

**RATLARDA *Thermopsis turcica*
BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN ANTIOKSİDAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasemin ÇELİK

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKKURT

Tez No: 2014 – 004

2014 – AFYONKARAHİSAR

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA *Thermopsis turcica* BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasemin ÇELİK

**VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKKURT

**Bu tez Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 12.SAĞ. BİL.15 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 2014 – 004

2014 – AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

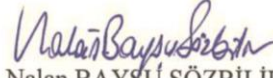
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Biyokimya programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

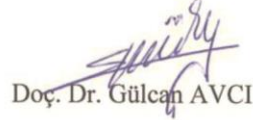
Tez Savunma Tarihi: 24.02.2014



Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı



Doç. Dr. Gülcan AVCI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

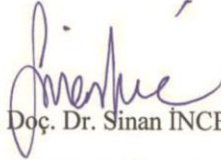
Üye



Doç. Dr. Miyase ÇINAR

Kırıkkale Üniversitesi

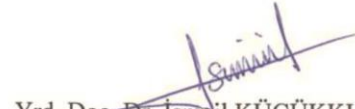
Üye



Yrd. Doç. Dr. Sinan İNCE

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye



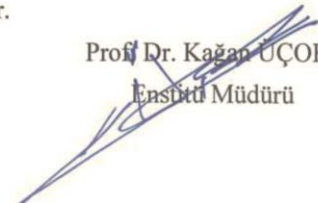
Yrd. Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKKURT

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi Yasemin ÇELİK'in "Ratlarda *Thermopsis turcica* Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 05/02/2014 günü saat 16.00'de Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kağan ÜÇOK
Enstitü Müdürü



ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim süresince, tezimin oluşması, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında büyük destek, yardım ve rehberliğini esirgemeyen AKÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi, danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKKURT'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yetişmemde büyük emeği geçen, AKÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. Nihat BAYŞU'ya, Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR'e, Prof. Dr. Yılmaz DÜNDAR'a, Doç. Dr. Gülcan AVCI'ya, Doç. Dr. Fatih FİDAN'a, gösterdikleri özveriden dolayı sonsuz saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmamın labratuar ve yazım aşamalarında yardımcı olan tezimin son aşamasına kadar büyük zaman ve emek harcayan Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Sinan İNCE hocama teşekkür ederim.

Tez verilerimin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımcı olan, vakit ayıran, tanımaktan mutluluk duyduğum AKÜ Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Nurhan DOĞAN hocama teşekkür ederim.

Tez aşamamda; bitki ekstraksiyon işleminde bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, zaman harcayan, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, AKÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Laçine AKSOY'a teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımdayki yardımlarından dolayı AKÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı doktora öğrencileri Damla ARSLAN ve Barış DENK'e çok teşekkür ederim.

12. SAĞ. BİL.15 numaralı proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde emeği tartışılmaz olan annem ve aramızdan erken ayrılan rahmetli baba'ma, sevgisiyle her zaman yanımda olan eşim Ahmet ÇELİK'e

ve sıkıntılı anlarımda bana neşe kaynağı olan sevgili oğlum Arda'ya en derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
KABUL VE ONAY	I
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
SİMGELER VE KISALTMALAR	IV
ŞEKİLLER	V
TABLolar	VI
GRAFİKLER	VII
RESİMLER	VII
1. GİRİŞ	1
1.1. GENEL BİLGİLER	2
1.1.1. Baklagiller (Fabaceae)	2
1.1.2. Thermopsis turcica	4
1.1.2.1. Thermopsis turcica' nın Genel Özellikleri	5
1.1.2.2. Thermopsis turcica Bitki İçeriği	6
1.1.2.2.1. Alkaloidler	7
1.1.2.2.1.1. Lupin Alkaloid	7
1.1.2.2.1.2. Anagirin	8
1.1.2.2.1.3. Sitisin	9
1.1.2.2.2. Fenolik Bileşikler	9
1.1.2.2.3. Kumarin	10
1.1.2.2.4. Glikozitler	11
1.1.3. Thermopsis turcica ve Türleri İle İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar	11
1.2. SERBEST RADİKALLER	14
1.2.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri	15

1.2.1.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri.....	16
1.2.1.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	17
1.2.1.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri.....	18
1.2.1.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	18
1.3. REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ.....	19
1.3.1. Süperoksit Radikali (O_2^-).....	20
1.3.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2).....	21
1.3.3. Hidroksil radikali (OH^\bullet)	23
1.3.4. Nitrik Oksit (NO^\bullet).....	24
1.3.5. Singlet Oksijen (1O_2)	24
1.4. Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehid -MDA).....	24
1.5. OKSİDAN – ANTİOKSİDAN SİSTEM	25
1.5.1. Endojen antioksidanlar	26
1.5.1.2. Glutasyon (GSH)	26
1.5.1.3. Süperoksit dismutaz (SOD).....	27
1.5.1.4. Katalaz (CAT)	28
1.5.1.5. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px).....	28
1.5.1.6. Glutasyon redüktaz (GSH-Rd).....	30
1.5.1.7. Glutasyon S-Transferazlar (GST)	30
1.5.2. Eksojen Antioksidanlar	31
1.6. Çalışmanın Amacı	31
2. MATERYAL ve METOD	33
2.1. MATERYAL	33
2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	33
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	34
2.2. METOD.....	36
2.2.1. Thermopsis turcica Bitki Temini.....	36
2.2.2. Thermopsis turcica Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması	37
2.2.2.1. Etanol Ekstraktının Hazırlanması	37
2.2.2.2. Su Ekstraktının Hazırlanması	38
2.2.3. Öldürücü Doz 50 ($ÖD_{50}$) Belirlenmesi.....	38

2.2.4. Hayvan Materyali	39
2.2.4.1. Çalışma Grupları	39
2.2.4.2. Eritrosit Paketlerinin Hazırlanması.....	41
2.2.4.3. Doku Örneklerinden Homojenizat Hazırlanması.....	42
2.2.5. Antioksidan Parametreler	43
2.2.5.3. Malondialdehid (MDA) Tayini	43
2.2.5.3.1. Tam Kan MDA Tayini.....	43
2.2.5.3.2. Doku MDA Tayini.....	44
2.2.5.4. Redükte Glutasyon (GSH) Tayini.....	45
2.2.5.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini	46
2.2.5.6. Katalaz Aktivite (CAT) Tayini	48
2.2.5.6.1. Protein Tayini.....	50
2.2.5.6.2. Hemoglobin Tayini.....	51
2.2.5.7. Plazma Antioksidan Aktivite Tayini	52
2.2.6. İstatistiksel Analizler	55
3. BULGULAR.....	56
3.1. Öldürücü Doz 50 (ÖD50).....	56
3.2. Rat Ağırlıkları.....	57
3.3. Malondialdehid (MDA).....	59
3.4. Redükte Glutasyon (GSH).....	61
3.5. Süperoksid Dismutaz (SOD).....	64
3.6. Katalaz (CAT).....	67
3.7. Plazma Antioksidan Aktivite (AOA).....	69
3.8. Kan ve Doku Örneklerinden Elde Edilen Antioksidan Aktivitelerin	
 Genel Değerlendirmesi.....	71
4.TARTIŞMA.....	73
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	81
ÖZET.....	83

ABSTRACT	85
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	99

SİMGELER VE KISALTMALAR

AOA:	Antioksidan Aktivite
ATP:	Adenozin trifosfat
BHA:	Bütillenmiş hidroksianiol
BHT:	Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT:	Katalaz
CMC:	Karboksimetil Selüloz
CPK:	Kreatin fosfokinaz
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DPPH:	Difenilpikrilhidrazil
EDTA:	Etilendiamin tetraasetik asit
FDA:	Gıda ve İlaç Birliği
GSH- Rd:	Glutasyon reduktaz
GSH:	Redükte Glutasyon
GSH-Px:	Glutasyon peroksidaz
GSSG:	Okside glutasyon
GST:	Glutasyon-S-Transferaz
H ₂ O ₂ :	Hidrojen peroksit

HNO ₃ :	Nitrik asit
HO ₂ [•] :	Perhidroksi radikal
HOCl:	Hipoklorik asit
L [•] :	Lipid radikali
LDH:	Laktat Dehidrogenaz
LOO [•] :	Lipid peroksit radikali
LOOH:	Lipidperoksit
LP:	Lipid peroksidasyonu
MDA:	Malondialdehit
NAD:	Nikotinamid adenin dinükleotit
NBT:	Nitroblue tetrazolium
NO:	Nitrik oksit
NO ₂ :	Nitrojen dioksit
NO ₂ [•] :	Azot dioksit
O ⁻² :	Süperoksit anyonu
O ₂ ⁻ :	Singlet oksijen
O ₂ ^{•-} :	Süperoksit radikali
O ₂ ²⁻ :	Peroksit anyonu
O ₃ :	Ozon
OECD:	Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
OH [•] :	Hidroksil radikali
ÖD50:	Öldürücü doz 50

PLGSH-P_x: Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz

R[·] : Karbon merkezli organik radikaller

RCOO[·] : Organik peroksitler

RO[·] : Alkoksi radikalleri,

ROO[·] : Peroksit radikalleri

ROS: Reaktif oksijen türlerinin

RS[·]: Tiyil radikalleri

RSO[·]: Sülfenil radikalleri

RSO₂[·]: Tiyil peroksit radikalleri

SGOT: Glutamik-Oksaloasetik Transaminaz

-SH: Sülfhidril grupları

SOD: Süperoksit Dismutaz

TBA: Tiyobarbitürük asit

TCA: Trikloroasetik asit

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 1. Türkiyede yetişen bazı baklagil türleri.....	3
Şekil 2. Oksijenin indirgenmesi.....	19
Şekil 3. Hemogloblin tayininde kullanılan çözeltilerin karışım oranları.....	52

TABLULAR

	Sayfa No
Tablo 1. Etanollü Ekstrakt Verilen Ratlarda Öldürücü doz 50 (ÖD ₅₀) Uygulaması.....	56
Tablo 2. Sulu Ekstrakt Verilen Ratlarda Öldürücü doz 50 (ÖD ₅₀) Uygulaması.....	57
Tablo 3. Çalışma Boyunca Elde Edilen Rat Ağırlıkları.....	58
Tablo 4. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Malondialdehid (MDA) Değerleri.....	59
Tablo 5. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Glutasyon (GSH) Değerleri.....	62
Tablo 6. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Süperoksit dismutaz (SOD) Değerleri.....	65
Tablo 7. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Katalaz (CAT) Değerleri.....	67
Tablo 8. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Antioksidan aktivite (AOA) Değerleri.....	70
Tablo 9. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlarda Kan ve Doku Örneklerinden Elde Edilen Tüm Anti Oksidan	

Aktivite Değerleri.....	72
-------------------------	----

GRAFİKLER

	Sayfa No
Grafik 1. Çalışma Boyunca Elde Edilen Rat Ağırlıkları.....	58
Grafik 2. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Kan Malondialdehid (MDA) Değerleri.....	60
Grafik 3. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Karaciğer Malondialdehid (MDA) Değerleri.....	60
Grafik 4. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Böbrek Malondialdehid (MDA) Değerleri.....	61
Grafik 5. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Kan Glutasyon (GSH) Değerleri.....	63
Grafik 6. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Karaciğer Glutasyon (GSH) Değerleri.....	63
Grafik 7. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Böbrek Glutasyon (GSH) Değerleri.....	64
Grafik 8. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Eritrosit Süperoksit dismutaz (SOD) Aktivitesi Değerleri.....	65
Grafik 9. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki	

Karaciğer Süperoksit dismutaz (SOD) Aktivitesi Değerleri.....	66
Grafik 10. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki	
Böbrek Süperoksit dismutaz (SOD) Aktivitesi Değerleri.....	66
Grafik 11. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki	
Eritrosit Katalaz (CAT) Aktivitesi Değerleri.....	68
Grafik 12. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki	
Karaciğer Katalaz (CAT) Aktivitesi Değerleri.....	68
Grafik 13. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki	
Böbrek Katalaz (CAT) Aktivitesi Değerleri.....	69
Grafik 14. <i>Thermopsis turcica</i> Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki	
Plazma Antioksidan Aktivite (AOA) Değerleri.....	70

RESİMLER

Sayfa No

Resim 1. <i>Thermopsis turcica</i> bitkisi.....	4
-------------------------------------------------	---

1. GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Tahmini olarak yaklaşık 13000 bitki türünün dünya çapında tedavi amaçlı olarak kullanıldığı bilinmektedir (Pattanayak ve ark. 2010).

Bazı kimyasal maddelerin çeşitli şekillerde gıdalarla birlikte kullanımı sonucu insan ve hayvan sağlığı kötü yönde etkilenecek vücudun doğal dengesi bozulmaktadır (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008). Bu sebeple, tüm dünyada çevre ve sağlığın korunması için bu tür kimyasal maddelerin kullanımının sınırlandırılması ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Küçükkurt, 2007). Dolayısıyla bitkisel gıdaların koruyucu etkilerinin, hücreleri doğal oksidasyon reaksiyonlarından koruduğu ve bunu taşıdıkları antioksidan özellikte olan maddelerden sağladıkları bilinmektedir (Dündar ve Aslan, 2000).

Oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizmanın maruz kaldığı “oksidatif stres”, sonuçta bozulan hücresel metabolizma, moleküler yıkımlanma ve doku hasarını ortaya çıkarır (Avcı ve ark. 2010). Antioksidanlar reaktif oksijen türlerinin şekillenmesini baskılayarak organizmayı zararlı etkilerden korurlar. Hücreler oksidatif hasara karşı hayati fonksiyonlarını sürdürmeyi bir sistem yardımı ile sağlarlar (Valko ve ark. 2007). Biyolojik sistemler katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimatik (Şerbetçi, 2007) ve glutatyon (GSH) gibi enzimatik olmayan antioksidanlar sayesinde serbest radikalleri uzaklaştırırlar. Serbest oksijen radikallerin artması lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) oluşumu ile sonuçlanan doku hasarına sebep olur (Özden ve ark., 2004).

Bütün aerobik canlılarda antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Bazı durumlarda antioksidan savunma sistemi yetersiz kalabilmektedir. Böyle durumlarda, antioksidan bileşiklerin diyetel olarak alınması gerekmektedir. Bu nedenle günümüzde insanlar sentetiklerden daha çok doğal antioksidanlara yönelmişlerdir. Bu bağlamda, yapılan tez çalışması ile endemik bir bitki olan ve bu konuda ilk kez çalışılan *Thermopsis turcica* bitkisinden elde edilen çeşitli ekstraktların antioksidan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bilgilerin sağlığın korunması ve geliştirilmesi başta olmak üzere, *Thermopsis turcica* bitkisinin henüz belirlenmemiş diğer özellikleri ile ilgili yapılacak çalışmalara önemli bir temel oluşturacağı düşünülmektedir.

1.1. GENEL BİLGİLER

1.1.1. Baklagiller (Fabaceae)

Baklagiller (Fabaceae), Fabales takımından çoğunu otsu bitkilerin oluşturduğu ağaç ve çalı türlerini de içeren büyük bir familyadır (Işık, 2005). Dörtüüz cins ve yaklaşık olarak 10.000 tane tür içerir. Bakla, bezelye, soya, mercimek, fasülye, nohut gibi önemli besin maddeleri bu familyadandır. Baklagiller otsu bir yapıya sahip olabildikleri gibi odunsu bir yapıya da sahip olabilirler. Akasya ağaçları, keçiboynuzu, gülibrişim gibi türler odunsu yapıya sahiptir. Yapraklar saplı, hemen hepsinde almaşık dizili; tüysü, elsi veya üç yapraklıdır. Kazık köklere sahiptirler. Ana kökün etrafında damarlanma şeklinde ikinci kökler vardır. Rhizobium bakterileri tarafından havanın serbest azotunu bağlama özellikleri vardır. Böylece buldukları toprağın verimliliğini artırabilirler (Kaya ve ark., 2002).

