

Araştırma Makalesi

Ardahan’da Yetişen Kediotunun (*Valeriana officinalis* L.) Antimikrobiyal Ve Antioksidan Potansiyelinin Belirlenmesi

Vesile DÜZGÜNER*, Nurcan ERBİL

Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu, 75000, Ardahan

*Sorumlu yazar: vesileduzguner@ardahan.edu.tr

Geliş Tarihi: 10.12.2018

Düzeltilme Geliş Tarihi: 04.03.2019

Kabul Tarihi: 13.03.2019

Özet

Valerianaceae familyasına ait olan kediotu (*Valeriana officinalis* L.) yerel olarak Avrupa ve Asya’da bulunan çiçekli bir bitkidir ve çoğunlukla uykusuzluk hastalığı ve kaygı bozukluklarının tedavisi için kullanılmaktadır. Bu çalışmada Ardahan yöresinden toplanan kediotunun antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Kediotunun metanol/etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus megaterium* (DSM 32), *Escherichia coli*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae*’ya karşı test edilmiştir. Bitkilerin Glutatyon (GSH) düzeyi spektrofotometrik olarak, total oksidan ve antioksidan kapasiteleri (sırasıyla TOK ve TAK) ise ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Kediotunun, bu çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarına karşı hafif oranda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Metanol ekstraktlarındaki GSH düzeyi etanol ekstraktlarından daha yüksek çıkmıştır. Benzer şekilde total antioksidan kapasite ölçümlerinde metanol ekstraktlarındaki değerler etanol ekstraktlarından fazla saptanmıştır. Sonuç olarak *Valeriana officinalis*’in yararlı etkilerini belirleyen antibakteriyel ve antioksidatif içeriklerinin etki mekanizması ile ilişkisinin *in vitro* çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal, Antioksidan, Glutatyon, Oksidatif Stres, *Valeriana Officinalis*.

Determination of Antioxidative and Antimicrobial Potential of Valerian (*Valeriana officinalis* L.) Grown in Ardahan Region

Abstract

Valerian (*Valeriana officinalis* L.) that belongs to Valerianaceae family is a flowering plant native to Europe, and Asia and it is most commonly used for the treatment of insomnia and anxiety disorders. In this study, the antimicrobial activity and an antioxidant capacity of valerian collected from Ardahan region were investigated. Methanol/ethanol extracts of valerian were tested for antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus megaterium* (DSM 32), *Escherichia coli*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. The measurements of glutathione (GSH) levels were done spectrophotometrically and total oxidant and antioxidant capacity (TOC and TAC, respectively) were performed by ELISA method. Antibacterial activity was found at different rate against test microorganisms used in this study. Additionally, GSH levels were higher in methanolic extracts than ethanolic extracts. Similarly, it was determined that TAC in the methanolic extract was much better than ethanolic extract. In conclusion, it has been concluded that the mechanism of action of antibacterial and antioxidative ingredients that determine beneficial effects of *Valeriana officinalis* should be supported by *in vitro* studies.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Glutathione, Oxidative Stress, *Valeriana officinalis*.

