cellular response to environmental stress by

modulating the expression of various genes involved in the production of antioxidative enzymes, detoxifying agents, and drug transporters (Itoh et al., 1997; Johnson et al., 2008; Sajadimajd & Khazaei, 2018). Mechanistically, PEITC activates the Nrf2 signaling pathway through modification of cysteine residues on Keap1, the cytoplasmic repressor of Nrf2. This leads to disruption of the Keap1–Nrf2 complex, resulting in stabilization and nuclear accumulation of Nrf2 (Zhang & Hannink, 2003; Zhang, 2006; Ko et al., 2025).

In the nucleus, Nrf2 binds to antioxidant response elements (AREs) in the promoter regions of phase II detoxifying and cytoprotective genes, thereby inducing their transcription. This transcriptional activation enhances cellular defense mechanisms against oxidative stress and electrophilic damage, processes that are closely associated with carcinogenesis and chemoprevention.

PEITC-induced Nrf2 activation depends on functional Keap1 and involves MAPK signalling, particularly ERK and JNK, which promote Nrf2 phosphorylation and nuclear translocation (Xu et al., 2006). Collectively, these findings support a model in which PEITC engages the Nrf2-Keap1 axis to boost endogenous cytoprotective mechanisms, reinforcing its role as a potential chemopreventive agent.

Nrf2 possesses a CNC-bZIP structure (Chan et al., 1995) and is normally retained in the cytoplasm by its repressor Keap1 (Itoh et al., 1999). (see Figure 5).

The Nrf2 protein comprises seven Nrf2–ECH homology (Neh) domains, termed Neh1 through Neh7 (see Figure 5). The Neh1 domain includes a CNC-basic region responsible for DNA binding and a leucine zipper structure required for dimerization with small Maf proteins (Itoh et al., 1997). Neh2 acts as a regulatory domain that negatively modulates the transcriptional

activity of Nrf2 through its interaction with Keap1 (Itoh et al., 1999). This domain contains two distinct motifs—ETGE and DLG—that bind to Keap1, allowing the formation of a Keap1–Nrf2 complex with a 1:2 stoichiometry (Tong et al., 2006). The dual-site binding facilitates Nrf2 ubiquitination by properly aligning lysine residues located between the ETGE and DLG motifs (see Figure 6).

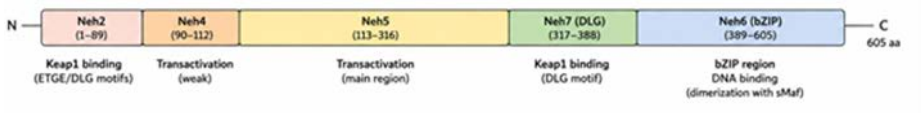


Figure 5. Domain organization and functional regions of Nrf2. The illustration was created by the authors using OpenAI image generation and adapted according to published reviews on Nrf2 structure and function (Deshmukh et al., 2017). Structural organization of the Nrf2 protein, illustrating the seven conserved Neh domains (Neh1–Neh7) involved in DNA binding, transcriptional activation, regulatory control, and protein–protein interactions.

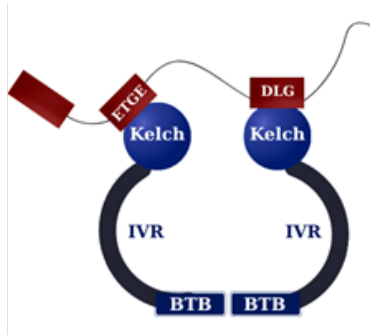


Figure 6. Diagram depicting the cytoplasmic Keap1–Nrf2 complex, in which Nrf2 interacts with Keap1 through the ETGE and DLG motifs within the Neh2 domain under basal conditions. (The illustration was generated using Canva, modified from Leinonen et al., 2014)

The Neh3, Neh4, and Neh5 domains function as transcriptional activation regions (Leinonen et al., 2014). Neh4 and Neh5 are conserved acidic regions that help activate Nrf2 target genes by interacting with the cAMP response element-binding protein (CREB) (Katoh et al., 2001). The Neh6 domain is a serine-rich, conserved region that contributes to Nrf2 degradation upon phosphorylation by glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) (Salazar et al., 2006). The most recently identified domain, Neh7, spans amino acids 209–316 and has been shown to interact with the retinoid x receptor (RXR), thereby inhibiting Nrf2–ARE signaling (Wang et al., 2013).