Fabaceae familyasında yer alan bitkilerin pek çoğu tıbbi ve farmakolojik olarak kullanılmaktadır (Demirtaş, 2007). Birçoğu da süs bitkisi olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca boya, mürekkep, sakız, yağ, yapıştırıcı madde, kolonya gibi pek çoğunun yan ürünlerinden yararlanır. Proteince zengin olan türlerin genç sürgünlerinde bol miktarda bulunan süksinik asit (kehribar asiti) hayvansal metabolizma açısından önemlidir. Çünkü bu asit sitrik asit döngüsünde rol oynar (Işık, 2005). Baklagiller (fabaceae) alkaloid, fenolik bileşikler (flavanoid), kumarin, glikozit, steroidal bileşikler ve saponin yönünden zengindir. Bunun yanında çeşitli vitamin ve mineralleride içermektedirler (Kaya ve ark., 2002; Balabanlı ve ark., 2006).

Şekil 1.; Türkiyede yetişen bazı baklagil (Fabaceae), türleri (Yarsan, 2013).

Baklagiller <i>Fabaceae</i> <i>Leguminosae</i>	Lupinus türleri Sarı meyan, (<i>Thermopsis turcica</i>), Acı bakla, (<i>Lutipinus termis</i>) Delice bakla, (<i>Lolium sp.</i>) Gavur baklası, (<i>Lupinus albus</i>) Kurt baklası, (<i>Artamuz</i>)	Türkiye’de yetişen 5 türü vardır. Akdeniz, Ege ve Marmara’da
	Astragalus türleri Angora tırfılı, (<i>Cystisus acutangulus</i>) Çalı tırfılı, (<i>C.procumbens</i>) Kuş çubuğu, (<i>C.scoparius</i>) Sakallı tırfıl, (<i>C.villosus</i>)	Türkiye’de yaygın şekilde birçok türü vardır. İç Anadolu, Beypazarı Antalya, Kastamonu İstanbul, Aydın

1.1.2. *Thermopsis turcica*

Taksonomik açıdan Sarı meyan veya Eber sarısı (*Thermopsis turcica*), bitkiler aleminin *Fabaceae* (baklagiller) familyasının *Thermopsideae* tribusundaki *Thermopsis* cinsi içinde yer alır. Bu cins içerisinde 25 tür bulunur. *Thermopsis turcica*, *Thermopsis* cinsini temsil eden ülkemizdeki tek türdür (Davis ve ark., 1988; Tezcan, 2008). Rizomlu, dik, çok yıllık, otsu bir bitkidir. Tür ilk defa 1983'te Kit Tan, Vural & Küçüködük tarafından tanımlanmıştır (Davis ve ark., 1988). Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği (IUCN), kategorilerine göre nesli tehlike altında (CR) durumundadır (Cenkci ve ark., 2005).

Sarı çiçeklerinden dolayı Eber sarısı adı da verilen bitki için yöre halkı "acı meyan" anlamına gelen acı piyan ya da kısaca "meyan" anlamına gelen piyan adı kullanır. Kökünden şerbet yapılan mavimsi mor çiçekli meyan ise ayrı bir bitkidir (Anonim a, 2013). (Resim 1.)



Resim 1. *Thermopsis turcica* bitkisi (Anonim b, 2013).

1.1.2.1. *Thermopsis turcica*' nın Genel Özellikleri

Thermopsis turcica, Eber Gölü'nün güneyi ve Akşehir Gölü'nün güneyi ve batısında dar bir alanda yetişmektedir. Bu tür, Papilionoideae alt familyasındaki 3 serbest karpelli tek bitki olma özelliğine sahiptir. Bazı *Thermopsis turcica* bitkilerinin 4 karpelli olduğu da bilinmektedir (Cenkci ve ark., 2008). Bu özelliğinden dolayı *Thermopsis turcica* (Eber Sarısı) bitkisi önemli bir gen kaynağı niteliğindedir. *Thermopsis turcica* yörenin "Ekolojik Simgesi"dir (Kara, 2013).

Bitkinin yaprakları yaklaşık 35-80 cm boyunda üç yaprakçıklı, gövde ve yaprakları uzun yumuşak tüylüdür. İri sarı çiçeklere sahip olan bitki, Nisan sonu ve Mayıs ayında çiçeklenir. Meyvelenme ise Haziran-Ağustos ayları arasında gerçekleşmektedir. Çiçek durumu uç kısımda, salkım şeklinde; çanak yaprakları sık beyaz tüylü; taçyaprakları, yaklaşık 25 mm ve sarı renklidir (Tezcan, 2008).

Thermopsis turcica, yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olan bir bitkidir. Bunun sebepleri arasında, Eber gölünün kuruması ve kiraz bahçelerinin genişletilmesi sonucunda, doğal yaşam alanlarının kaybı, tarımsal faaliyetlerde yoğun yer altı sularının kullanılması, dolayısıyla taban suyu seviyesinin azalması, göl suyunun aşırı drenajı sonunda sulak toprakların tahrib edilmesi, hedef türlerin yer aldığı bölgelerde yerleşim alanlarının genişlemesi, zehirlenme, evsel ve kentsel atıklar (çöp vb.) aşırı otlatmanın dolaylı etkileri en önemli unsurlar olarak sayılabilir. Büyükbaş ve küçükbaş hayvanlar tarafından yeşil dönemde yenmemekle beraber, bu alanların otlatılması sırasında sürüler tarafından basılma ve ezilme sonucu da bitki zarar görmektedir (Dayan, 2006).

Tuz yoğunluğunun yüksek olduğu topraklarda ancak özel fizyolojik ve ekolojik adaptasyon mekanizmaları geliştirmiş bitkiler yaşayabilir. Bitkinin yaşadığı toprak içerisindeki sodyum miktarının 656 mg/kg olması, diğer bitkiler üzerinde

toksik etki göstermekte olup *Thermopsis turcica*'nın gelişimi üzerine zararlı bir etki göstermemektedir (Kara, 2013).

Thermopsis turcica (*Fabaceae*)'nın morfolojisi, anatomisi ve ekolojisi üzerine yapılan çalışmalarda; kök, gövde, yaprak ve meyve morfolojisi ve anatomisi çizilmiştir. Bulgular orijinal yayınlara karşılaştırılmış ve morfolojik karakterler bakımından fark bulunamamıştır. Bitkinin toprak üstü ve toprak altı organlarında mikro elementlerden Mn, Fe, Zn, Cu, Pb ve makro elementlerden P, Na, N, K olduğu belirlenmiştir. Demirin toprak üstü organlara göre, toprak altı organlarda daha yoğun olduğu belirlenmiştir (Sinan, 2002; Tezcan, 2008).

1.1.2.2. *Thermopsis turcica* Bitki İçeriği

Thermopsis genusu zengin bir lupin alkaloid kaynağıdır (Ohmiya ve ark., 1974; Koyuncu ve ark., 1993; Dayan, 2006; Tezcan, 2008). 1992 yılında yayınlanan bir çalışmada *Thermopsis turcica* bitkisinde alkaloid (anagirin), flavanoid, kumarin, radyoaktif glikozit ve steroidal bileşiklerin varlığı belirlenmiştir. Bu bitkinin meyvelerindeki total alkaloid miktarının % 1.48, anagirin miktarının ise % 0.69 olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu bitkideki en fazla bulunan alkaloid olan anagirinin ise koyunlarda teratojen etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Dayan, 2006).

1.1.2.2.1. Alkaloitler

Alkaloitler bitkilerde en fazla bulunan maddelerden birisi olup, suda az organik çözücülerde daha çok çözünürler. Canlı metabolizması üzerinde fizyolojik etkilerde bulunan, genellikle karmaşık kimyasal yapısı olan, halka formunda ve azot içeren bitkisel bazlardır (Baydar, 2005). Bitkilerde hücre öz suyunda erimiş olarak bulunan alkaloitler, bitki organlarında genellikle belli bir organda (kök, kabuk, yaprak, meyve, tohum vb.) daha yoğun bir şekilde bulunurlar. Alkaloitlerin çoğu bir türe yada benzer türlere özeldir. Bu nedenle bitkilerde nadiren tek bir alkaloit vardır, çoğu kez küçük farklarla aynı yapıya sahip bir grup alkaloit birarada bulunabilir. Bunlardan biri diğerlerinden daha fazladır veya daha aktiftir. Alkaloitler hayvanlarda sinir sistemi ve karaciğer üzerine direkt etkide bulunurlar. Alkaloit alımıyla birlikte hayvanlarda beyin, omurilik, sinir sistemi bozuklukları meydana gelerek ani ölümler görülebilir (Bertucat ve Ertan, 1975; Balabanlı ve ark., 2006).

1.1.2.2.1.1. Lupin Alkaloit

Kinolizidin veya papilionaceae alkaloitleri olarakta isimlendirilirler. Fabaceae familyasının birçok tür ve yapısında bulunurlar. Bitkilerde bulunan yaklaşık 7000 tane alkaloidin % 2'sini Lupin alkaloidler oluşturmaktadır. α -Pridon tipi Lupin alkaloidin sentezi lupaninin 5,6 dehidrolupanin'e dönüşmesi ve bu bileşiğin daha sonra anagirin, rombifolin, sitisin ve N-metilsitisin'e dönüşmesi ile olur (El-shazly ve ark., 2001; Bunsupa ve ark., 2012). Lupin alkaloidlerin patojenlere karşı bitkiyi koruduğu saptanmış olup epiderma hücrelerinde depolanması, kimyasal savunma bariyeri oluşturması açısından önemlidir. Yapraklarda herhangi bir yaralanma karşısında 2-4 saat içerisinde Lupin alkaloid miktarında önemli artış gözlenmektedir. Ancak bu savunma sistemi içerisinde Lupin alkaloit özellikle yaprak kloroplastlarında

olmak üzere bitkinin toprak üstü yeşil kısımlarında sentezlenmeye başlayarak, diğer organlara da yayılmakta ve böylece bitkinin tüm kısımlarında gelişme periyoduna ve mevsime bağlı olarak değişen oranlarda bulunmaktadır (Wink ve ark., 1983; Tosun ve ark., 1989) .

Matrin, oksimatrin, N-Metilsitisin gibi lupin alkaloid taşıdığı bilinen *Sophora flavescens* (*fabaceae*) kökleri diüretik, antipiretik ve analjezik olarak kullanılmaktadır. Lupin alkaloidlerden anagirinin ise teratojenik etkili olduğu bilinmektedir. Lupin alkaloidler bakteriyostatik ve fungustatik aktivite de göstermektedir. Lupin alkaloidin otçul hayvanlara karşı uzaklaştırıcı etkisi olup bakterilerin ve mantarların büyümesini inhibe etmektedir. Ayrıca diğer bitkilerinde filizlenmesini önleyici bir etkisi vardır. Lupin alkaloid taşıyan bitkilerin ve saf alkaloidin salyangozlara karşı uzaklaştırıcı etkisinin olduğu da saptanmıştır (Keeler ve ark., 1986; Tosun ve ark., 1989).

1.1.2.2.1.2. Anagirin

Perkloratla izole edildiğinde renk vermeyen ve bazıları ışıkta bırakıldığında mat sarı parlak bir şekilde görünür. Sitisin ferrik kloridle kırmızı renk vermesi ve aktif olmayan bir oksijen atomu bulundurmasıyla anagirine benzer. Hidrojenleme ile ayırt etme yöntemi kullanıldığında anagirin ile sitisine'nin yakın akraba olduğu anlaşılır. Anagirinin formülü, sitisine'nin son C₄H₉ yapısına yeni bir piperidin bileşiğinin ya da metilpirolidin halkası eklenmesiyle oluşur (Güner, 2011).

1.1.2.2.1.3. Sitisin

Su, alkol ve kloroformda çözünebilir ancak eter ve benzende çözünemez. Kuvvetli bir alkalini baz olup iyi kristallenebilen sulangan tuz formlarındadır. Sitisine nitratlanabilir ve aminositisine dönüşme yoluyla diazotize olabilir. Bu ve dibromositisine'nin karakteristik özellikleri aromatik bir çekirdek bulundurmalarıyla açıklanır (Güner, 2011).

Sitisin içeren *Sophora secundiflora* (*fabaceae*) tohumları ve *Cytisus canariensis* (*fabaceae*) çiçeklerinin hallusinojenik aktivitede olduğu belirtilmiş ise de Sitisin'in daha çok nikotine benzer bir etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Ayrıca Sitisin'in kobaylarda yapılan deneylerde ileum kontraksiyonunu artırdığı bulunmuştur. Lupin alkaloidlerden lupin'in asit klorürle reaksiyonu veya benzoat esterleri ile reaksiyonu sonucu yüksek lokal anestezi aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Hatfield ve ark., 1979).

1.1.2.2.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bitkilerde fazla miktarda bulunur, böcek ve hayvan zararlarına karşı bitkiyi korurlar. Fenolik asitler; flavonoidler, isoflavonoidler, tokoferoller ve tanen bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerdendir (Aydın, 1996; Balabanlı ve ark., 2006). Bu bileşikler arasında yer alan flavonoidler, tanninler, hidroksisinasamat esterleri ve lignin bitkilerin yapısında bol miktarda bulunur. Polifenollerin tokoferoller ve askorbata göre in vitro olarak daha iyi antioksidan olduğu gösterilmiştir (İnce ve ark., 2012). Antioksidan özelliklerini iyi birer hidrojen veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat

oluşturmaları ile gösterirler. Membranların akıcılığını azaltarak ve lipidlerin yer alış sırasını dzenleyerek ve serbest radikallerin hücreye difüzyonunu engelleyerek peroksidasyon reaksiyonlarını durdururlar. Ayrıca bitki hücrelerindeki hidrojen peroksit (H₂O₂)'nin temizlenmesi reaksiyonlarına da katılırlar (Çaylak, 2011). Bunun dışında bitkilerde bulunan fenolik bileşikler okside olarak aminoasitlerle birleşir ve çinko gibi bazı mineral maddelerin, besin maddelerinin yararlanılabilirliğini azaltırlar. Oluşan ürünler, yemlerde istenmeyen koyu rengin oluşmasına sebep olurlar (Itokura ve ark. 1988).

Fenolik bileşikler doğal antioksidan madde özelliği de göstermektedirler. Serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurarak veya engelleyerek kanser, kalp ve akciğer hastalıkları gibi pek çok hastalıkların oluşumuna engel olurlar (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Vinay ve ark, 2010; Nizamlıoğlu ve Nas, 2010; Tarko ve ark, 2013).

1.1.2.2.3. Kumarin

Kumarin ve türevlerine bitkilerde tek başlarına veya başka moleküllerle bileşik halinde yaygın olarak rastlanılır. Biyolojik aktivitelerinin yanı sıra kumarin halkasına takılan sübstitüentler kumarin bileşiğine güçlü flouresans özellik kazandırır. Kumarin bileşiklerinin en önemli özelliği canlılarda pıhtılaşmayı geciktirici olarak kullanılmasıdır (Gündüz, 2009; Karataş, 2011).