Giriş

Reaktif oksijen türleri (ROS), normal aerobik metabolizmanın istenmeyen metabolik yan ürünleri olarak tüm hücrelerde oluşan yüksek derecede reaktif ve potansiyel olarak zararlı geçici kimyasal türlerdir. Hücreler, çeşitli endojen ROS temizleyici enzimler ve kimyasal bileşikler tarafından ROS kaynaklı hasardan korunur (Halliwell ve Gutteridge, 1990). ROS üreten mekanizmalar ve temizleyici hücre içi sistemler arasındaki dengesizlikten kaynaklanan doku hasarı ('oksidatif stres'), kanser, kalp hastalıkları, Alzheimer ve diyabet gibi çeşitli rahatsızlıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Antioksidanlar ise, biyomolekülleri serbest radikallerin neden olduğu saldırılara karşı koruyabilirler. Genel olarak, antioksidanlar sentetik ve doğal olmak üzere iki gruba ayrılır. Doğal antioksidanlar tüm yüksek bitkilerde ve bitkinin tüm kısımlarında (ağaç, ağaç kabuğu, saplar, bakla, yapraklar, meyve, kökler, çiçekler, polenler ve tohumlar) oluşur. Antioksidan aktivite sergileyen tipik bileşikler arasında vitaminler, karotenoidler ve fenolikler bulunur. Son zamanlarda, bu tür serbest radikal kaynaklı doku hasarının azaltılmasında antioksidanlar olarak tıbbi bitkilerin terapötik potansiyeline farmakolojik aktiviteleri, düşük toksisite ve ekonomik canlılık nedeniyle ilgi artmıştır. (Gülçin ve ark., 2002; Arranz ve ark., 2008).

Valerian (*Valeriana officinalis* L.), özellikle Amerika, Avrupa ve Asya'nın farklı bölgelerinde dağılmış olan yerli bir bitkidir (Hadley ve Petty, 2003). Türkiye'de halk arasında "kediotu" olarak bilinir. Valerian türlerinin hipnotik, sedatif, anksiyolitik, antikonvülsan ve antidepresan gibi birçok tedavi edici özellikleri olduğu bildirilmiştir (Andreatini ve ark., 2002). Valerianaceae familyasından *Valeriana officinalis*'in kurutulmuş yeraltı kısımları (kökleri ve rizomları) modern bitkisel madde ürünleri, geleneksel sedatifler ve anti-anksiyete ve sindirim formülasyonları hazırlamak için kullanılmaktadır (Letchamo ve ark., 2004). Valerian rizomları, uçucu yağ ve onun seskiterpenoidleri (valerenik asit), epoksi iridoid esterleri, aminoasitler ve alkaloidleri içeren çeşitli bileşikler içermektedir (Neamati ve ark., 2014). Geleneksel tıpta, bu bitkinin çeşitli bitkisel formülasyonlarının hipertansiyon, anjina, çarpıntı, astım, hepatik kolik ve menstrüel krampların tedavisi için kullanılması önerilmiştir (Circosta ve ark., 2007).

V. officinalis 'in bazı bileşenlerinin terapötik etkisinin, antioksidan aktiviteleri ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Son çalışmalarda *V. officinalis* ekstrelerinin farklı in vitro ve in vivo modellerde antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Malva ve ark., 2004; Oliveira ve ark., 2009; Sudati ve ark.,

2009; Jugran ve ark., 2015). *V. officinalis* ekstreleri veya esansiyel yağlarla muamele edildikten sonra insanlarda veya kemirgenlerde hiçbir toksisite bulgusuna rastlanmamıştır (Pereira ve ark., 2009).

Araştırmamızda, valerian bitkisinin etanol / metanol ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilerek potansiyel yararlı etkilerinin açıklanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Valerian (*Valeriana officinalis* L.) örnekleri, 2017 yılının Haziran ayında Ardahan ilinin Posof ilçesi Türkgözü köyünün Gürcistan sınırına yakın bölgesinden (Rakım: 1218 m) toplandı. Örnekler enkazdan arındırılarak, oda sıcaklığında gölgede kurutuldu ve son olarak toz haline getirildi.

Ekstraktların hazırlanması

10 g toz halinde bitki materyali, Soxhlet aparatına yüklendi ve ekstraksiyon, 6 saat boyunca 300 ml metanol (pi: 6.6) ve etanol (pi: 5.2) kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen karışım, döner buharlaştırıcı (SciLogex RE100-Pro) ile konsantre edildi. Filtre ile sterilize edilen ekstrakt, kullanıma kadar soğutuldu (-18 °C).