3.3.2. Structure of Keap1

Keap1 serves as a crucial redox sensor and possesses multiple structural domains, including the broad complex–tramtrack–bric-a-brac (BTB) domain, the intervening region (IVR), the double glycine repeat (DGR), and the C-terminal region (CTR). The DGR and CTR domains interact to form a β -propeller-like structure and are collectively known as the DC domain. Recent findings have demonstrated that this DC domain directly associates with the Neh2 domain located at the N-terminal region of Nrf2 (see Figure 7) (Zhou et al., 2022).

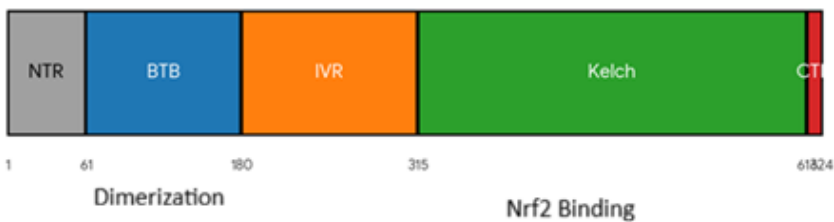


Figure 7. Schematic overview of the Keap1 protein. The illustration was created by the authors using OpenAI image generation and adapted according to published reviews (Leinonen et al., 2014).

3.3.3. Nrf2–Keap1–ARE signaling

Nrf2 is a transcription factor that orchestrates cellular defense mechanisms against oxidative and electrophilic stress by regulating the expression of genes involved in antioxidant defense and phase II detoxification pathways, and is activated in response to xenobiotics, radiation, and reactive oxygen species (Itoh et al., 1997; McMahon et al., 2001; Zhang, 2006). In the human body, it is found in various tissues and organs, especially in the liver, but also in the nervous system, kidneys, lungs, heart and macrophages (Surh et al., 2008; Chan, et al., 1995). It shows cytoprotective effect in the formation of antioxidant, anti-inflammatory and detoxifying responses within the cell.

Keap 1 isolates Nrf2 in unstimulated cells and Nrf2 in this state is subjected to proteasomal degradation via ubiquitination by Keap1 - Cul3 (Cullin 3) - ubiquitin E2 ligase triad (Taguchi et al., 2011). However, Keap1-Nrf2 are separated from each other in the presence of oxidative stress, electrophiles or xenobiotics. In the presence of these stress sources, reactive cysteine residues on Keap1 are modified and Keap1 undergoes conformational change (Kobayashi, et al., 2009). Due to this change, Nrf2, which is already bound to the Kelch region with low affinity, dissociates and becomes active (Tong, et al., 2006). Nrf2 translocates to the nucleus. In the nucleus, Nrf2 forms a heterodimer with sMaf proteins and binds to the Antioxidant response element (ARE) region on DNA where transcription of antioxidant and detoxification enzymes are activated (Itoh et al., 1997). Antioxidant cytoprotective genes activated by the ARE region include enzymes such as NQO1, GST, GCLC, GCLM, HO-1 and GPx (McMahon et al., 2001; Nguyen et al., 2009). Studies established that ARE-inducing compounds originate from multiple chemical classes. Their shared mechanistic property lies in their capacity to modify protein sulfhydryl groups, most

notably cysteine thiol residues, which underpins their biological activity (Hayes et al., 2010).

PEITC-induced activation of Nrf2 is also influenced by mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways, particularly extracellular signal-regulated kinase (ERK) and c-Jun N-terminal kinase (JNK). These pathways contribute to Nrf2 phosphorylation and facilitate its nuclear translocation, thereby enhancing transcriptional activation of cytoprotective genes (Xu et al., 2006).

3.3.4. Cross-talk with NF- κ B and Epigenetics

In addition to redox regulation, PEITC also affects inflammatory and epigenetic pathways through interconnected signaling networks involving Nrf2 and NF- κ B, which collectively contribute to the regulation of gene expression during carcinogenesis (Bellezza et al., 2010). PEITC has been shown to modulate inflammatory signaling pathways, particularly nuclear factor kappa B (NF- κ B) (Gupta et al., 2014). NF- κ B plays a central role in regulating pro-inflammatory cytokines, cell survival, and tumor-promoting inflammation. Experimental studies indicate that PEITC can suppress NF- κ B activation by inhibiting upstream signaling cascades, including I κ B kinase (IKK) activity (Prawan et al., 2009). This results in reduced expression of inflammatory mediators such as COX-2, TNF- α , and IL-6, thereby contributing to its anti-inflammatory and chemopreventive properties (Hsu et al., 2022; Prawan et al., 2009).