Kumarin bileşiğinin 3 konumuna fenil grubunun takılmasıyla elde edilen kumarin türevlerinin kuvvetli antioksidan ve östrojen etki gösterdikleri gözlenmiştir. Ancak hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde toksik etki gösterdiği belirlenince Gıda

ve İlaç Birliği (FDA) tarafından 1954 yılında kullanımı yasaklanmıştır (Gündüz, 2009; Gümüş ve ark. 2010; Karataş, 2011).

1.1.2.2.4. Glikozitler

Bitkilerde bulunan glikozitler bitkilerin gelişme çağı, iklim ve gübreleme koşullarına göre değişebilmektedir. Glikozitler şeker veya karbonhidrat olmayan bir grubun ester bağları ile bağlanmasından oluşmuş, enzim ve seyreltik asitlerin etkisiyle şeker olmayan bir kısım ile bir veya daha fazla şeker molekülüne ayrılan bileşiklerden oluşurlar (Baydar, 2005). Bazı glikozitlerin etkisi, hayvanların sindirim sisteminde bulunan enzimlerin bu maddeleri hidrolize etmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Glikozitler hidrolize olunca toksik siyonidli bileşiklere dönüşmektedirler. İnsanlarda glikozid içeren sütlerin tüketilmesi sonucu özellikle tiroid bezinde büyüme oluşabileceği bildirilmiştir (Balabanlı ve ark. 2006).

1.1.3. *Thermopsis* ve Türleri İle İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar

Thermopsis turcica'nın yaprak, kök, gövde kısımlarından hekzan, etil asetat, metanol ve dietil eter ekstraktları hazırlanarak 8 bakteri ve 1 mantar suşlarına karşı antimikrobiyal ve antifungal aktivitesini değerlendirmek amacı ile yapılan bir çalışmada, biyootografi ve disk difüzyon deneyleri kullanılmıştır. *Thermopsis turcica*'nın temel metabolitlerinden olan alkaloidler, kaba ekstraktlardan metanol ekstraktında bulunmuştur. Bu sonuçlardan disk difüzyon testinde 100 mg/ml tohumun, hekzan, metanol ve dietileter ekstraktlarında tüm mikroorganizmaların

büyümesini baskılayıcı özelliğinin olduğu görülmüştür. Biyootografik deneyde kök ve gövdenin metanol ekstraktlarında *Staphlococcus aureus*'a karşı yüksek oranda bakteri üremesini baskılayıcı özellikler bulunmuştur (Korcan ve ark., 2009).

Thermopsis turcica sulu ekstrelerinin mutajenik etkilerinin Ames testi ile belirlenmesi ile ilgili bir çalışmada, *Thermopsis turcica*'nın su ekstrelerinde mutajenite ve yaprak ekstrelerinde mutasyonu artırıcı özellik bulunduğu sonucuna varılmıştır (Liman ve ark., 2012).

Thermopsis turcica bitkisinin büyüme parametreleri, lipid peroksidasyon, prolin ve klorofil içerikleri üzerine tuz stresinin etkilerinin incelendiği çalışmada, tuz stresi, büyüme parametrelerinin tamamında (kök-gövde uzunluk, yaş-kuru ağırlık) azalmaya sebep olmuştur. Yapılan deneyler sonucunda *Thermopsis turcica* fidelerinin bağıl su içeriği, tuz stresinin uygulama süresine ve konsantrasyonuna bağlı olarak azalmıştır. Tuz stresine maruz bırakılan *Thermopsis turcica*'nın lipid peroksidasyon (MDA) düzeylerinde önemli derecede artış meydana gelmiştir. *Thermopsis turcica*'nın 7. ve 14. gün hasatlarındaki kontrol gruplarının prolin düzeyleri değişmemiş ancak 100 ve 200 mM tuz uygulanan gruplarda prolin düzeylerinde artış meydana gelmiştir. 14 gün boyunca 100 mM NaCl ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise klorofil-a ve klorofil-b düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Toplam klorofil içeriği de tuz konsantrasyonunun süresine bağlı olarak azalmıştır. En son olarak karotenoid içeriğinin de tuz stresine bağlı olarak azalma olduğu gözlenmiştir (Kara, 2013).

Endemik *Thermopsis turcica* bitkisinin total antioksidan kapasite, toplam fenolik içeriği ve serbest radikal süpürücü aktivitesinin invitro incelendiği çalışmada, *Thermopsis turcica*'nın aseton ve metanol ekstrelerinin belirli bir radikal süpürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu etkinin de ekstrelerin içerdikleri total fenolik madde miktarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. *Thermopsis turcica*'nın aseton

extresinin metanol extresine göre yoğun fenolik madde içerdiği ve daha iyi radikal süpürücü etki gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca metanol extresinin total antioksidan kapasitesinin, aseton extresine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (Aksoy ve ark., 2013).

Endemik *Thermopsis turcica* bitkisinin in vitro antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmada, bitkinin farklı polaritedeki çözücülerde etanol, metanol, etil asetat, hekzan ve su ekstraktları hazırlanmış ve Difenilpikril hidrazin (DPPH) süpürücü aktivite, β karoten/ linoleik asit sistemi ve indirgeme gücü yöntemleriyle antioksidan aktivite belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar standart antioksidan olarak bilinen BHT (bütillenmiş hidroksi toluen) sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, en yüksek antioksidan aktivite etil asetat ve metanol (% 93-%92 inhibisyon etkisi) ekstraktlarında gözlemlenmiştir. Ancak Hekzan ekstresinde antioksidan aktivite gözlemlenmemiştir (Bali ve ark., 2009).

Thermopsis cinslerinden olan *Thermopsis chinensis*' in kimyasal yapısı ile ilgili yapılan bir çalışmada bitki içeriğinde alkaloidlerin bulunduğu belirlenmiştir (Bunsupa ve ark., 2012).

Thermopsis turcica içeriğinde bulunan anagirin'in koyunlarda teratojen etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. *Thermopsis* türleri tıbbi bitki olarak kullanılmakta iken (Dayan, 2006) yapılan çalışmalarda bu genusun diğer üyelerinin tohumlarının çocuklar tarafından yenmesi sonucu zehirlenmelere sebep olduğu bulunmuştur (Mc Grath- Hill ve Vicas, 1997; Spoerke ve ark., 1988; Dayan, 2006). Bu genusun üyelerinden biri olan *Thermopsis montana*'da bulunan anagirin, termopsin, 5,6-dehidrolupanin, sitisin ve N- metil sitisin alkaloidlerinin, sığırlarda bitkinin yenmesi sonucu oluşan miyopatiden sorumlu olabileceği belirtilmiştir. Bu etkinin bitki içeriğinde bulunan alkaloidlerin (anagirin ve sitisin) doz ve şiddeti ile ilgili olabileceği düşünülmüştür (Keeller ve Baker, 1990; Dayan, 2006).

Thermopsis montana kurutulmuş özütlerinden hazırlanan sulu süspansiyon 0.6-2.8 g/kg/gün şeklinde 9 gün boyunca sığırlara oral olarak verilmiştir. Çalışma sonunda sığırlarda depresyon, mide bulantısı, göz kapaklarında şişme, karında gerginlik, tüylerde kabalaşma, sürekli yatma olduğu görülmüştür. Ayrıca sığırların Aspartat Aminotransferaz (AST), Kreatin Fosfokinaz (CPK) ve Laktat Dehidrojenaz (LDH) seviyesinde artma olduğu belirlenmiştir. Bitki içeriğinde bulunan 4 çeşit alkaloid (N-metilsitisin, sitisin, thermopsin, anagirin)' in bu etkiden sorumlu olabileceği kanaatine varmışlardır (Keeler ve ark., 1986).

Thermopsis montana kurutulmuş özütleri gavaj yolu ile 10 adet buzağıya günlük tek doz 1 g/kg şeklinde verilmiştir. Başlangıçtan sonraki 2-4 gün içerisinde 6 buzağı ölmüş ve kalan 4 buzağıda çalışmanın bitmesi beklenmeden öldürülmüş doku ve kan örnekleri incelenmek üzere alınmıştır. Sonuç olarak, bitkinin verilmeye başlaması ile birlikte serum kreatin kinaz (CK) ve aspartat transaminaz (AST) aktivitelerinde önemli artış olduğu belirlenmiştir. Ancak buzağuların hiçbirisinde kas dejenerasyonu görülmemiş, aksine kas liflerinde yenilenme belirtileri gözlenmiştir (Baker ve Keeler, 1989).

1.2. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, en dış orbitalinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller kısa ömürlü yapılardır (Chanda ve Dave, 2009). Ancak yapılarındaki kararsızlık nedeni ile çok aktif yapıları olduklarından tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilirler. Reaktivitelerinden dolayı düşük konsantrasyonlarda bulunan serbest radikaller oldukları yerden daha uzağa gidemezler. Serbest radikallerin reaktiviteleri sıcaklıkla ve çevredeki moleküllerin konsantrasyonu ile değişebilir (Halliwell ve Whiteman, 2004; Tür, 2008). Serbest radikallerin oluşum mekanizması üç çeşittir; kovalent bağların kırılması, normal bir

molekölün elektron kaybetmesi ve normal bir moleküle elektron transferi ile gerçekleşir (Bozdemir, 2007; Ardağ, 2008). Radikaller bir kez oluştuktan sonra diğer moleküllerle ve diğer radikallerle değişik etkileşimlerle reaksiyona girebilirler. Bu reaksiyonların özelliği radikalın yüksek konsantrasyonda olmasına, radikalın tek elektronunun yer değiştirmesine ve radikalın etkileşime geçeceği molekülde zayıf bağların bulunmasına bağlıdır (Valko ve ark., 2007; Kılıçgün, 2008). Serbest radikaller hücrede endojen ve eksojen kaynaklı olarak bulunabilirler;

Endojen kaynaklar; mitokondriler, endoplazmik retikulum, peroksisomlar, fagositler, hücre membranları, otooksidasyon reaksiyonu, enzim reaksiyonları, solunumsal patlama (Delibaş ve Özçankaya, 1995).

Eksojen kaynaklar; toksik kimyasal maddeler, radyasyon, antineoplastik ajanlar, çevresel faktörler, fotokimyasal hava kirliliği, hiperoksi, böcek ilaçları, tütün, çözücüler, anestezi maddeler, ilaç oksidasyonları (Güder, 2008; Kılıçgün, 2008; Tür, 2008).

1.2.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (PO_2), ozon (O_3) ve azot dioksit (NO_2^*), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artan serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, deoksiribonükleik asit (DNA), karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli sınıfları ve tüm hücre komponentlerine etki ederler (Altınışık, 2001; Naphade ve ark., 2009; Lobo ve ark., 2010).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran geçirgenliği artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur (Altınışık, 2000; Cordeiro, 2013). Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede Reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir (Cordeiro, 2013). İskemi sonrasında reperfüzyon da ROS artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır (Yılmaz, 2006; Bozdemir, 2007). Bağışıklık sisteminin zayıflaması sonucu, kanser, diabetes mellitus, serebrovasküler bozukluklar gibi serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı oluşur. Bu hasarın birçok kronik hastalığın oluşmasına sebep olduğu düşünülmektedir (Bozdemir, 2007; Chanda ve Dave, 2009).

1.2.1.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "nonenzimatik lipid peroksidasyonu" denir. Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyolojik yapılardır. Lipid peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali niteliği kazanmasıyla başlar (Jureta, 2003). Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir (İnce ve ark. 2012). Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L^{\cdot}) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO^{\cdot}) oluşması, ROS'un neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Lipid serbest radikalleri, dayanıksız bir bileşiktir ve bazı değişikliklere uğrar. Lipid serbest

radikalleri' nin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi sonucu (LOO[•]) meydana gelir (Tür, 2008). Lipid peroksit radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidperoksitlerine (LOOH) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (Uzar, 2006; Yılmaz, 2006).

Lipid peroksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda Malondialdehid (MDA) meydana gelir (Yılmaz, 2006).

Malondialdehit kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur (Altınışik, 2001; Tür, 2008).

1.2.1.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur (Uzar, 2006; Kurt, 2008). Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin

gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozular, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin ROS üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (Altınışık, 2001; Pugazhenthı ve ark., 2006).

1.2.1.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. OH^* deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H_2O_2 membranlardan geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücresel fonksiyonların yapılamamasına ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. ROS, DNA' nın oksidatif hasarı sonucu mutasyonlara, kromozom anomalilerine, kanserlere, yaşlanma ve çeşitli hastalıkların oluşumuna sebep olabilir (Pugazhenthı ve ark., 2006; Yılmaz, 2006).

1.2.1.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir ve bunlar, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, O_2^- ve H_2O_2 'i oluştururlar (Tür, 2008). Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, çeşitli deri hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz

olduğu düşünülmektedir. Ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir (Altınışik, 2001; Tür, 2008).

Serbest radikaller hücrede enerji sistemlerini etkileyerek ATP (Adenozin trifosfat) seviyelerinde azalmaya sebep olurlar. Glikolitik ve mitokondrial yol engellenir. Glikolitik yolla ATP sentezinin baskılanması gliseraldehit-3-dehidrogenaz enziminin yeterince salgı yapamamasına sebep olur, bu olay NAD (Nikotinamid adenin dinükleotit) seviyesinin azalması sonucu olmaktadır. ATP sentetaz aktivitesinin azalması mitokondrilerde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP sentezini bozmaktadır (Yılmaz, 2006).

1.3. REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ

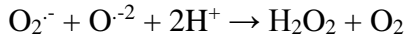
Reaktif oksijen türleri, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan O_2^- , H_2O_2 ve OH^\cdot 'dir (Halliwell, 1991; Dünder ve Aslan, 2000; Ardağ, 2008). Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin olduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^\cdot), peroksit radikalleri (ROO^\cdot), alkoksi radikalleri (RO^\cdot), tiyil radikalleri (RS^\cdot), sülfenil radikalleri (RSO^\cdot), tiyil peroksit radikalleri (RSO_2^\cdot) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Granot ve ark., 2004; Devrim, 2005).

Şekil 2. Oksijenin indirgenmesi (Antmen, 2005).

$O_2 + e + H^+ \rightarrow HO_2^\cdot$	Hidroperoksil radikali
$HO_2^\cdot \rightarrow H^+ + O_2^\cdot$	Süperoksit radikali
$O_2^\cdot + 2H^+ + e \rightarrow H_2O_2$	Hidrojen peroksit
$H_2O_2 + e \rightarrow OH^+ + ^\cdot OH$	Hidroksil radikali
$^\cdot OH + e + H^+ \rightarrow H_2O$	

1.3.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), iki elektron alması ile de peroksit anyonu (O_2^{2-}) oluşur. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir, böylece oluşan peroksit anyonu ortamdaki iki proton alarak H_2O_2 oluşturabilir. Diğer taraftan, süperoksit radikali aldığı elektronu başka bir elektron alıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir ve böylece bir indirgeyici (redüktör) olarak davranabilir. Ayrıca iki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri oksitlenirken diğeri ise indirgenir ve böylece H_2O_2 ve O_2 meydana gelir (Demple ve Harrison, 1994; Çetinkaya, 2013):



Süperoksit radikallerinin ortamdaki temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir (Türel, 2007).

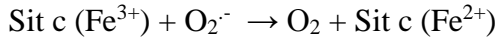
Başlıca şu mekanizmalarla üretilmektedir:

(a) İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotitler gibi yüzlerce biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olurlar.