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde agar difüzyon yöntemi kullanılırken, valerian'dan elde edilen etanol ekstresi için disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla 2 Gram (-) (*Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia Coli*) ve 2 Gram (+) bakteri (*Bacillus Megaterium* DSM 32, *Staphylococcus Aureus* ATCC 6538) ve 3 mantar türü (*Yarrowia Lipolytica*, *Candida Albicans*, *Saccharomyces Cerevisiae*) test mikroorganizmaları olarak kullanıldı. 100 µl etanolik ekstrakt, steril diskler (6 mm) tarafından emilirken, steril kuyulara (6 mm) aynı doz metanolik ekstrakt eklendi. Pozitif kontrol olarak Gentamisin disk kullanıldı. İnhibisyon bölgeleri vernier kaliper ile ölçüldü ve mm olarak 3 replikasyonun ortalama çapı olarak kaydedildi. Tüm testler üç kez gerçekleştirildi ve ortalamalar ortalandı.

Biyokimyasal analizler

Glutatyon (GSH) düzeyleri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü (Sedlak ve Lindsay, 1968). 5,5 dithiobis-2-nitrobenzoic asit ile örneklerdeki GSH'nin reaksiyonu ile oluşan son ürün 410 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar, mmol / L olarak ifade edildi. Toplam antioksidan kapasite (TAC) ticari ELISA kiti ile belirlendi. Analiz, ABTS®'ye (2,2'-Azino-di-[3- etilbenziazolin sülfonat]), bir peroksidaz

(metmyoglobin) ve H₂O₂ ile radikal katyon ABTS® + 'yı üretmek üzere inkübe edilir. Bu, 600 nm'de ölçülen nispeten sabit mavi-yeşil bir renge sahiptir. Eklenen numunedeki antioksidanlar, bu renk üretiminin konsantrasyonları ile orantılı bir dereceye kadar bastırılmasına neden olur.

Toplam oksidan kapasitesini (TOC) ölçmek için Ticari ELISA kiti kullanıldı. Numunede bulunan oksidantlar demir iyonu-kenetleme kompleksini ferrik iyonla okside eder. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan güçlendirici moleküller tarafından uzatılır. Demir iyonu asidik bir ortamda kromojen ile renkli bir kompleks yapar. Renk dansitesi, örneklerde bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Numunelerin fenolik içeriği, Lister ve Wilson (2001) yöntemi kullanılarak Folin-Ciocalteu reaktifi ile tespit edildi. Bitki ekstraktı (100 µl) 0.2 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 ml H₂O ile karıştırıldı ve 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Karışıma 1 ml% 20 sodyum karbonat eklendikten sonra, oda sıcaklığında 1 saat inkübasyondan sonra toplam

polifenoller belirlendi. Elde edilen mavi rengin absorbansı bir spektrofotometre ile 765 nm'de ölçüldü. Kuantifikasyon, standart gallik asit eğrisine göre yapıldı. Bütün tespitler üç kopya halinde gerçekleştirildi (n = 3).

İstatistik

İstatistiksel analizler SPSS (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi) bilgisayar programı (versiyon 16.0) kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama ± SE olarak sunulmuştur. P <0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular ve Tartışma

GSH düzeylerinin ve toplam fenolik içeriklerin sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. *Valerian* ekstraktlarında GSH içeriğinin yüksek olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte metanol ekstraktları etanol ekstraktlarından daha fazla GSH içermektedir (p<0.005). Metanol ekstraktlarının total fenolik içeriği Etanol ekstraktlarından 4 kat daha fazladır (p<0.001).