Emerging experimental evidence indicates that phenethyl isothiocyanate (PEITC) can modulate epigenetic regulation in cancer cells through coordinated effects on chromatin structure and epigenetic enzyme activity. In particular, PEITC has been shown to influence histone modification patterns and chromatin-associated regulatory mechanisms, suggesting a role in chromatin

remodeling and transcriptional reprogramming of cancer-related genes (Park et al., 2017).

PEITC has been shown to modulate histone acetylation and chromatin-associated regulatory mechanisms, leading to changes in gene expression profiles involved in cell cycle regulation and apoptosis (Liu et al., 2013; Park et al., 2017; Boyanapalli et al., 2016).

Furthermore, PEITC has been shown to induce changes in DNA methylation patterns in cancer models, leading to reactivation of epigenetically silenced tumor suppressor genes. These findings suggest that PEITC may contribute to epigenetic reprogramming of cancer cells through DNA methylation-dependent mechanisms (Boyanapalli et al., 2016). However, these findings are predominantly derived from in vitro and animal studies, and further research is required to determine the extent and clinical relevance of PEITC-induced epigenetic modifications in human cancers.

4. CONCLUSION

PEITC, a bioactive phytochemical derived from cruciferous vegetables, has emerged as a promising agent in cancer chemoprevention due to its multifaceted molecular actions. Accumulating preclinical evidence demonstrates that PEITC modulates key signaling pathways involved in carcinogenesis, including the regulation of phase I and phase II detoxification enzymes, activation of Nrf2 signaling, preferential induction of oxidative stress in cancer cells, inhibition of cell proliferation, and promotion of apoptosis and cell cycle arrest. Additionally, PEITC has been reported to modulate metastatic progression and angiogenesis, highlighting its broad spectrum of anticancer activity across various tumor types.

Importantly, the chemopreventive potential of PEITC is closely linked to its ability to target early stages of cancer development while generally exhibiting lower toxicity toward normal cells. Its epigenetic effects, including modulation of histone acetylation and DNA methylation, further suggest a potential role in regulating gene expression patterns associated with tumor suppression. These properties position PEITC as a promising candidate for integration into preventive strategies, particularly in populations at elevated cancer risk.

Despite these encouraging findings, the translation of PEITC from experimental models to clinical application remains limited. Variability in bioavailability, dose optimization, and long-term safety profiles necessitate further investigation through well-designed clinical trials. Future research should also explore potential synergistic effects of PEITC with other chemopreventive agents and conventional therapies. Overall, PEITC represents a compelling example of how naturally occurring phytochemicals may contribute to cancer prevention, supporting continued interest in mechanism-based and diet-derived preventive strategies.

REFERENCES

- Bayat Mokhtari, R., Baluch, N., Homayouni, T. S., Morgatskaya, E., Kumar, S., Kazemi, P., & Yeager, H. (2018). The role of Sulforaphane in cancer chemoprevention and health benefits: a mini-review. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 12, 91-101. <https://doi.org/10.1007/s12079-017-0401-y>
- Bellezza, I., Mierla, A. L., & Minelli, A. (2010). Nrf2 and NF- κ B and their concerted modulation in cancer pathogenesis and progression. *Cancers*, 2(2), 483-497. <https://doi.org/10.3390/cancers2020483>
- Bonnesen, C., Eggleston, I. M., & Hayes, J. D. (2001). Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines. *Cancer Research*, 61(16), 6120-6130.
- Boyanapalli, S. S., Li, W., Fuentes, F., Guo, Y., Ramirez, C. N., Gonzalez, X. P., ... & Kong, A. N. T. (2016). Epigenetic reactivation of RASSF1A by phenethyl isothiocyanate (PEITC) and promotion of apoptosis in LNCaP cells. *Pharmacological Research*, 114, 175-184. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.10.021>
- Chan, J. Y., Cheung, M. C., Moi, P., Chan, K., & Kan, Y. W. (1995). Chromosomal localization of the human NF-E2 family of bZIP transcription factors by fluorescence in situ hybridization. *Human Genetics*, 95(3), 265-269. <https://doi.org/10.1007/BF00225191>
- Chen, C., & Kong, A. N. T. (2005). Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects. *Trends in*