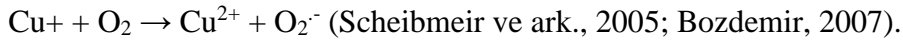
(b) Başta çeşitli dehidrojenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.

(c) Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH-dehidrogenaz ve koenzim-Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır.

(d) Aktive edilen fagositik lökositler, bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verirler. Hücresel koşullarda üretilen süperoksit, oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom-c ye veya bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir.

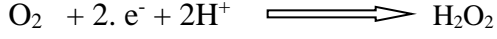
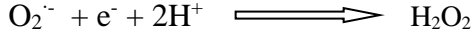


İndirgenmiş geçiş metallere otoksidasyonu da süperoksit meydana getirebilir.

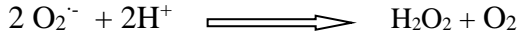


1.3.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin iki proton (H⁺) ile birleşmesi sonucu meydana gelir (Tür, 2008).



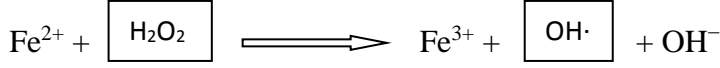
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar (Antmen, 2005).



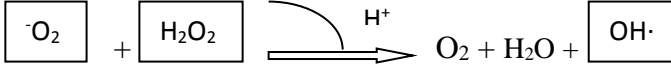
Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da SOD enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4,8'de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH'da daha belirgindir (Altınışik, 2001).

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde ROS kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallere varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, $\text{O}_2^{\cdot-}$ varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşur (Bozdemir 2007; Altuğ, 2009).

Fenton Reaksiyonu



Haber- Weiss Reaksiyonu

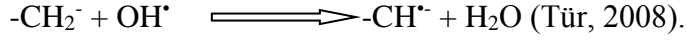
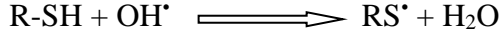


Süperoksit radikalinin lipid solubilitesi sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid solubldur. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin oluştuğu yerden uzakta olan fakat Fe^{2+} içeren membranlarda hasar oluşturabilir (Tür, 2008).

1.3.3. Hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$)

Hidroksil radikali, Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması ve H_2O_2 ' nin UV ışığına maruz kalması sonucunda da oluşabilir (Devrim, 2005).

Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan türüdür, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla ROS' un en güçlüsüdür. Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak $\text{RS}\cdot$, karbon $\text{R}\cdot$, organik peroksitler ($\text{RCOO}\cdot$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve buna bağlı olarak hücre hasarı oluşumuna neden olur (Hajieva ve Behl, 2006; Altınışık, 2001).



1.3.4. Nitrik Oksit (NO[•])

Nitrik oksit enzimatik olarak nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arjinin'den sentezlenir. Nitrik oksit pek çok memeli hücre ve dokusunun fonksiyonlarını düzenlemede rol alır. Nitrik oksit eşleşmemiş elektron bulundurmasına rağmen birçok biyomolekül ile kolayca tepkimeye giremez bu yüzden tam radikal özelliği taşımaz. Renksiz bir gazdır (Demple ve Harrison, 1994; Kesik, 2004; Antmen, 2005).

1.3.5. Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen, eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal değildir (Bozdemir, 2007). Ancak reaktif oksijen türleri arasında yer alan ¹O₂ serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır (Antmen, 2005; Tür, 2008).

1.4. Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehid -MDA)

Serbest radikallerin lipitler üzerine yaptığı etki lipid peroksidasyonu (LP) olarak isimlendirilir (Fidan, 2007). Reaktif oksijen türleri, çoklu doymamış yağ asitleri'nin çift bağları ile reaksiyona girerek lipid hidroperoksitlerini oluştururlar (Avcı ve ark.,

2010). Peroksidize olmuş çoklu doymamış yağ asitlerinin belli başlı ikincil oksidasyon ürününden biri MDA' dır (Al-fawaier, 2009). Lipit peroksidasyonu, başlama, ilerleme ve sonlanma olmak üzere üç safhalı bir reaksiyon zinciridir. Bir membranda lipit peroksidasyonu' nun başlaması, bir hidrojen atomu kopartacak reaktivitesi olan herhangi bir reaktif türle gerçekleşebilmektedir. Hidrojen atomunun koparılmasından sonra, hidrojen atomunun tek bir elektronunun olmasından dolayı karbon atomunda ortaklanmamış bir elektron kalmaktadır (Seven, 2008; Göncü 2010). Çok doymamış yağ asitindeki karbon radikali, moleküler bir düzenlenim geçirerek bir konjuge dien oluşturmaktadır. Bu da O₂ ile çabucak reaksiyona girerek bir hidroperoksi radikali oluşturmaktadır. Bu radikal diğer lipit moleküllerinden hidrojen atomları koparmakta ve böylece lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonları devam etmektedir. Hidroperoksi radikali bir hidrojen atomu ile birleşerek bir lipit hidroperoksit oluşturmaktadır. Çeşitli hastalıklarda MDA düzeylerinin artması, serbest radikallerin verdiği hasarın bir göstergesidir (Köksal ve ark., 1999; Göncü, 2010).

1.5. OKSİDAN – ANTiOKSİDAN SİSTEM

Reaktif oksijen türleri oluşumunu ve bunların sebep olduğu zararları engellemek için geliştirilmiş savunma sistemleri vardır. Bu mekanizmalar "antioksidanlar" veya "antioksidan savunma sistemleri" olarak bilinirler (Dündar ve Aslan, 2000).

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki gösterirler. 1) Toplayıcı Etki; Serbest oksijen radikallerini tutma veya etkilerini zayıflatarak yeni bir moleküle dönüştürerek. 2) Bastırıcı Etki; Serbest oksijen radikalleriyle etkileşime girip onlara bir hidrojen vererek aktivitelerini azaltarak veya inaktif hale dönüştürerek. Vitaminler ve flavanoidler buna örnek gösterilebilir. 3) Zincir Kırıcı Etki; Serbest

oksijen radikallerini bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını kaybederler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler. 4) Onarıcı Etki; Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarın onarılmasını sağlayarak (Kesik, 2005; Güder, 2008).

1.5.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Glutatyon (GSH) 2) Süperoksit Dismutaz (SOD) 3) Katalaz (CAT) 4) Glutatyon peroksidaz (GSH-Px). 5) S-Transferazlar (GST). 6) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi. 7) Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Seruloplazmin 2) Transferrin 3) Miyogloblin 4) Hemoglobin 5) Ferritin 6) Bilirubin 7) Sistein 8) Metiyonin 9) Ürat 10) Laktoferrin 11) Albümin 12) Melatonin (Dündar ve Aslan, 2000; Ardağ, 2008).

1.5.1.2. Glutatyon (GSH)

Glutatyon karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. GSH çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksidlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde de rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH

yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar (Meister, 1994; Bakkaloğlu, 2007). Glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (Tür, 2008).

1.5.1.3. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, (EC 1.15.1.1, EC-SOD) O_2^- serbest radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Süperoksit dismutaz katalitik aktivitesi yüksek bir enzimdir (Fridovich, 1975; Bozdemir, 2007; Güder, 2008).



İnsanda SOD'un iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dur (Sun ve ark., 1988; Antmen, 2005).

Süperoksit dismutaz'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri O_2^- serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar (Halliwell, 1974; Kesik, 2004). Süperoksit dismutaz aktivitesi, yüksek oksijen kullanımını olan dokularda fazladır ve doku PO_2 artışıyla artar. Süperoksit dismutaz'ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (Atalay, 2012).

Cu-Zn SOD'ın spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelere ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (Aliyev, 2005; Güder, 2008).

1.5.1.4. Katalaz (CAT)

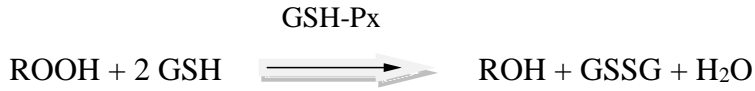
Katalaz (H_2O_2 : H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar (Çimen ve ark., 2005; Yavaşer, 2011).



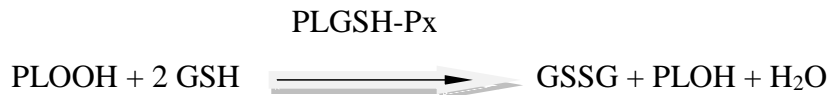
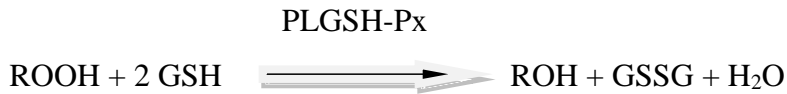
Granulomatöz hücrelerde CAT, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan H_2O_2 'yi OH^\bullet serbest radikali oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır (Nakazawa ve ark., 1996; Türel, 2007).

1.5.1.5. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. GSH-Px (glutatyon: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir (McCord, 2000; Seven, 2008).



Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) adlı enzim monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger (Pigeolet ve ark., 1990; Antmen, 2005).



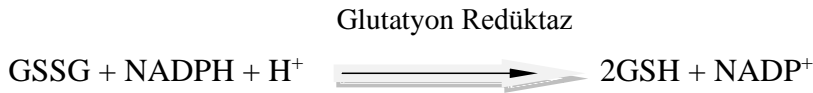
Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur (Antmen, 2005).

Glutasyon peroksidaz'ın fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler (Pigeolet ve ark., 1990; Türel, 2007).

Glutasyon peroksidaz eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda, hipertansiyonlu hastalarda ve Down sendromlularda yüksek, prematürelere düşük bulunmaktadır (Benzer ve Ozan, 2003).

1.5.1.6. Glutasyon redüktaz (GSH-Rd)

Glutasyon redüktaz, GSH-Px (EC 1.6.4.2) vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş GSH'ya dönüşümünü katalize eder (Antmen, 2005).



1.5.1.7. Glutasyon S-Transferazlar (GST)

Glutasyon S- transferazlar, (EC 2.5.1.18) kodlu ve her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. GST' ler, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar (Türel, 2007).



Glutasyon S- transferazlar katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Bunlar hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Glutasyon S- transferaz'lar, karaciğerde reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizlerler (McCord, 2000).

1.5.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. Vitamin eksojen antioksidanlar şunlardır: 1) α -tokoferol (vitamin E) 2) β -karoten 3) Askorbik asit (vitamin C) 4) Folik asit (folat) (Dündar ve Aslan, 2000; Ardağ, 2008). İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidantlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, Rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox – C (vitamin E analogu), Endojen antioksidan aktiviteyi artırıcılar, Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), Demir redoks döngüsü inhibitörleri, Nötrofil adezyon inhibitörleri, Sitokinler, Barbitüratlar, Demir şelatörleri. Gıdalardaki eksojen antioksidantlar: Butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve Butillenmiş hidroksianisol (BHA) (Wolucka ve Montagu, 2003; Güder, 2008).

1.6. Çalışmanın Amacı

Bütün insan ve hayvan dokularında antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Bazı durumlarda antioksidan savunma sistemi yetersiz kaldığında kardiyovasküler hastalıklar, bağışıklık sistemine bağlı hastalıklar ve kanser gibi pek çok hastalığın zemini oluşmaktadır. Serbest radikallerin hasar oluşturuıcı etkileri hücrel savunma sistemleri ile kontrol altında tutulmaktadır (Fridovich, 1978). Bu savunma sisteminde

bitkisel kaynaklar büyük önem taşımaktadır. Bitkiler, içerisinde bulunan farklı maddelerden ve taşıdıkları antioksidan özelliklerinden dolayı günümüzde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadırlar (Güder, 2008). Birçok bitki türünün antioksidan özelliklerini gösteren çalışmalar mevcuttur (Bozdemir, 2007; Battal, 2008; Chanda ve Dave, 2009; Avcı ve ark., 2010; Choudhary ve Swarnkar, 2011; Baskar ve ark. 2012). Ancak fabaceae familyasına ait olan *Thermopsis turcica* bitkisinin antioksidan etkisine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışma ratlarda *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstraktların antioksidan etkilerini incelemek amacıyla yapıldı.

2. MATERYAL ve METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Spektrofotometre (Shimadzu UV-1601)

Buz Dolabı/Derin Dondurucu (Siemens)

Soğutmalı santrifüj (Nüve. NF 1000 R.)

Vorteks (Nüve. NM 110)

Hassas terazi (Precisa. 205 ASC. 0,0001 g'a duyarlı)

Su banyosu (Nüve. BM 402)

Isıtıcı tabla (Nüve. HP 221)

Shaker (Nüve. SC 350)

Dijital pH metre (Inolab)

Çalkalayıcı (Nüve SL 350)

Saf su cihazı (Firstreem Calypso MK 1 Glass Still)

Magnetik karıştırıcı (Stuart Scientific)

UV-Spektrofotometre küveti : 3 cm³'lük Kuartz Küvet

Değişik hacimlerde otomatik pipet (Ependorf, Scorex)

Farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (Isolab)

Ependorf tüpü (0,5-1,5 ve 2 ml'lik, Roth)

Mikro Playte (96 kuyucuklu, Roth)

Rat gastrik gavaj (Ozl)

Cerrahi makas, pens, doku tutucular (Isolab)

Cerrahi eldiven (Ozl)

Polietilen enjektör (2,5; 5; 10 ml, Ayset)

İnsulin enjektörü (Hayat)

Lityum-Heparinli tüp (Ozl)

Blendır cihazı (Arçelik)

Rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-200)

Kurutma kağıdı (Isolab)

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Amonyum demir sülfat (Merck, K30900691)

Amonyum sülfat (Fluka, 09980)

Asetik asit (Fluka, 45731)

Bakır sülfat (Sigma- Aldrich, S12852)

Butanol (Sigma- Aldrich, 537993)

Dipotasyum hidrojen fosfat (Merck, A136101)

Disodyum hidrojen fosfat (Merck, K91299345)

Etanol (Carlo Erba, 414608002)

Etil asetat (Merck, K35964164)

Etilendiamin tetraasetik asit (Sigma, E6758)

Folin-Ciocalteu (Sigma, F9252)

Glasiyal asetik asit (Merck, K25781256)

Glutatyon redüktaz (Sigma, SAB2700206)

Guanidin HCl (Riedel, 07102)

Hidrojen klorür (Fluka, 18965)

Hidrojen peroksit (Fluka, 95321)

Ketamine hidroklorid/ Xylazn solüsyon/ alfamine %10 (Sigma, 1211302)

Ksantin Oksidaz (Sigma- Aldrich, X1875)

Lauril sülfat -SDS (Sigma, Y0000620)

Metafosforik asit (Merck, 13762)

n-Butanol (Prolabo, 20810)

Nitroblue Tetrazolium (Sigma- Aldrich, N5514)

Piridin (Riedel, 16037)

Potasyum dihidrojen fosfat (Merck, A120471)

Potasyum ferrisiyanid (Sigma, K814)

Potasyum siyanid (Merck, K35165365)

Potasyum sülfat (Merck, 7778)

Sığır Serum Albumin (Sigma, A4503)

Sodyum benzoat (Merck, 9025)

Sodyum bikarbonat (Sigma, 117050)

Sodyum fosfat (Horasan, 37663)

Sodyum hidroksit (Merck, B0389662)

Sodyum karbonat (Fluka, 83366)

Sodyum klorür (Sigma- Aldrich, 13423)

Sodyum potasyum tartarat (Merck, A102385)

Sodyum sitrat (Fluka, 43760)

Tiyobarbitürik asit (Sigma- Aldrich, 101073453)

Triklor asetik asit (Sigma- Aldrich, 27242)

Ürik asit (Fluka, 51449)

2.2. METOD

2.2.1. *Thermopsis turcica* Bitkisinin Temini

Bu çalışmanın bitki materyali Afyonkarahisar ili sınırları içinde yetiştirilen *Thermopsis turcica*'dır. Bu türün çiçeklenme dönemi olan 12 Mayıs 2012 tarihinde bitki gövde, yaprak, çiçek, meyve, yaprak sapı ve tohum kısımları Eber Gölü'nün güneyindeki Kavaklı beldesinde bulunan bataklık araziden toplandı. Bitkiye Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden "Kargıoğlu 7396" nolu herbaryum numarası alındı.