Tablo 1. *Valeriana officinalis* GSH ve total fenolik içerik düzeyleri

İçerik	Etanol	Metanol
GSH (mmol/L)	465.62 ± 6.77	662.00 ± 6.42
Total fenolik içerik (mGAE/ g dw)	530 ± 4.35	2098 ± 29.14

Valerian'in etanol / metanol ekstrelerinin total antioksidan kapasitesi yüksek düzeylere (sırasıyla 4890 ± 0.0033; 5120 ± 0.0018) sahipken,

düşük seviyelerde total oksidan seviyeleri tespit edilmiştir. Bu nedenle oksidatif stres indeksi düşük çıkmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Total oksidan ve antioksidan kapasite değerleri

Kapasite değerleri	Etanol	Metanol
Total antioksidan kapasite (µmol/L)	4890 ± 0.0033	5120 ± 0.0018
Total oksidan kapasite (µmol/L)	26.67 ± 5.77	17.78 ± 6.66
Oksidatif stres indeksi (µmol/L)	0.545 ± 0.002	0.347 ± 0.0011

Valerian ekstraktları, bu çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarına karşı hafif antibakteriyel etkinlik göstermiştir (Tablo 3). *Valerian* etanolik ekstraktlarının, test bakterilerine karşı metanolik ekstraktan iki kat daha yüksek

antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Ancak ekstraktlar, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Yarrowia lipolytica*'ya karşı antifungal aktivite göstermemiştir.

Tablo 3. *Valeriana officinalis*'in antimikrobiyal aktivitesi

Bakteri	Etanol (mm)	Metanol (mm)	Gentamicin (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	12.86 ± 0.65	6.98 ± 0.09	28.93 ± 0.82
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	14.46 ± 0.54	7.03 ± 0.40	27.19 ± 0.50
<i>Escherichia coli</i>	14.29 ± 0.51	7.20 ± 0.63	25.24 ± 0.31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	14.46 ± 0.32	7.49 ± 0.31	24.80 ± 0.19

Valeriana officinalis fenolik içeriği ve ekstraktları uzun zamandır geleneksel tıpta uykusuzluk ve anksiyete gibi bazı nöronal hastalıkların tedavisi için kullanılmıştır (Sudative ark., 2009). Kediotu kökünün sulu ekstraktının,

herhangi bir yan etkisi olmadan insanda uyku kalitesini iyileştirdiği bildirilmiştir (Müller ve ark., 2012). *Valerianaceae*'nin diğer cinsi olan izole *Valeriana fauriei* Briq köklerinden gelen seskiterpenler de antidepresan aktiviteye sahiptir

(Liu ve ark., 2012). Tardive diskinezi ve diğer nöronal hastalıklarda, dopaminerjik ve kolinerjik sistemler arasında bozulmuş denge, striatonigral GABAerjik nöronların disfonksiyonu, glutamat ile teşvik edilen eksitotoksikite ve serbest radikallerin aşırı üretimi gibi mekanizmaların yer aldığı bildirilmiştir (Andreassen ve Jorgensen, 2000). Kedi otunun merkezi sinir sistemindeki yararlı etkilerinin ise, mekanizması tam olarak ortaya çıkarılmasa da, beyindeki GABA, melatonin, adenosin veya serotonin sistemleri ile etkileşerek ortaya çıkabileceğini düşünülmektedir (Abourashed ve ark., 2004).

Yapılan çalışmada *V. officinalis*'in antimikrobiyal ve antioksidatif potansiyeli değerlendirilmiş ve sonuçlar bu bitkinin antioksidan kapasitesinin ve toplam fenolik içeriğin anlamlı düzeyde yüksek olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, Sudati ve ark. (2009), *V. officinalis*'in bazı bileşiklerinin fitomedikal özelliklerinin, antioksidan aktivitelerine bağlı olduğuna inanmaktadır. Ayrıca, uykusuzluğun oksidatif strese bir artışla ilişkili olabileceğini ve *V. officinalis*'in bu durumun sonuçlarını iyileştirmek için kullanıldığını düşünmektedirler. *V. officinalis* ekstraktları ile yapılan in vitro model çalışmaları, yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Malva ve ark., 2004; Sudati ve ark., 2009) ve Parkinson hastalığında sitoprotektif bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Oliveira ve ark., 2009).