Pharmacological Sciences, 26(6), 318-326.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.04.004>

- Cheung, K. L., & Kong, A. N. (2010). Molecular targets of dietary phenethyl isothiocyanate and sulforaphane for cancer chemoprevention. *The AAPS Journal*, 12, 87-97.
<https://doi.org/10.1208/s12248-009-9162-8>
- Chiao, J. W., Wu, H., Ramaswamy, G., Conaway, C. C., Chung, F. L., Wang, L., & Liu, D. (2004). Ingestion of an isothiocyanate metabolite from cruciferous vegetables inhibits growth of human prostate cancer cell xenografts by apoptosis and cell cycle arrest. *Carcinogenesis*, 25(8), 1403-1408. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgh136>
- Chung, F. L., Morse, M. A., Eklin, K. I., & Lewis, J. (1992). Quantitation of human uptake of the anticarcinogen phenethyl isothiocyanate after a watercress meal. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 1(5), 383-388.
- Coscueta, E. R., Sousa, A. S., Reis, C. A., & Pintado, M. (2021). Chitosan-olive oil microparticles for phenylethyl isothiocyanate delivery: Optimal formulation. *PLoS ONE*, 16(5), e0248257.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248257>
- Coscueta, E. R., Sousa, A. S., Reis, C. A., & Pintado, M. M. (2022). Phenylethyl isothiocyanate: a bioactive agent for gastrointestinal health. *Molecules*, 27(3), 794.
<https://doi.org/10.3390/molecules27030794>
- De Flora, S., & Ferguson, L. R. (2005). Overview of mechanisms of cancer chemopreventive agents. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of*

Mutagenesis, 591(1-2), 8-15.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.02.029>

- Deshmukh, P., Unni, S., Krishnappa, G., Padmanabhan, B. (2017). The Keap1-Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. *Biophysical Reviews*, 9, 41-56. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0244-4>
- Dingley, K. H., Ubick, E. A., Chiarappa-Zucca, M. L., Nowell, S., Abel, S., Ebeler, S. E., ... & Clifford, A. J. (2003). Effect of dietary constituents with chemopreventive potential on adduct formation of a low dose of the heterocyclic amines PhIP and IQ and phase II hepatic enzymes. *Nutrition and Cancer*, 46(2), 212-221. https://doi.org/10.1207/S15327914NC4602_15
- Dinkova-Kostova, A. T. (2012). Chemoprotection Against Cancer by Isothiocyanates: A Focus on the Animal Models and the Protective Mechanisms. In: Pezzuto, J., Suh, N. (eds) *Natural Products in Cancer Prevention and Therapy*. Topics in Current Chemistry, vol 329. Springer, Berlin, Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/128_2012_337
- Fahey, J. W., Zalcman, A. T., & Talalay, P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56(1), 5-51. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00316-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00316-2)
- Getahun, S. M., & Chung, F. L. (1999). Conversion of glucosinolates to isothiocyanates in humans after ingestion of cooked watercress. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 8(5), 447-451.
- Gross-Steinmeyer, K., Stapleton, P. L., Liu, F., Tracy, J. H., Bammler, T. K., Quigley, S. D., ... & Eaton, D. L. (2004).

- Phytochemical-induced changes in gene expression of carcinogen-metabolizing enzymes in cultured human primary hepatocytes. *Xenobiotica*, 34(7), 619-632. <https://doi.org/10.1080/00498250412331285481>
- Gross-Steinmeyer, K., Stapleton, P. L., Tracy, J. H., Bammler, T. K., Strom, S. C., & Eaton, D. L. (2010). Sulforaphane-and phenethyl isothiocyanate-induced inhibition of aflatoxin B1-mediated genotoxicity in human hepatocytes: Role of GSTM1 genotype and CYP3A4 gene expression. *Toxicological Sciences*, 116(2), 422-432. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq135>
- Gupta, P., Wright, S. E., Kim, S. H., & Srivastava, S. K. (2014). Phenethyl isothiocyanate: A comprehensive review of anti-cancer mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1846(2), 405-424. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2014.08.003>
- Hecht, S. S. (1999). DNA adduct formation from tobacco-specific N-nitrosamines. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1-2), 127-142. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00014-7](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00014-7)
- Hanschen, F. S., Brüggemann, N., Brodehl, A., Mewis, I., Schreiner, M., Rohn, S., & Kroh, L. W. (2012). Characterization of products from the reaction of glucosinolate-derived isothiocyanates with cysteine and lysine derivatives formed in either model systems or broccoli sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31), 7735-7745. <https://doi.org/10.1021/jf301718g>
- Hayes, J. D., Kelleher, M. O., & Eggleston, I. M. (2008). The cancer chemopreventive actions of phytochemicals derived from glucosinolates. *European Journal of*