Çalışmada kullanılmak üzere, *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımları oda sıcaklığında ve gölgede kurutulmuş olarak makasla küçük parçalara ayrıldı. Kurutulmuş bitki örneklerinden, deneylerde kullanılmak üzere, gerekli miktarlarda numune blender cihazında toz edildi. *Thermopsis turcica* bitkisinden etanol ve su ekstraktları elde edildi.

2.2.2. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

2.2.2.1. Etanol Ekstraktının Hazırlanması

Thermopsis turcica bitkisinin toprak üstü kısımlarından 50 gr tartıldı ve blender cihazı ile öğütüldü. Toz haline getirilmiş *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından 50 gr alınarak 2 l'lik balon içinde numunenin yirmi katı kadar etanol (1000 ml) eklenerek soğutma sistemi kuruldu. Bu şekilde 50 °C sıcaklıktaki su dolu kabın içinde 24 saat bekletildi. Karışım oda sıcaklığına getirilerek soğutuldu, tülbent bezinden süzülüp kaba atıklar atıldı. Daha sonra elde edilen ham çözeltiler süzgeç kâğıdından süzüldü. Süzölmüş ekstraktlar birleştirilerek rotary cihazında 50°C'de etanol uzaklaştırıldı (Şerbetçi, 2007). Sonrasında, yeşilimsi siyah renkte, nemli, yapışkan özellikte % 16 oranında bir ekstrakt elde edildi. Elde edilen ekstrakt %0.5'lik CMC/ distile su solüsyonunda çözdürülerek deney için kullanıldı.

2.2.2.2. Su Ekstraktının Hazırlanması

Thermopsis turcica bitkisinin toprak üstü kısımlarından 50 gr tartıldı ve blender cihazı ile öğütüldü. Toz haline getirilmiş *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından 50 gr alınarak 2 l'lik balon içinde numunenin yirmi katı kadar distile su (1000 ml) eklenerek soğutma sistemi kuruldu. Daha sonra 50 °C sıcaklıktaki su dolu kabın içinde 24 saat bekletildi. Karışım oda sıcaklığına getirilerek soğutuldu, tülbent bezinden süzülerek kalan atıklar atıldı. Daha sonra elde edilen ham çözeltiler süzgeç kâğıdından tekrar süzüldü. Süzülmüş ekstraktlar birleştirilerek rotary cihazında 50°C'de su uzaklaştırıldı (Şerbetçi, 2007). Sonrasında, sütlü kahve rengine, nemli, yapışkan özellikte % 12 oranında ekstrakt elde edildi. Elde edilen ekstrakt % 0.5'lik CMC/ distile su solüsyonunda çözdürülerek çalışma da kullanıldı.

2.2.3. Öldürücü Doz 50 (ÖD₅₀) Belirlenmesi

Bu belirlenmiş olan iki tane ekstrakt ile öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) dozu belirlemesi yapıldı. Bunun için OECD (2001) (Organisation for Economic Co-operation and Development) yöntemi kullanıldı.

Bu yöntemle göre, 250-350 gr ağırlığındaki Wistar albino ırkı 10 adet erkek rat iki gruba ayrıldı.

1. Grup' taki ratlara sırasıyla; 175 mg/kg, 550 mg/kg, 2000 mg/kg, 2000 mg/kg ve 2000 mg/kg etanollü ekstrakt, (n: 5)
2. Grup' taki ratlara da aynı şekilde 175 mg/kg, 550 mg/kg, 2000 mg/kg, 2000 mg/kg ve 2000 mg/kg sulu ekstrakt, (n: 5)

Tek doz halinde gastrik gavaj yoluyla aynı gün ve saatte uygulandı. Uygulama sonrası, 48 saat süresince ratların genel klinik durumları ve davranışları takip edildi. Değerlendirmede; ratlara uygulanan dozlarda hiçbir hayvan ölmedi ise ÖD₅₀ dozu ratlara verilen en yüksek dozdan büyük olarak belirtilir. Ratlara uygulanan dozların birinde ölüm olursa ÖD₅₀ dozu, ratın öldüğü o dozdan büyüktür şeklinde yorumlanır.

2.2.4. Hayvan Materyali

Bu çalışmada, 1,5- 2 aylık, 250-350 gr ağırlığındaki Wistar Albino ırkı toplam 74 adet erkek rat kullanıldı. Bunların 64 tanesi çalışma için, 10 tanesi ÖD₅₀ dozunun belirlenmesi için kullanıldı. Ratlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezin'den temin edildi.

Ratlar deneme süresince polysülfon ve sterilize edilebilen şeffaf kafeslerde barındırılarak, 24±1 °C derece sıcaklıkta, 12:12 aydınlık - karanlık siklusunda ve düzenli havalandırılan ortamda bulunduruldu. Ratlara verilecek olan standart rat yemi Afyon Yem Gıda Sanayi Ticaret A.Ş.'den sağlandı. Bu çalışma için, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 117-12 referans nolu çalışma onayı alındı.

2.2.4.1. Çalışma Grupları

Çalışmanın başlangıcında ratlar tartılarak canlı ağırlıkları belirlendi. Ratlar, her grupta 8 adet olacak şekilde 8 gruba ayrıldı.

1. Grup (Kontrol Grubu): Yalnız standart rat yemi ile beslendi,
2. Grup (CMC Grubu): Standart rat yemi ile beslendi ve % 0.5'lik CMC gastrik gavaj ile verildi.
3. Grup (E 25): *Thermopsis turcica* etanollü ekstraktının belirlenen ÖD50 dozunun yaklaşık % 1'i uygulandı,
4. Grup (E 50): *Thermopsis turcica* etanollü ekstraktının belirlenen ÖD50 dozunun yaklaşık % 2'si uygulandı,
5. Grup (E 100): *Thermopsis turcica* etanollü ekstraktının belirlenen ÖD50 dozunun yaklaşık % 4'ü uygulandı.
6. Grup (S 25): *Thermopsis turcica* Sulu ekstraktının belirlenen ÖD50 dozunun yaklaşık % 1'i uygulandı,
7. Grup (S 50): *Thermopsis turcica* Sulu ekstraktının belirlenen ÖD50 dozunun yaklaşık % 2'si uygulandı,
8. Grup (S 100): *Thermopsis turcica* Sulu ekstraktının belirlenen ÖD50 dozunun yaklaşık % 4'ü uygulandı.

Thermopsis turcica bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ve seçilmiş olan ekstraktlar, günlük tek doz halinde eş zamanlı olarak gastrik gavaj yoluyla uygulandı. Gastrik gavaj uygulamaları 30 gün boyunca devam etti. Çalışmanın başlangıcında yapılan canlı ağırlık tartımları haftalık olarak her haftanın aynı günü olacak şekilde çalışmanın sonuna kadar tekrarlandı; çalışma süresince ratların genel klinik durumları ve davranışları takip edildi.

Denemenin sonunda, bir gece öncesinden aç bırakılan ratlar 10 mg/kg Xylazine HCl ve 50 mg/kg Ketamin HCl enjeksiyonu ile genel anesteziye alındı. Ratların canlı ağırlıkları belirlenerek intrakardiyak kan alımını takiben karaciğer ve

böbrek doku materyalleri alınıp ötanazileri yapıldı. Doku örnekleri çalışılincaya kadar -20 °C’de saklandı.

Kan örnekleri 3000 rpm’de, +4⁰C’de, 10 dk santrifüj edildikten sonra plazmaları ayrıldı, eritrosit paketleri ve plazmalar 1.5 ml’lik godelere alındı, doku örneklerinin ise homojenizasyonu yapılarak denemenin sonunda bu kan ve doku örneklerinden antioksidan dengeyi gösteren parametrelerden MDA, GSH, SOD, CAT ve AOA tayini yapıldı.

2.2.4.2. Eritrosit Paketlerinin Hazırlanması

Tampon Çözelti:

Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PSB): 8,06 gr NaCl, 0,201 gr KCl, 12,636 gr Na₂HPO₄ 2H₂O, 0,2 gr KH₂PO₄ bir litre distile suda çözülür ve pH’ sı 7,4’ e ayarlandı. Hemolizat eldesinde kullanıldı.

Uygulanan Metot:

Deneyle için gerekli olan kan, enjektörler yardımıyla deney hayvanın kalbinden heparinli cam tüplere alındı. Bir saat +4 °C de bekletildikten sonra 3000 rpm’de 15 dk. santrifüj edilerek ayrıldı. Santrifüjlenen plazma kısmı ependorflara alındı. Plazmaları alınan kan örneklerini üzerine eşit miktarda fosfat tamponu (PBS) ilave edildi ve bu örnekler 3000 devirde 5 dk santrifüj edildi Bu işlem 3 defa yapıldı. En sonunda üstteki fosfat kısım atıldı ve eşit hacimde olacak şekilde fosfat tamponu ve eritrositlerden 0.5 ml alınarak ependorflara aktarıldı. (Witterbourn, 1975). Hazırlanan

eritrosit paketleri ve plazmalar analizler yapılincaya kadar -80 °C de saklandı. Bunlar SOD ve CAT enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanıldı.

2.2.4.3. Doku Örneklerinden Homojenizat Hazırlanması

Çözelti:

Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PSB): 8,06 gr NaCl, 0,201 gr KCl, 12,636 gr Na₂HPO₄ 2H₂O, 0,2 gr KH₂PO₄ bir litre distile suda çözülür ve pH' sı 7,4' e ayarlandı. Hemolizat eldesinde kullanıldı.

Uygulanan Metot:

Hayvanlar dekapite edildikten hemen sonra karaciğer, böbrek dokuları alındı. Bu doku kısımları, bekletilmeden % 0.9 serum fizyolojik ile yıkanarak, kandan temizlenmeleri sağlandı. Doku parçacıklarının yaş ağırlıkları saptandı, makas ile daha küçük parçalara ayrılıp bir miktar distile su ile yıkandı. 50 mM soğuk KH₂PO₄ (PH=7,0) hazırlandı. 0,5 gr doku üzerine 5 ml fosfat tamponu ilave edildi. Mekanik ve 20 kHz ultrasonik homojenizatör ile homojenizasyonları yapıldı. Homojenizatlar 5000 rpm'de 15 dk. santifruj edilerek. rıde edilen süpernatantlar SOD ve CAT aktitelerinin tayininde kullanıldı..

2.2.5. Antioksidan Parametreler

2.2.5.3. Malondialdehid (MDA) Tayini

2.2.5.3.1. Tam Kan MDA Tayini

Tam kan MDA düzeyleri, Draper ve Hadley'in çift kaynatma yöntemi kullanılarak belirlendi. Metot, yağ asitlerinin peroksidasyonunda bir son ürün olan MDA'nın, TBA ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbans vermesi prensibine dayanmaktadır (Draper ve Hadley, 1990).

Çözeltiler:

%10'luk Triklor asetik asit (TCA): 10 gr TCA 100 ml distile suda çözdürüldü.

%0,8'lik Tiyobarbitürik asit (TBA): Önce 1gr NaOH 500 ml distile su'da çözdürüldü. Daha sonra 4 gr TBA tartılarak 500 ml'lik bir balon içerisinde önceden hazırlanmış olan NaOH çözeltisinde çözdürüldü.

Uygulanan Metot:

0,5 ml tam kan üzerine 2,5 ml %10'luk TCA eklendi. İyice karıştırıldıktan sonra 10 dk kaynatıldı. Hemen soğutuldu ve 10 dk 4000 rpm'de santrifuj edildi. Elde edilen berrak homojenizattan 2 ml temiz bir deney tüpüne alınarak üzerine % 0,8'lik TBA eklendi. Daha sonra 10 dk kaynatılarak tekrar buzlu su içinde hemen soğutuldu. Spektrofotometrede pembe renkli süpernatantın 532 nm'de absorbansı distile suya karşı ölçüldü.

Hesaplama:

MDA(nmol / ml) =Numune Absorbansı X std kalibrasyon'undan elde edilen değer.

2.2.5.3.2. Doku MDA Tayini

Dokuda MDA tayini ise, Okhawa ve ark., (1979)'nın metoduna göre belirlenmiştir.

Çözeltiler:

50 mM KH₂PO₄ : 3,4 gr KH₂PO₄ bir miktar distile suda çözündürüldükten sonra 500 ml'ye distile su ile tamamlanır.

% 8,1 lik SDS zeltisi: 2,02 gr SDS 250 ml distile suda çözündürüldü.

% 20'lik Glasiyel asetik asit: %20'lik glasiyel asetik asit 500 ml hazırlandı.

% 0,8'lik (TBA): % 0,8'lik TBA önce 1 gr NaOH ile karıştırılarak 500 ml'lik balon jojode distile su ile çözdürüldü ve hacim 100 ml'ye tamamlandı.

N butanol piridin karışımı: 750 ml n- butanol 50 ml piridinle karıştırıldı.

Uygulanan Metot:

0,2 ml süpernatant bir tüpe konu. zerine sırasıyla;

0,2 ml %8,1 lik SDS

1,5 ml %20'lik glasiyel asetik asit

1,5 ml %0,8'lik TBA

0,6 ml distile suyla karıştırıldı.

1 saat 95 °C de kaynatıldı. Hemen soğutuldu.

Üzerine 1 ml distile su+ 5 ml n-butanal piridin karıştırılıp çalkalandı.

4000 rpm'de 10 dakika santrifuj edildi. Organik kısım atıldı.

Spektrofotometrede pembe renkli kısmın 532 nm'de absorbansı ölçüldü.

Hesaplama:

MDA(mmol/ml) =Numune Absorbansı X std kalibrasyon'undan elde edilen değer.

2.2.5.4. Redükte Glutatyon (GSH) Tayini

5-5'-ditiyobis [2-nitrobenzoik asit] [DTNB:3-karboksi-4-nitrofenil disülfid: Elman Ayıracı] sülfhidril bileşikleri ile tepkimeye girdiğinde bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks yapı oluşturur. Bu sarı bileşiğin optik dansitesi spektrofotometrede 412 nm'de okunarak GSH miktarı saptanır (Beutler ve ark., 1963). GSH tayini için doku örnekleri ve tam kan kullanıldı.

Çözeltiler:

Çöktürücü (+4°C'de 3 hafta dayanıklı): 5 gr Metafosforik asit + 1g EDTA + 90 gr NaCl 300 ml distile suda çözdürüldü.

Fosfat çözeltisinde 0,3 M Na₂HPO₄ (süresiz dayanıklı) 40,02 gr Na₂HPO₄·7H₂O, 500 ml distile suda çözdürüldü.

DTNB (Elman Ayıracı)'de: 40 mg DTNB 100 ml %1'lik Sodyum sitrat çözeltisiyle çözdürüldü ((+4°C'de 13 hafta dayanıklı).