Antioksidan etkinin bitkinin içerdiği fenolik içeriklerin yoğunluğundan kaynaklandığı bilinmektedir. Önceki çalışmalar bu sonuçları desteklemiş ayrıca, *V. officinalis* 'in antioksidatif aktivitelerinden, bileşenlerden biri olan valerianik asidin sorumlu olabileceği tespit edilmiştir (Pereira ve ark., 2009; Wu ve ark., 2009).

Sung ve ark. (2013), enzimatik olmayan glikasyon yoluyla gelişmiş glikasyon son ürünleri oluşturmak için hem in vivo hem de in vitro proteinler ve peptitlerdeki amino asitlerin serbest aminleriyle kolayca reaksiyona giren bir indirgeyici şeker olan D- galaktoz ile yaptıkları uygulamalarda bu etkenin verilmesinin insan yaşlanmasına benzer hayvanlarda yaşlanma sendromları ile sonuçlanabileceği bildirilmiştir. Ancak Valerian ekstraktları ve / veya *Valerian* fenoliklerinden olan valerenik asit verilmesinin d-gal kaynaklı hafıza fonksiyonu, hücre proliferasyonu, nöroblast farklılaşması ve serum kortikosteron ve lipid peroksidasyon artışını belirgin şekilde iyileştirdiğini tespit etmişlerdir.

Kedi otunun diğer yararlı özellikleri incelendiğinde, Chen ve ark. (2015), *Valeriana officinalis* tedavisinin İskemi / Reperfüzyon hasarını önemli ölçüde iyileştirdiğini ve kalp atımını

desteklediğini göstermiştir. Ayrıca *Valeriana officinalis*'in malondialdehid (MDA) seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü ve süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir. *Valeriana officinalis*'in ekstraktlarının lipit peroksidasyonuna karşı önemli bir indirgeyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Neamati ve ark., 2014).

Sonuç ve Öneriler

Yapılan çalışma ve kaynaklar, düşük seviyelerde oksidatif stres ve yüksek seviyelerde antioksidan kapasite, glutatyon ve toplam fenolik içeriğin, kedi otunun tedavi edici etki mekanizmasının nedeni olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, kedi otunun koruyucu etki mekanizmalarının belirlenebilmesi için karmaşık ve çeşitli etken maddelere sahip biyoaktivitesinin ve bunun antioksidatif içeriğiyle bağlantılı olup olmadığının daha ileri düzeyde çalışmalarla incelenmesinin uygun olduğu kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- Abourashed, E.A., Koetter, U., Brattstrom, A. 2004. In vitro binding experiments with a valerian, hops and their fixed combination extract (Ze91019) to selected central nervous system receptors. *Phytomedicine*, 11: 633-8.
- Andreassen, O.A., Jorgensen, H.A. 2000. Neurotoxicity Associated with Neuroleptic Induced Oral Dyskinesias in rats. Implications for Tardive Dyskinesia? *Progress in Neurobiology*, 61: 525-41.
- Andreatini, R., Sartori, V.A., Seabra, M.L., Leite, J.R. 2002. Effect of valepotriates (valerian extract) in generalized anxiety disorder: A randomized placebo-controlled pilot study. *Phytotherapy Research*, 16: 650-654.
- Arranz, S., Cert, R., Pérez-Jiménez, J., Cert, A., Saura-Calixto, F. 2008. Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. *Food Chemistry*, 110: 985-990.
- Chen, H.W., Wei, B.J., He, X.H., Liu, Y., Wang, J. 2015. Chemical Components and cardiovascular activities of *Valeriana* spp. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, doi:10.1155/2015/947619.
- Circosta, C., De Pasquale, R., Samperi, S., Pino, A., Occhiuto, F. 2007. Biological and analytical characterization of two extracts from *Valeriana officinalis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 361-367.