Nutrition, 47, 73-88. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-2009-8>

Hayes, J. D., McMahon, M., Chowdhry, S., & Dinkova-Kostova, A. T. (2010). Cancer chemoprevention mechanisms mediated through the Keap1–Nrf2 pathway. *Antioxidants & Redox signaling*, 13(11), 1713-1748. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3221>

Hofmann, T., Kuhnert, A., Schubert, A., Gill, C., Rowland, I. R., Pool-Zobel, B. L., & Glei, M. (2009). Modulation of detoxification enzymes by watercress: in vitro and in vivo investigations in human peripheral blood cells. *European Journal of Nutrition*, 48, 483-491. <https://doi.org/10.1007/s00394-009-0039-5>

Hsu, S. Y., Lee, S. C., Liu, H. C., Peng, S. F., Chueh, F. S., Lu, T. J., ... & Chou, Y. C. (2022). Phenethyl isothiocyanate suppresses the proinflammatory cytokines in human glioblastoma cells through the PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway in vitro. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), 2108289. <https://doi.org/10.1155/2022/2108289>

Hu, R., Xu, C., Shen, G., Jain, M. R., Khor, T. O., Gopalkrishnan, A., ... & Kong, A. N. T. (2006). Identification of Nrf2-regulated genes induced by chemopreventive isothiocyanate PEITC by oligonucleotide microarray. *Life sciences*, 79(20), 1944-1955. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.06.019>

Itoh, K., Chiba, T., Takahashi, S., Ishii, T., Igarashi, K., Katoh, Y., ... & Yamamoto, M. (1997). An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochemical and Biophysical Research*

- Communications*, 236(2), 313–322.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.6943>
- Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Ishii, T., Igarashi, K., Engel, J. D., & Yamamoto, M. (1999). Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes & Development*, 13(1), 76–86.
<https://doi.org/10.1101/gad.13.1.76>
- Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Ishii, T., O'Connor, T., & Yamamoto, M. (2003). Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles. *Genes to cells*, 8(4), 379-391.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2443.2003.00640.x>
- Ji, Y., & Morris, M. E. (2003). Determination of phenethyl isothiocyanate in human plasma and urine by ammonia derivatization and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 323(1), 39-47.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2003.08.011>
- Ji, Y., & Morris, M. E. (2004). Effect of organic isothiocyanates on breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated transport. *Pharmaceutical Research*, 21, 2261-2269.
<https://doi.org/10.1007/s11095-004-7679-1>
- Ji, Y., Kuo, Y., & Morris, M. E. (2005). Pharmacokinetics of dietary phenethyl isothiocyanate in rats. *Pharmaceutical Research*, 22, 1658-1666.
<https://doi.org/10.1007/s11095-005-7097-z>
- Johnson, J. A., Johnson, D. A., Kraft, A. D., Calkins, M. J., Jakel, R. J., Vargas, M. R., & Chen, P.-C. (2008). The Nrf2-ARE pathway: An indicator and modulator of oxidative stress in neurodegeneration. *Annals of the New York Academy of*