GSH Standartı (Taze hazırlanır): 10 mg GSH bir miktar distile su ile çözdürüldükten sonra distile su ile 25 ml'ye tamamlandı.

Uygulanan Metot:

Kör: 2 ml distile su + 3 ml çöktürücü

Standart: 0,2 ml GSH standardı + 1,8 ml distile su + 3 ml çöktürücü iyice karıştırıldı, 5 dk beklendi. Daha sonra süzgeç kağıdından süzüldü ve 1 ml süpernatant alınarak başka bir tüpe konuldu. Bu tüpe 4 ml fosfat çözeltisi ve 0,5 ml DTNB ayırıcı katıldı ve iyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 412 nm dalga boyunda 10 dk içinde okundu.

Numune: Deney tüpüne 0,2 ml EDTA'lı tam kan alındı. 1,8 ml distile su katıldı ve karıştırıldı, 3 ml çöktürücü katıldı ve karıştırıldı, 5 dk beklendi. Süzgeç kağıdın dan süzüldü. 1 ml numune alınarak başka bir tüpe kondu. Bu tüpe 4 ml fosfat çözeltisi ve 0,5 ml DTNB ayırıcı katıldı ve iyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 412 nm dalga boyunda 10 dk içinde okundu.

Hesaplama:

$$\text{GSH Düzeyi (\% mg) (mg/dl kan)} = \frac{\text{Numune Absorbansı} \times 40 \text{ mg}}{\text{Standart Absorbansı}}$$

2.2.5.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

Reaksiyon ortamında enzimatik bir tepkime ile ortaya çıkan süperoksid gruplarının, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium indirgemesinin, örnekte bulunan SOD ile engellenmesi prensibine dayanır (Sun ve ark., 1988). Yöntem de süperoksit radikali üretimi ksantin - ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Bu şekilde üretilen süperoksit radikallerinin, NBT ile reaksiyona girerek bu maddeyi indirgemesi sonucunda, maksimum absorbansını 560 nm' de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen radikalleri dismutasyona uğratması nisbetinde, NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değerleri düşer. Dolayısı ile, formazon oluşumunun inhibisyonunun tayin

edilmesi ile SOD miktarı indirekt olarak saptanmaktadır. Analiz materyali olarak eritrosit paketi ve doku örnekleri kullanıldı.

Çözeltiler:

Ksantin Stok Çözeltisi (3 milimol/l) : 23 mg ksantin, 50 ml' lik bir balon joje içinde 5 ml 0,1 N NaOH ile hafifçe ısıtılarak çözüldürüldü. Karışım distile su ile 50 ml' ye tamamlandı. Kullanılacağı zaman 10 kez sulandırıldı.

EDTA Çözeltisi (0,6 milimol/l): 0,249 gr EDTA (dihidrat) bir litrelik balon joje içinde bir miktar distile su ile çözümlenerek hacim 1 litreye distile su ile tamamlandı.

Nitroblue Tetrazolium (NBT) Çözeltisi (150 milimol/l): 12,3 mg NBT 100 ml' lik bir balon jodede bir miktar distile su ile çözüldürüldükten sonra hacim distile su ile 100 ml' ye tamamlandı.

Na₂CO₃ Çözeltisi (400 mikromol/l): 100 ml'lik balon jodaye alınan 4,2 g Na₂CO₃ bir miktar distile su ile çözüldürüldü ve hacim distile su ile 100 ml' ye tamamlandı.

Sığır Albumini Çözeltisi (1gr/l): 100 ml'lik balon jodaye 100 mg sığır albümini alındı ve bir miktar distile su ile çözüldürüldükten sonra hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

CuCl₂ (0,8 milimol/l): 10,7 mg CuCl₂ 100 ml'lik balon jodaye bir miktar distile su ile çözüldürüldü ve hacim distile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

Ksantin Oksidaz Enzim Çözeltisi: 20 U/ml aktiviteye sahip ksantin oksidaz enzim çözeltisinden 20 µl alınarak, 2 ml 2M Amonyum Sülfat çözeltisi ile karıştırıldı.

Reaktif Karışımı: 20 tüplük bir seri analiz için 100 ml'lik bir erlen içersine 20 ml 10 kez sulandırılmış ksantin stok çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml Na₂CO₃ çözeltisi ve 3 ml Sığır albümini çözeltisi konarak iyice karıştırıldı.

Uygulanan Metot:

Test ve kör tüplerine aşağıdaki gösterildiği gibi sırayla çözeltiler ilave edildi. Reaksiyon karışımının son hacmi 3 ml' dir.

Kör ve test işaretli tüplere 2,45 ml reaktif karışımı kondu.

Kör tüpüne 0,5 ml distile su, test tüpüne 0,5 ml numune kondu.

Bütün tüplere 50 µl ksantin oksidaz ilave edildi ve karıştırıldı.

20 dk 25 °C'de su banyosunda inkübe edildi.

İnkübasyon süresi sonunda tüplere 1 ml CuCl₂ eklenerek reaksiyon durdurulur ve oluşan rengin absorbanası 560 nm de okundu.

Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden aktivite olarak kabul edilmektedir. Reaksiyon ortamında bulunan enzim aktiviteleri, bu ünite cinsinden hesaplandı.

Hesaplama:

Aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak numunede bulunan enzimin meydana getirdiği yüzde inhibisyonu hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon (U/g Hb)} = \frac{\text{Körün absorbanası} - \text{Testin absorbanası}}{\text{Körün absorbanası}} \times 100$$

2.2.5.6. Katalaz Aktivite (CAT) Tayini

CAT enzim aktivitesi analiz materyali olarak eritrosit paketi ve doku örnekleri kullanıldı. Hidrojen peroksit ışık spektrumunun UV alanında dalga

boyunun azalmasıyla artan bir absorpsiyon gösterir. Uygun bir tampon içinde bulunan H_2O_2 'nin örnekte bulunan CAT etkisi ile yıkımlanması sonucu bu maddenin 240 nm'de neden olduğu absorbansta azalma meydana gelir. Absorbansta meydana gelen azalma hızı CAT aktivitesi ile orantılıdır (Luck, 1955; Aebi, 1984). Katalaz aktivite tayini için aşağıdaki metot uygulanacaktır.

Çözeltiler:

1. Fosfat tamponu (1/15 milimol/l; pH=7,0): 3,522 gr KH_2PO_4 ve 7,268 gr $Na_2PO_4 \cdot 2H_2O$ bir miktar distile suda çözüldürüldü ve distile su ile bir litreye tamamlandı. Daha sonra pH'sı 7,0' ye ayarlandı.
2. Fosfat tamponunda H_2O_2 çözeltisi (10 mm) : %30'luk H_2O_2 çözeltisinden 0,16 ml alınarak, daha önce hazırlanmış olan fosfat tamponunun 100 ml'sinde seyreltildi. Bu karışımın 240 nm'deki absorbansı 0,5 olmalıdır. Absorbans bu değerden daha düşükse küçük miktarlarda H_2O_2 ilave edilerek absorbansın 0,5 olması sağlanır. Bakteriyel kontaminasyon olasılığı engellendiği sürece fosfat tampon 2 °C de uzun süre dayanıklıdır. H_2O_2 çözeltisi ise hergün taze olarak hazırlandı.

Uygulanan Metot:

1. Her numunenin çalışılmasından önce numunede bulunması olası olan ve 240 nm de absorbans verebilen maddelerin sebep olabileceği absorbans yükselmesini saptamak amacıyla kör deney hazırlandı.
 - i. Kör deney için quartz küvete 2,95 ml fosfat tamponu üzerine 50 µl numune konur. Spektrofotometre, kör deney olarak kabul edilen bu küvete göre sıfırlandı.
 - ii. Küvetlerin ışık yolu 1 cm olmalıdır. Test sonucunda erişilen toplam hacim 3 ml olacaktır. Ölçümler 20 °C de gerçekleştirilmelidir.
2. Test işaretli quartz küveti ise 2,95 ml fosfat tamponu içinde hazırlanmış H_2O_2

çözeltisi kondu ve 50 µl numune eklendi. Küvetler altüst edilerek iyice karışması sağlandı ve spektrofotometreye yerleştirildi.

3. Spektrofotometre absorbans skalasından ya da bağlı kaydediciden, 240 nm de absorbanstaki azalma takip edildi. Absorbansın 0,45'den 0,40'a inmesi esnasında geçen süre tespit edildi. Absorbansın 0,45'den 0,40'a inebilmesi için gereken süre 60 saniyeyi aşmamalıdır.

4. Tespit edilen süre kullanılarak formülden hız sabiti hesaplandı. Daha sonra CAT enzim aktivite tayini hesaplandı. Katalaz aktivitesi eritrositler için k/mgHb ve dokular için k/µg protein olarak ifade edildi (k; nmol/dk).

2.2.5.6.1. Protein Tayini

Protein tayini Lowry yöntemi ile yapıldı (Lowry ve ark., 1951). Alkali ortamda bakır iyonu (Cu^{+2}) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve Cu^{+1} e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Tyr, Trp ve Cys aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyo'nu ile doğru orantılıdır ve 660 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

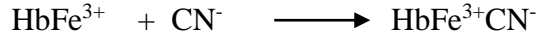
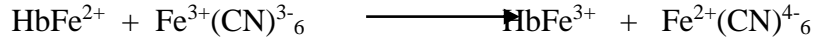
Uygulanan Metot:

1. Örnek ve standart tüplerine 1 ml homojenizat çözeltisi ve standart çözeltiler, kör tüpüne de 1 ml saf su eklendi.
2. Tüm tüplere 3 ml C reaktifi eklendi. (C reaktifi 100:1 oranında A ve B reaktifi Karışımın'dan oluşturulur. A reaktifi % 2 Na_2CO_3 , % NaOH, % 0,16 Na-tartarat; B reaktifi ise % 4 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'dır)
3. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.
4. Tüm tüplere 300 µl Folin-Fenol reaktifi vortekslenerek eklendi.

5. Oda sıcaklığında 45 dakika bekletildi.
6. Absorbanslar 660 nm'de köre karşı okundu.
7. Protein miktarları oluşturulan standart kalibrasyon grafiğinden yararlanarak hesaplandı.

2.2.5.6.2. Hemoglobin Tayini

Hemoglobin miktarı Drabkin yöntemiyle ölçüldü. Hemoglobindeki Fe^{+2} ferrisiyanür tarafından Fe^{+3} 'e yükseltgenir. Bu şekilde hemoglobin methemoglobine dönüşür. Methemoglobin potasyum siyanür (KCN) eklenmesiyle kararlı olan siyanomethemoglobine çevrilir. Daha sonra siyanomethemoglobinin absorbansı 540 nm de ölçülür (Drabkin ve Austin, 1935).



Çözeltiler:

- 1- Drabkin çözeltisi: Sırasıyla 0,2 gr potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe[CN]_6$), 0,05 gr KCN ve 1 gr $NaHCO_3$ distile suda çözülür ve 1 litreye tamamlandı. Reaktifler $4^\circ C$ da koyu renkli cam şişede tutulmalıdır. Bu koşullarda çözelti en az 4 ay dayanır.
- 2- Siyanomethemoglobin standardı (Std): Bilinen konsantrasyonda hemoglobin çözeltisi (gr/dl) kullanıldı.

Uygulanan Metot:

- Spektrofotometre 540 nm'ye ayarlandı.
- Tüpler; kör, standart ve numune olarak işaretlendi.
- Tüm tüplere 6 ml Drabkin çözeltisi koyuldu.
- Standart tüpüne 0,02 ml standart çözeltisi, kör tüpüne 0,02 ml distile su koyuldu.
- Kan numunesinden 0,02 ml numune tüpüne koyuldu.
- Tüpler hücre lizisinin (hücre membranının bütünlüğünün bozularak hücrenin parçalanması) oluşması ve hemoglobinin siyanomethemoglobine dönüşmesini sağlamak için karıştırıldı ve 5 dk bekletildi.
- Standart tüpü spektrofotometrede ölçüldü ve absorbansı okundu (StdOD).
- Numune tüpünün absorbansı ölçüldü ve kaydedildi (Numune_{OD}).

Şekil 3. Hemoglobin Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Karışım Oranları

	Kör (ml)	Numune (ml)	Standart (ml)
Drabkin çözeltisi	5,0	5,0	5,0
Numune	-	0,02	-
Standart çözelti	-	-	0,02
Distile su	0,02	-	-

Hesaplama:

$$\text{Hb konsantrasyonu (g/dl)} = (\text{Numune}_{\text{OD}} \times \text{Std konsantrasyonu}) / \text{Std}_{\text{OD}}$$

2.2.5.7. Plazma Antioksidan Aktivite Tayini

Fe-EDTA kompleks'i standart solusyonu Fenton reaksiyonu tarafından hidrojen peroksit ile reaksiyona girer, hidroksil radikallerinin oluşumuna izin verir. Bu reaktif oksijen radikalleri TBARS salınımı sonucunda benzoatı bozar. İnsan sıvısına eklenen antioksidanlar, TBARS üretiminin baskılanmasına sebep olur. Bu reaksiyon

spektrofotometrik olarak ölçülür (Koracevic ve ark., 2001). Analiz materyali olarak plazma kullanıldı.

Çözeltiler:

1. Sodyum fosfat tampon çözeltisi (Na_2HPO_4) (100 mmol/l, pH 7): 178 g Na_2HPO_4 tartılarak 1 litre distile suda çözdürüldü.
2. Sodyum benzoat ($\text{NaC}_6\text{H}_5\text{CO}_2$) (10 mmol/l); 0,72 g sodyum benzoat tartılır ve 1 l distile suda çözdürülür.
3. Sodyum Hidroksit (NaOH) (50 mmol/litre) 2 g sodyum hidroksit tartılır ve 1 l distile suda çözdürülür.
4. Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (2 mmol/l): 0,93 g EDTA 250 ml fosfat tamponu içerisinde çözdürülür.
5. Amonyum demir sülfat [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] (2 mmol/l), 0,078 g Amonyum demir sülfat 100 ml distile su içerisinde çözdürülür.
6. Fe-EDTA kompleks (4 ve 5 numaralı solüsyonlar taze hazırlanmalı, eşit miktarlarda karıştırılıp oda ısısında 60 dk bekletilmeli)
7. Hidrojen peroksit (H_2O_2) (10 mmol/l) 0,086 ml hidrojen peroksit 100 ml distile su içerisinde çözdürülür.
8. Asetik asit (CH_3COOH) (% 20'lik) 20 ml asetik asit alınarak 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.
9. Tiyobarbitürik asit (TBA): (50 mmol/l) %0.8'lik, 4g TBA tartıldı. 500 ml NaOH 'da çözdürüldü.
10. Ürik asit ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$): (5 mmol/l) 40g NaOH 1 l distile suda çözdürüldü. Ürik asitten 0,042 gr tartılarak 25 ml NaOH çözeltisinde çözdürüldü

Uygulanan Metot :

Metod için öncelikle numune tüpleri (A1-A0), Kontrol tüpleri (K1-K0) ve Ürik asit (UA1-UA0) tüpleri hazırlandı. Plazma ve ürik asitten 10 µl alınarak üzerlerine 490 µl ve 500 µl sırasıyla fosfat tampon ve sodyum benzoat eklendi. Kontrollere ise 500 µl eklendi. A0, K0 ve UA0'a 1 ml asetik asit ilave edildi. Daha sonra bütün tüplere 200 µl demir EDTA ve H₂O₂ ilave edildi.