- Gülçin, I., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.I., Aslan, A. 2002. Determination of Antioxidant Activity of Lichen *Cetraria islandica* (L). *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 325-329.
- Hadley, S., Petry, J.J. 2003. Valerian. *American Family Physician*, 67: 1755-1758.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in Enzymology*, 186: 1-85.
- Jugran, A.K., Bahukhandi, A., Dhyani, P., Bhatt, I.D., Rawal, R.S., Nandi, S.K., Palni, L.M.S. 2015. The effect of inoculation with mycorrhiza: AM on growth, phenolics, tannins, phenolic composition and antioxidant activity in *Valeriana jatamansi* Jones. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15(4): 1035-1049.
- Letchamo, W., Ward, W., Heard, B., Heard, D. 2004. Essential oil of *Valeriana officinalis* L. Cultivars and their antimicrobial activity as influenced by harvesting time under commercial organic cultivation. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52 (12): 3915-3919.
- Lister, E., Wilson, P. 2001. Measurement of Total Phenolics and ABTS Assay for Antioxidant Activity (personal communication). Crop Research Institute Lincoln, New Zealand.
- Liu, X.G., Gao, P.Y., Wang, G.S., Song, S.J., Li, L.Z., Li, X., Yao, X.S., Zhang, Z.X. 2012. In vivo antidepressant activity of sesquiterpenes from the roots of *Valeriana fauriei* Briq. *Fitoterapia*, 83: 599-603.
- Malva, J.O., Santos, S., Macedo, T. 2004. Neuroprotective properties of *Valeriana officinalis* extracts. *Neurotoxicological Research*, 6: 131-40.
- Müller, L.G., Salles, L.A., Stein, A.C., Betti, A.H., Sakamoto, S., Cassel, E., Vargas, R.F., Von Poser, G.L., Rates, S.M.K. 2012. Antidepressant-like effect of *Valeriana glechomifolia* Meyer (valerianaceae) in mice. *Progress on Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 36: 101-109.
- Neamati, A., Chaman, F., Hosseini, M., Boskabady, M.H. 2014. The effects of *Valeriana officinalis* L. hydro-alcoholic extract on depression like behavior in ovalbumin sensitized rats. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 6(2): 97-103.
- Oliveira, D.M., Barreto, G., De Andrade, D.E.V., Saraceno, E., Aon-Bertolino, L., Capani, F., El Bacha, R.S., Giraldez, L.D. 2009. Cytoprotective effect of *Valeriana officinalis* extract on *in vitro* experimental model of Parkinson disease. *Neurochemical Research*, 34: 215-220.
- Pereira, R.P., Fachinnetto, R., Prestes, A.S., Puntel, R.L., Silva, G.N.S., Heinzmann, B.M., Boschetti, T.K., Athayde, M.L., Burger, M.E., Morel, A.F., Morsh, V.M., Rocha, J.B.T. 2009. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citrates*. *Neurochemical Research*, 34: 973-983.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H. 1968. Estimation of Total protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25(1): 192-205.
- Sudati, J.H., Fachinnetto, R., Pereira R.P., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Soares, F.A., De Vargas Barbosa, N.B., Teixeira Rocha J.B. 2009. *In vitro* antioxidant activity of *Valeriana officinalis* against different neurotoxic agents. *Neurochemical Research*, 34: 1372-1379.
- Sung, M.N., Jung, H.C., Dae, Y.Y., Woosuk, K., Hyo, Y.J., Jong, W., Soo-Yong, K., Jaeil, P., Dong-Woo, K., Wan, J.K., Yeo, S.Y., In, K.H. 2013. *Valeriana officinalis* extract and its main component, valerenic acid, ameliorate d-galactose-induced reductions in memory, cell proliferation, and neuroblast differentiation by reducing corticosterone levels and lipid peroxidation. *Experimental Gerontology*, 48(11): 1369-1377.
- Wu, J.W., Hsieh, C.L., Wang, H.Y., Chen, H.Y. 2009. Inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts and its active compounds on the glycation process of protein. *Food Chemistry*, 113: 78-84.