Sciences, 1147(1), 61-69.
<https://doi.org/10.1196/annals.1427.036>

- Katoh, Y., Itoh, K., Yoshida, E., Miyagishi, M., Fukamizu, A., and Yamamoto, M. (2001). Two domains of Nrf2 cooperatively bind CBP, a CREB binding protein, and synergistically activate transcription. *Genes to Cells*, 6(10), 857-868. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2443.2001.00469.x>
- Kensler, T. W. (1997). Chemoprevention by inducers of carcinogen detoxication enzymes. *Environmental Health Perspectives*, 105(suppl4), 965-970. <https://doi.org/10.1289/ehp.97105s4965>
- Kliebenstein, D. J., Kroymann, J., & Mitchell-Olds, T. (2005). The glucosinolate–myrosinase system in an ecological and evolutionary context. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(3), 264-271. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.03.002>
- Ko, H. S., Kim, K., Na, Y. R., Yeom, C. H., Nho, C. W., Cho, Y. S., ... & Park, K. W. (2025). Phenethyl Isothiocyanate (PEITC) interaction with Keap1 activates the Nrf2 pathway and inhibits lipid accumulation in adipocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 144, 109963. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2025.109963>
- Kobayashi, M., Li, L., Iwamoto, N., Nakajima-Takagi, Y., Kaneko, H., Nakayama, Y., Eguchi, M., Wada, Y., Kumagai, Y., & Yamamoto, M. (2009). The antioxidant defense system Keap1-Nrf2 comprises a multiple sensing mechanism for responding to a wide range of chemical compounds. *Molecular and Cellular Biology*, 29(2), 493–502. <https://doi.org/10.1128/MCB.01080-08>

- Konsue, N., & Ioannides, C. (2008). Tissue differences in the modulation of rat cytochromes P450 and phase II conjugation systems by dietary doses of phenethyl isothiocyanate. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3677-3683. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.046>
- Leinonen, H. M., Kansanen, E., Pölönen, P., Heinäniemi, M., & Levonen, A.-L. (2014). Role of the Keap1-Nrf2 pathway in cancer. *Advances in Cancer Research*, 122, 281–320. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800092-2.00005-0>
- Liu, Y., Chakravarty, S., & Dey, M. (2013). Phenethylisothiocyanate alters site-and promoter-specific histone tail modifications in cancer cells. *PLoS ONE*, 8(5), e64535. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064535>
- M. Ezzat, S., M. Merghany, R., M. Abdel Baki, P., Ali Abdelrahim, N., M. Osman, S., A. Salem, M., ... & Calina, D. (2024). Nutritional sources and anticancer potential of phenethyl isothiocyanate: molecular mechanisms and therapeutic insights. *Molecular Nutrition & Food Research*, 68(8), 2400063. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202400063>
- McMahon, M., Itoh, K., Yamamoto, M., Chanas, S. A., Henderson, C. J., McLellan, L. I., Wolf, C. R., Cavin, C., & Hayes, J. D. (2001). The Cap 'n' collar basic leucine zipper transcription factor Nrf2 (NF-E2 p45-related Factor 2) controls both constitutive and inducible expression of intestinal detoxification and glutathione biosynthetic enzymes. *Cancer Research*, 61(8), 3299–3307.
- Meunier, B., De Visser, S. P., & Shaik, S. (2004). Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. *Chemical Reviews*, 104(9), 3947-3980. <https://doi.org/10.1021/cr020443g>

- Mi, L., Wang, X., Govind, S., Hood, B. L., Veenstra, T. D., Conrads, T. P., ... & Chung, F. L. (2007). The role of protein binding in induction of apoptosis by phenethyl isothiocyanate and sulforaphane in human non-small lung cancer cells. *Cancer Research*, 67(13), 6409-6416. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-0340>
- Morris, C. R., Chen, S. C., Zhou, L., Schopfer, L. M., Ding, X., & Mirvish, S. S. (2004). Inhibition by allyl sulfides and phenethyl isothiocyanate of methyl-n-pentyl nitrosamine depropylation by rat esophageal microsomes, human and rat CYP2E1, and Rat CYP2A3. *Nutrition and Cancer*, 48(1), 54-63. https://doi.org/10.1207/s15327914nc4801_8
- Morris, M. E., & Dave, R. A. (2014). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of phenethyl isothiocyanate: implications in breast cancer prevention. *The AAPS Journal*, 16, 705-713. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9610-y>
- Nakajima, M., Yoshida, R., Shimada, N., Yamazaki, H., & Yokoi, T. (2001). Inhibition and inactivation of human cytochrome P450 isoforms by phenethyl isothiocyanate. *Drug Metabolism and Disposition*, 29(8), 1110-1113. <https://doi.org/10.1124/dmd.29.8.1110>
- Nguyen, T., Nioi, P., & Pickett, C. B. (2009). The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 284(20), 13291-13295. <https://doi.org/10.1074/jbc.R900010200>
- Park, J. E., Sun, Y., Lim, S. K., Tam, J. P., Dekker, M., Chen, H., & Sze, S. K. (2017). Dietary phytochemical PEITC restricts tumor development via modulation of epigenetic