Tüpler 10 dk 37⁰c de inkübasyona bırakıldı. Tüplerin üzerine 1 ml TBA ve A1, K1, ve UA1'e 1 ml asetik asit ilave edildi. Tekrar 10 dk 100°C' de tüpler kaynatıldı. Tüpler soğutulduktan sonra absorbans'ları 532 nm de distile suya karşı okundu.

Hesaplama:

$$\text{AOA (mmol/litre)} = \frac{(\text{CUA}) (\text{K} - \text{A})}{(\text{K} - \text{UA})}$$

K = Kontrol absorbansı (K₁ - K₀)

A = Numune absorbansı (A₁ - A₀)

UA = Ürik asit solüsyonunun absorbansı (UA₁ - UA₀)

C_{UA} = Ürik asitin konsantrasyonu (mmol/litre).

2.2.6. İstatistiksel Analizler

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler SPSS 20,0 istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin ortalamaları \pm standart hata (SD) ile ifade edildi. Değerlerin hesaplanmasında ANOVA (Analysis of Variance) kullanıldı ve önemlilikler Duncan posthoc testi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık için $P<0,05$ ve $P<0,01$ değerleri kullanıldı.

3. BULGULAR

3.1. Öldürücü Doz 50 (ÖD₅₀)

Çalışmamızda, ilk olarak *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstraktları ratlara gastrik gavaj yoluyla verilerek öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) belirlendi. (Tablo 1 ve Tablo 2). Bu yöntemle göre, uygulama sonrası, 48 saat süresince ratlar takip edildi. Sonuç olarak, bu süre içerisinde ratların klinik durum ve davranışlarında herhangi bir anormallik gözlenmedi. Uygulanan dozların ölüme sebep olmadığı gözlemlendi ve Öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) > 2000 mg/kg olarak belirlendi.

Tablo 1. Etanollü Ekstrakt Verilen Ratlarda Öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) Uygulaması

Etanollü Ekstrakt Verilen Ratlar	Uygulanan Doz (mg/kg)	Log 10 Doz	Ölen Rat Sayısı n: 5	Yaşayan Rat Sayısı n: 5
1	175	2,2430	Yok	1
2	550	2,7404	Yok	1
3	2000	3,3010	Yok	1
4	2000	3,3010	Yok	1
5	2000	3,3010	Yok	1

Tablo 2. Sulu Ekstrakt Verilen Ratlarda Öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) Uygulaması

Sulu Ekstrakt Verilen Ratlar	Uygulanan Doz (mg/kg)	Log 10 Doz	Ölen Rat Sayısı n: 5	Yaşayan Rat Sayısı n: 5
1	175	2,2430	Yok	1
2	550	2,7404	Yok	1
3	2000	3,3010	Yok	1
4	2000	3,3010	Yok	1
5	2000	3,3010	Yok	1

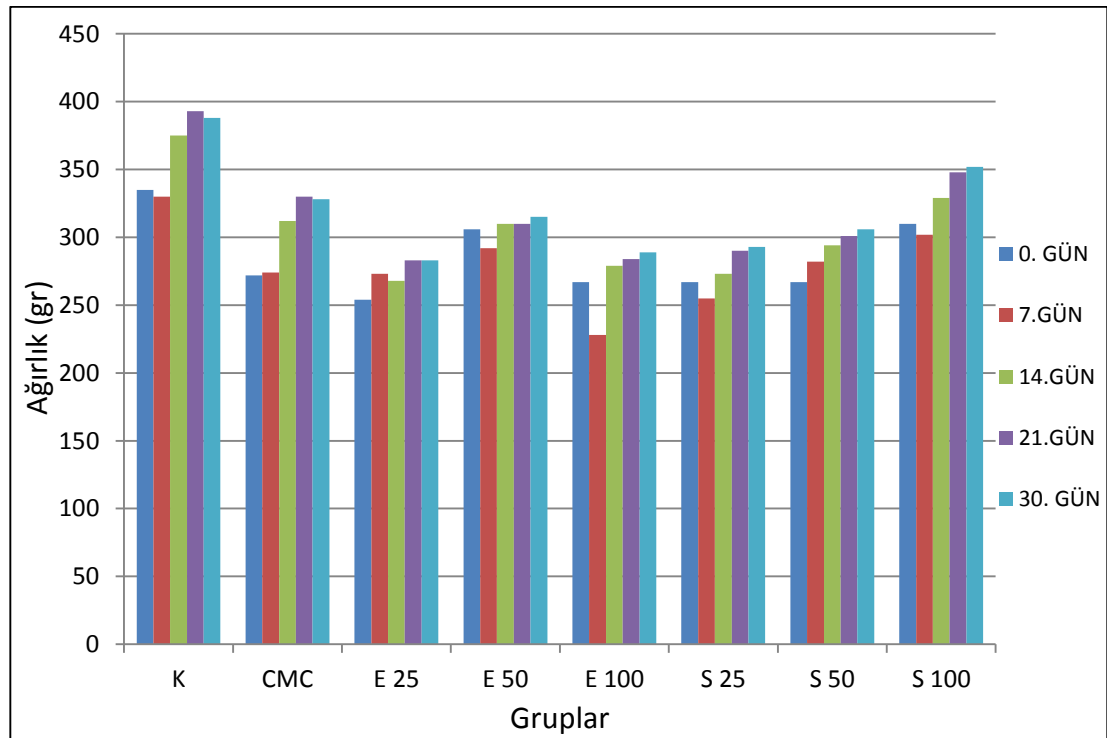
3.2. Rat Ağırlıkları

Çalışmanın başlangıcında yapılan canlı ağırlık tartımları haftada bir kez aynı gün olacak şekilde çalışmanın sonuna kadar tekrarlandı. Çalışma sonunda bu veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Bulunan sonuçlar, Tablo 3 ve Grafik 1’de gösterildi. Çalışmanın 0. gününden 30. gününe kadar geçen sürede ratların ağırlık değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($P>0,05$).

Tablo 3. Çalışma Boyunca Elde Edilen Rat Ağırlıkları (gr)

Gruplar	n	0.GÜN (gr)	7.GÜN (gr)	14.GÜN (gr)	21.GÜN (gr)	30.GÜN (gr)	P
K	8	335±65,52	330±75,44	375±54,14	393±30,58	388±56,26	0,106
CMC	8	272±13,97	274±75,10	312±40,87	330±32,71	328±75,44	0,088
E 25	8	254±44,50	273±51,16	268±33,43	283±34,85	283±29,82	0,568
E 50	8	306±14,18	292±17,63	310±8,46	310±9,67	315±10,40	0,052
E 100	8	267±35,16	228±61,02	279±55,68	284±27,58	289±33,13	0,077
S 25	8	267±23,24	255±50,49	273±24,68	290±24,51	293±29,55	0,127
S 50	8	267±28,76	282±14,27	294±37,23	301±18,10	306±19,86	0,056
S 100	8	310±68,83	302±31,34	329±40,16	348±45,50	352±46,07	0,194

Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.



Grafik 1. Çalışma Boyunca Elde Edilen Rat Ağırlıkları (gr)

3.3. Malondialdehid (MDA)

Gruplara ait tam kan MDA değerleri ve gruplar arası fark Tablo 4 ve Grafik 2' de gösterildi. Buna göre, tam kan MDA değerlerinde K grubuna göre CMC, E 25, E 50, E 100 ekstraktları verilen gruplarda istatistiksel olarak bir değişiklik gözlenmedi. Bununla birlikte K ve Etanollü gruplara göre S 25, S 50, S 100 ekstraktları verilen Sulu gruplarda değerlerin düşmesi istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P<0,01$),

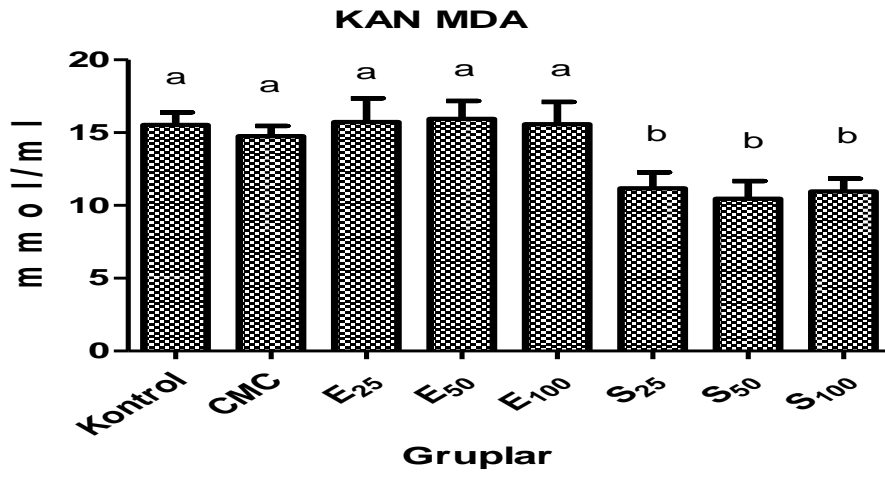
Karaciğer ve böbrek MDA düzeyleri K grubuna göre diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($P>0,05$) (Tablo 4 ve Grafik 3 ve 4). Aynı şekilde Etanollü ve Sulu gruplar arasında da herhangi bir fark bulunmadı.

Tablo 4. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki MDA Değerleri

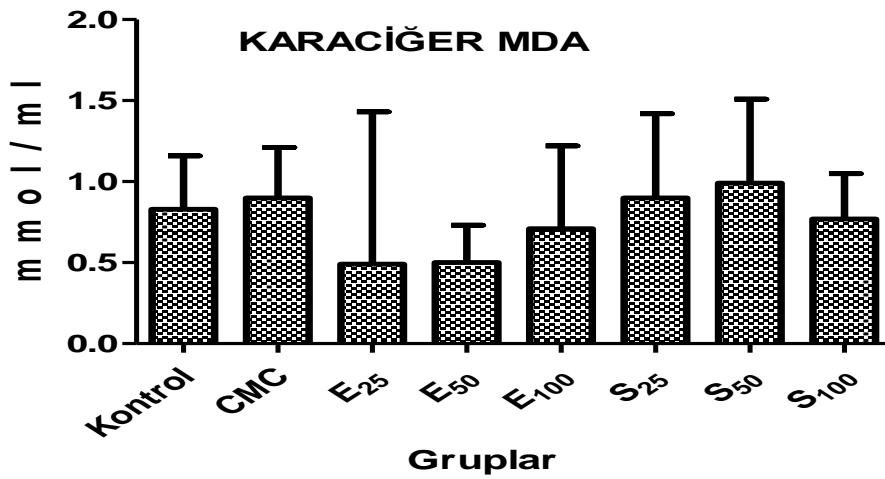
GRUPLAR n:8	Kan MDA (mmol/ml)	Karaciğer MDA (mmol/ml)	Böbrek MDA (mmol/ml)
K	15,53±0,86 ^a	0,83±0,33	1,57±1,12
CMC	14,76±0,70 ^a	0,90±0,31	1,51±0,86
E 25	15,72±1,63 ^a	0,49±0,09	1,36±0,83
E 50	15,95±1,22 ^a	0,50±0,23	1,10±0,82
E 100	15,57±1,54 ^a	0,71±0,51	1,15±0,62
S 25	11,17±1,10 ^b	1,05±0,52	0,67±0,26
S 50	10,46±1,21 ^b	0,99±0,52	0,94±0,48
S 100	10,96±0,88 ^b	0,77±0,28	0,61±0,24
P	0,000	0,121	0,075

a,b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.

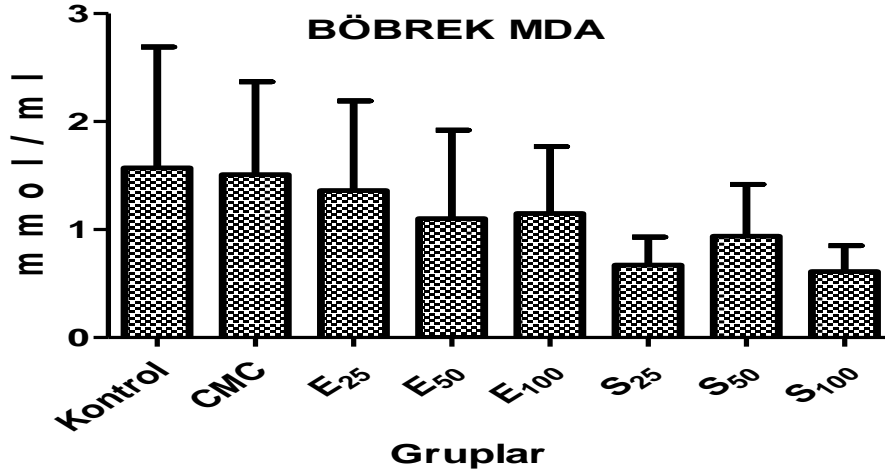
Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.



Grafik 2. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Kan MDA Değerleri



Grafik 3. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Karaciğer MDA Değerleri



Grafik 4. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Böbrek MDA Değerleri

3.4. Redükte Glutatyon (GSH)

Gruplara ait tam kan GSH değerleri ve gruplar arası fark Tablo 5 ve Grafik 5’de gösterildi. Tam kan GSH değerlerinde K grubuna göre CMC, E 50, E 100 grupları arasında bir fark olmamasına rağmen E 25, S 25, S 50 ve S 100 ekstraktları verilen gruptaki değerlerin yükselmesi istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P<0.05$). Bunun yanında E 50, E 100 gruplarına göre S 50, S 100 gruplarında görülen artış anlamlı bir fark olduğu bulundu ($P<0.05$).

Karaciğer GSH değerlerinde K grubuna göre CMC, E 25, E 50 grupları arasında bir fark oluşmadığı görüldü. K grubuna göre E 100, S 25, S 50 ve S 100 ekstraktları verilen gruplardaki değerlerin yükselmesi istatistiksel olarak anlamlı görüldü ($P<0.01$). (Tablo 5 ve Grafik 6). Diğer taraftan, Etanollü gruplara göre Sulu grupların GSH değerlerinde görülen artışın daha fazla olduğu belirlendi ($P<0.05$).

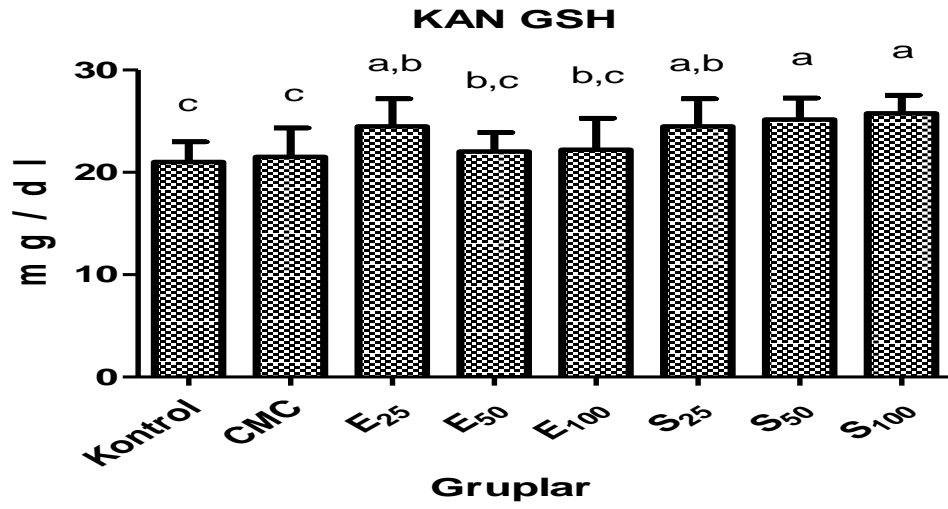
Böbrek GSH değerlerinde K grubuna göre CMC, E 25, E 50, E 100 ekstraktları verilen grupların değerleri anlamlı olarak değişmedi. K grubuna göre S 25, S 50, S 100 ekstraktları verilen gruplarda ise önemli bir artış kaydedildi ($P<0,01$). Etanollü gruplara göre S 50 ve S 100 gruplarında anlamlı bir artış söz konusu olmasına rağmen S 25 grubu ile E 25 ve E 50 grupları arasındaki artışın daha fazla olması gruplar arası farkın anlamlı olduğunu gösterdi ($P<0,05$).