- writers and erasers. *Scientific Reports*, 7(1), 40569. <https://doi.org/10.1038/srep40569>
- Pool-Zobel, B., Veeriah, S., & Böhmer, F. D. (2005). Modulation of xenobiotic metabolising enzymes by anticarcinogens—focus on glutathione S-transferases and their role as targets of dietary chemoprevention in colorectal carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 591(1-2), 74-92. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.04.020>
- Prawan, A., Saw, C. L. L., Khor, T. O., Keum, Y. S., Yu, S., Hu, L., & Kong, A. N. (2009). Anti-NF- κ B and anti-inflammatory activities of synthetic isothiocyanates: effect of chemical structures and cellular signaling. *Chemico-biological Interactions*, 179(2-3), 202-211. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.12.014>
- Prieto, M. A., López, C. J., & Simal-Gandara, J. (2019). Glucosinolates: Molecular structure, breakdown, genetic, bioavailability, properties and healthy and adverse effects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 90, 305-350. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.008>
- Sajadimajd, S., & Khazaei, M. (2018). Oxidative stress and cancer: the role of Nrf2. *Current Cancer Drug Targets*, 18(6), 538-557. <https://doi.org/10.2174/1568009617666171002144228>
- Salazar, M., Rojo, A. I., Velasco, D., de Sagarra, R. M., and Cuadrado, A. (2006). Glycogen synthase kinase-3 β inhibits the xenobiotic and antioxidant cell response by direct phosphorylation and nuclear exclusion of the transcription factor Nrf2. *Journal of Biological Chemistry*, 281 (21), 14841-14851. <https://doi.org/10.1074/jbc.M513737200>

- Saracino, M. R., & Lampe, J. W. (2007). Phytochemical regulation of UDP-glucuronosyltransferases: implications for cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, 59(2), 121-141. <https://doi.org/10.1080/01635580701458178>
- Shankar, M. G., Swetha, M., Keerthana, C. K., Rayginia, T. P., Nair, H. B., et al. (2022). Cancer chemoprevention: A strategic approach using phytochemicals. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 809308. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.809308>
- Shapiro, T. A., Fahey, J. W., Wade, K. L., Stephenson, K. K., & Talalay, P. (1998). Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 7(12), 1091-1100.
- Shapiro, T. A., Fahey, J. W., Wade, K. L., Stephenson, K. K., & Talalay, P. (2001). Chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts: metabolism and excretion in humans. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 10(5), 501-508.
- Singh, S. V., & Singh, K. (2012). Cancer chemoprevention with dietary isothiocyanates mature for clinical translational research. *Carcinogenesis*, 33(10), 1833-1842. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs216>
- Singh, S. V., Kim, S. H., Sehrawat, A., Arlotti, J. A., Hahm, E. R., Sakao, K., ... & Dhir, R. (2012). Biomarkers of phenethyl isothiocyanate-mediated mammary cancer chemoprevention in a clinically relevant mouse model. *Journal of the National Cancer Institute*, 104(16), 1228-1239. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs321>

- Sporn, M. B., Dunlop, N. M., Newton, D. L., & Smith, J. M. (1976, May). Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids). *Federation Proceedings*, 35(6), 1332-1338.
- Steele, V. E., & Kelloff, G. J. (2005). Development of cancer chemopreventive drugs based on mechanistic approaches. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 591(1-2), 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.04.018>
- Steinbrecher, A., & Linseisen, J. (2009). Dietary intake of individual glucosinolates in participants of the EPIC-Heidelberg cohort study. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 54(2), 87-96. <https://doi.org/10.1159/000209266>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Surh, Y. J. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Reviews Cancer*, 3(10), 768-780. <https://doi.org/10.1038/nrc1189>
- Surh, Y. J., Kundu, J. K., & Na, H. K. (2008). Nrf2 as a master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals. *Planta Medica*, 74(13), 1526-1539. <https://doi.org/10.1055/s-00028-1088302>
- Taguchi, K., Motohashi, H., & Yamamoto, M. (2011). Molecular mechanisms of the Keap1–Nrf2 pathway in stress

- response and cancer evolution. *Genes to cells*, 16(2), 123-140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2010.01473.x>
- Tang, L., Li, G., Song, L., & Zhang, Y. (2006). The principal urinary metabolites of dietary isothiocyanates, N-acetylcysteine conjugates, elicit the same anti-proliferative response as their parent compounds in human bladder cancer cells. *Anti-cancer Drugs*, 17(3), 297-305.
- Tong, K. I., Kobayashi, A., Katsuoka, F., & Yamamoto, M. (2006). Two-site substrate recognition model for the Keap1–Nrf2 system: A hinge and latch mechanism. *Biological Chemistry*, 387(10-11), 1311–1320. <https://doi.org/10.1515/BC.2006.164>
- Xu, C., Yuan, X., Pan, Z., Shen, G., Kim, J. H., Yu, S., ... & Kong, A. N. T. (2006). Mechanism of action of isothiocyanates: the induction of ARE-regulated genes is associated with activation of ERK and JNK and the phosphorylation and nuclear translocation of Nrf2. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(8), 1918-1926. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-05-0497>
- Vasiliou, V., Ross, D., & Nebert, D. W. (2006). Update of the NAD (P) H: quinone oxidoreductase (NQO) gene family. *Human Genomics*, 2, 1-7. <https://doi.org/10.1186/1479-7364-2-5-329>
- Vaughn, S. F., & Berhow, M. A. (2005). Glucosinolate hydrolysis products from various plant sources: pH effects, isolation, and purification. *Industrial Crops and Products*, 21(2), 193-202. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.03.004>
- Vig, A. P., Rampal, G., Thind, T. S., & Arora, S. (2009). Bio-protective effects of glucosinolates–A review. *LWT-Food Science and Technology*, 42(10), 1561-1572. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.023>

- Wang, H., Liu, K., Geng, M., Gao, P., Wu, X., Hai, Y., et al. (2013). RXRa inhibits the NRF2-ARE signaling pathway through a direct interaction with the Neh7 domain of NRF2. *Cancer Research*, 73(10), 3097–3108. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3386>
- Waris, G., & Ahsan, H. (2006). Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of Carcinogenesis*, 5, 14. <https://doi.org/10.1186/1477-3163-5-14>
- Weinstein, I. B. (1991). Cancer prevention: recent progress and future opportunities. *Cancer Research*, 51(Suppl18), 5080-5085.
- Wogan, G. N., Hecht, S. S., Felton, J. S., Conney, A. H., & Loeb, L. A. (2004). Environmental and chemical carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biology*, 14(6), 473-486. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2004.06.010>
- Wu, Q. J., Yang, Y., Vogtmann, E., Wang, J., Han, L. H., Li, H. L., & Xiang, Y. B. (2013). Cruciferous vegetables intake and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of observational studies. *Annals of Oncology*, 24(4), 1079-1087. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds601>
- Wu, X., Patterson, S., & Hawk, E. (2011). Chemoprevention—history and general principles. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 25(4-5), 445-459. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2011.10.012>
- Yoshigae, Y., Sridar, C., Kent, U. M., & Hollenberg, P. F. (2013). The inactivation of human CYP2E1 by phenethyl isothiocyanate, a naturally occurring chemopreventive agent, and its oxidative bioactivation. *Drug Metabolism and Disposition*, 41(4), 858-869. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.050609>

- Zhang, D. D. (2006). Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *Drug Metabolism Reviews*, 38(4), 769-789. <https://doi.org/10.1080/03602530600971974>
- Zhang, D. D., & Hannink, M. (2003). Distinct cysteine residues in Keap1 are required for Keap1-dependent ubiquitination of Nrf2 and for stabilization of Nrf2 by chemopreventive agents and oxidative stress. *Molecular and Cellular Biology*, 23(22), 8137–8151. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.22.8137-8151.2003>
- Zhao, B., Seow, A., Lee, E. J., Poh, W. T., Teh, M., Eng, P., ... & Lee, H. P. (2001). Dietary isothiocyanates, glutathione S-transferase-M1,-T1 polymorphisms and lung cancer risk among Chinese women in Singapore. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 10(10), 1063-1067.
- Zhou, J., Zheng, Q., & Chen, Z. (2022). The Nrf2 pathway in liver diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 826204. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.826204>

TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA
AKADEMİK TARTIŞMALAR

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com