Tablo 5. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki GSH Değerleri

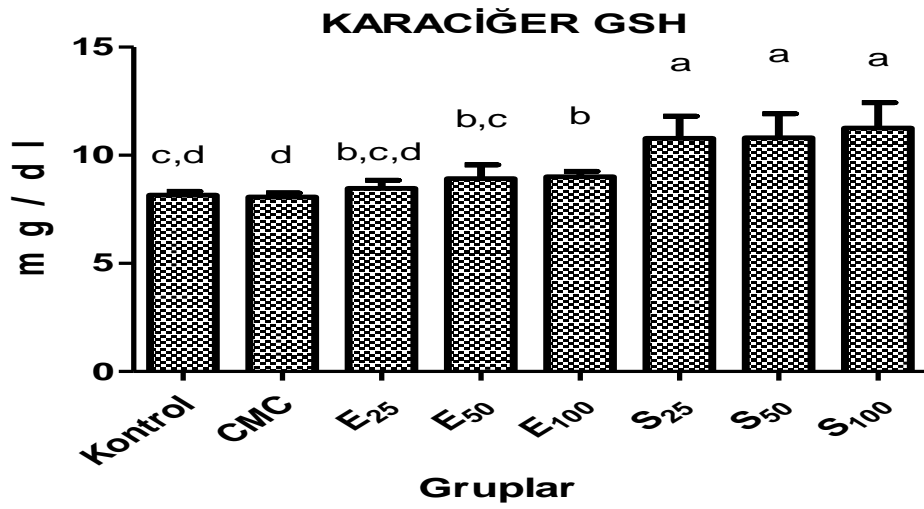
GRUPLAR n:8	Kan GSH (mg/dl)	Karaciğer GSH (mg/dl)	Böbrek GSH (mg/dl)
K	21,00±1,99 ^c	8,16±0,17 ^{c,d}	3,60±0,36 ^{b,c}
CMC	21,51±2,83 ^c	8,07±0,18 ^d	3,67±0,24 ^c
E 25	24,48±2,71 ^{a,b}	8,47±0,37 ^{b,c,d}	3,65±0,90 ^c
E 50	22,03±1,85 ^{b,c}	8,92±0,64 ^{b,c}	3,67±0,68 ^c
E 100	22,21±3,09 ^{b,c}	9,00±0,25 ^b	3,82±0,26 ^{b,c}
S 25	24,48±2,71 ^{a,b}	10,78±1,03 ^a	5,25±0,61 ^{a,b}
S 50	25,17±2,09 ^a	10,81±1,11 ^a	5,70±1,41 ^a
S 100	25,76±1,79 ^a	11,25±1,18 ^a	6,23±3,32 ^a
P	0,001	0,000	0,000

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.

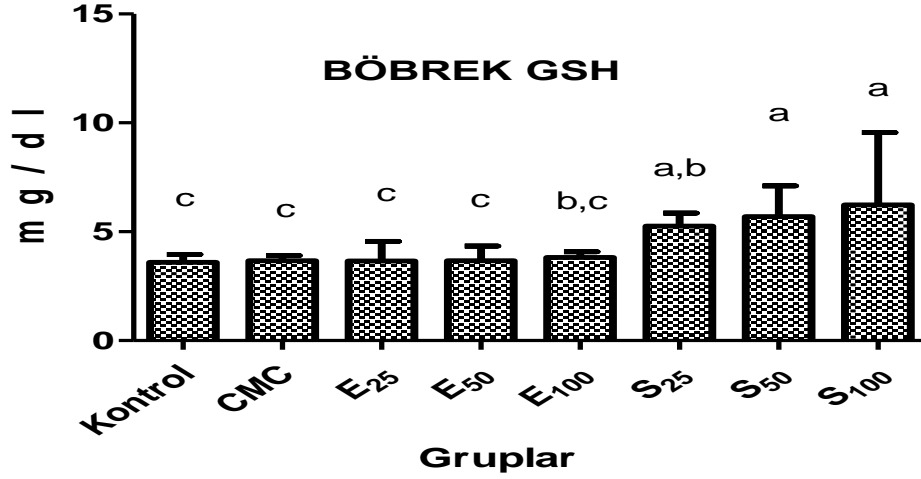
Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.



Grafik 5. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Kan GSH Değerleri



Grafik 6. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Karaciğer GSH Değerleri



Grafik 7. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Böbrek GSH Değerleri

3.5. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Gruplara ait eritrosit SOD aktiviteleri ve gruplar arası fark Tablo 6 ve Grafik 8'de gösterildi. Eritrosit SOD aktivitesinde K grubuna göre CMC grubunda bir değişiklik olmamasına rağmen diğer tüm deneme gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme olduğu belirlendi ($P < 0,01$). Ayrıca, S 25 grubuna göre S 100 grubunda daha fazla artış bulundu. Etanollü gruplara göre, S 25 grubunda bir fark olmamakla birlikte S 50 ve S 100 gruplarında artışın daha fazla olduğu görüldü ($P < 0,05$).

Karaciğer SOD aktivitesinde K grubuna göre CMC, E 25, E 50 grupları arasında fark bulunmazken, K grubuna göre E 100, S 25, S 50, S 100 ekstraktları verilen gruplardaki yükselme istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P < 0,05$). Ayrıca, Etanollü gruplar ile Sulu gruplar arasında önemli bir fark olmadığı belirlendi ($P > 0,05$) (Tablo 6 ve Grafik 9).

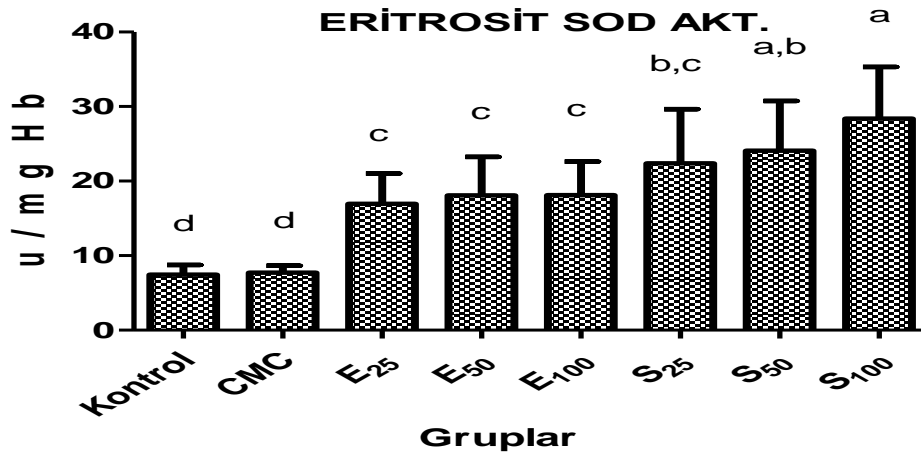
Tablo 6 ve Grafik 10' da gösterildiği gibi, böbrek SOD aktivitesinde K grubu ile CMC grubu arasında bir fark olmadığı belirlendi ($P>0,05$). K grubuna göre tüm deneme gruplarında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P<0,01$). Diğer taraftan E 25 grubuna göre Sulu gruplarda artış ve E 50 grubuna göre S 25 grubunda bulunan artışın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi ($P<0,05$).

Tablo 6. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki SOD Aktiviteleri

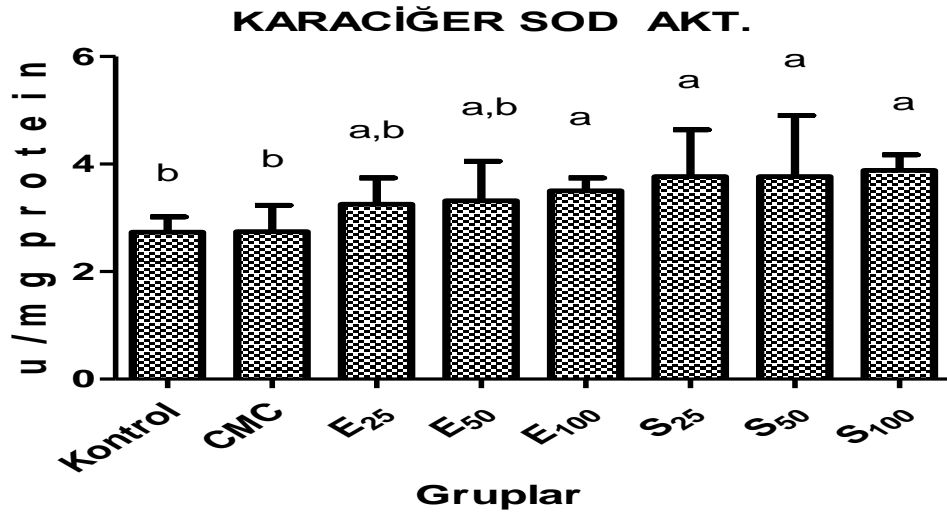
GRUPLAR n:8	Kan SOD (u/mg Hb)	Karaciğer SOD (u/mg protein)	Böbrek SOD (u/mg protein)
K	7,45 ±1,31 ^d	2,73±0,29 ^b	1,74 ±0,18 ^d
CMC	7,73±0,93 ^d	2,74±0,49 ^b	1,93±0,45 ^d
E 25	16,94±4,06 ^c	3,25±0,49 ^{a,b}	2,47±0,30 ^c
E 50	18,07±5,19 ^c	3,32±0,73 ^{a,b}	2,61±0,30 ^{b,c}
E 100	18,11±4,51 ^c	3,50±0,24 ^a	2,85±0,49 ^{a,b,c}
S 25	22,40±7,25 ^{b,c}	3,77±0,87 ^a	3,10±0,53 ^a
S 50	24,08±6,66 ^{a,b}	3,77±1,13 ^a	3,00 ±0,50 ^{a,b}
S 100	28,37±6,95 ^a	3,88±0,29 ^a	2,99±0,33 ^{a,b}
P	0,000	0,002	0,000

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan guruplar arası farklılık önemlidir.

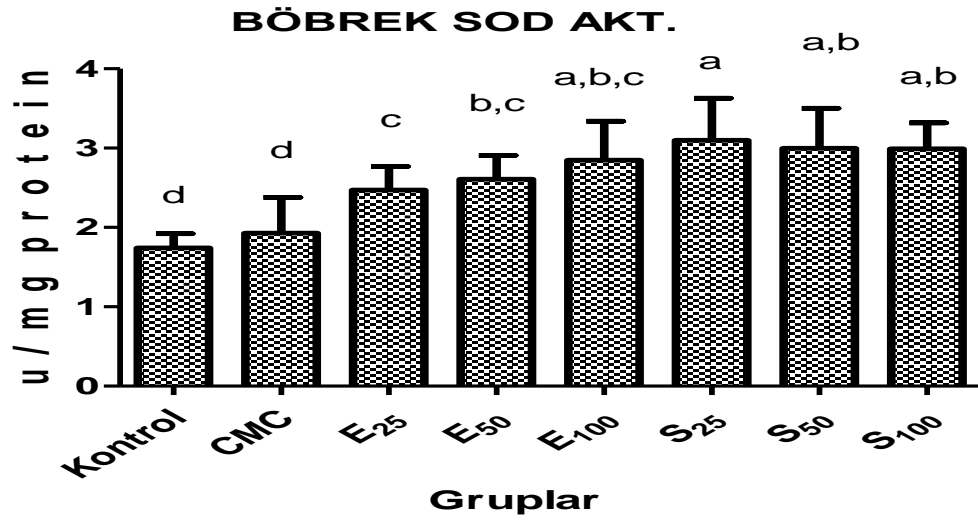
Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.



Grafik 8. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Eritrosit SOD Aktivitesi



Grafik 9. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Karaciğer SOD Aktivitesi



Grafik 10. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Böbrek SOD Aktivitesi

3.6. Katalaz (CAT)

Kontrol ve deneme gruplarına ait eritrosit CAT aktivitesi ve gruplar arası fark Tablo 7 ve Grafik 11’de gösterildi. Eritrosit CAT aktivitesinde K grubuna göre, CMC, S 25, S 50 grubunda bir değişiklik olmadığı belirlendi. Aynı zamanda K grubuna göre E 25, E 50, E 100, S 100 ekstraktları verilen grupların değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı görüldü ($P<0,05$). Buna ilaveten, S 25, S 50 ekstraktları verilen gruplar ile E 100 ekstraktı verilen grup arasında istatistiksel olarak bir fark olduğu belirlendi ($P<0,05$).

Karaciğer CAT aktivitesinde K grubuna göre Etanollü ve Sulu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($P>0,05$). Ayrıca gruplar arası fark belirlenmedi ($P>0,05$) (Tablo 5 ve Grafik 12).

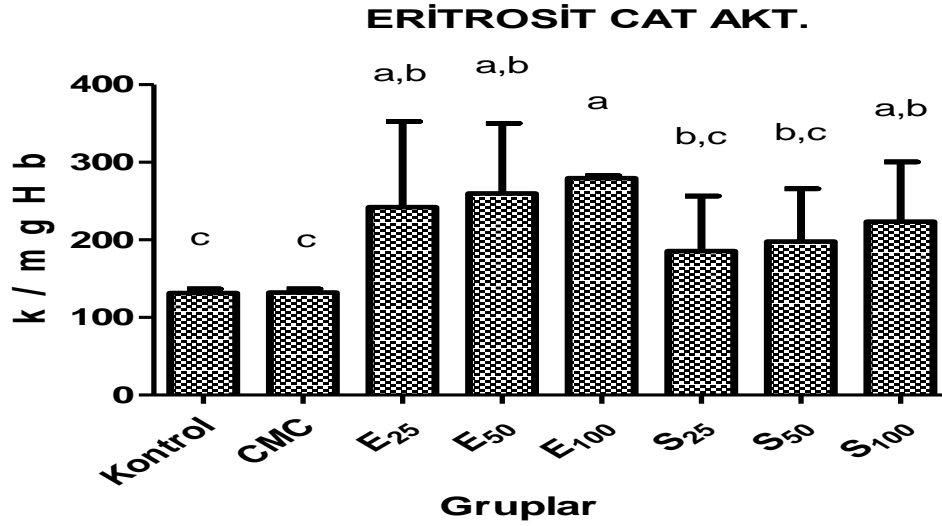
Tablo 7 ve Grafik 13’ te belirtildiği üzere, böbrek CAT aktivitesinin K grubuna göre CMC grubunda aynı değerlerde olduğu görüldü. Kontrol grubuna göre tüm deneme gruplarında görülen azalan değerler istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P<0,01$). Bunun yanında, E 25 ekstraktı verilen gruba göre, S 25 ekstraktı verilen grup arasında daha fazla azalan değerler olduğu belirlendi ($P <0,05$).

Tablo 7. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki CAT Aktiviteleri

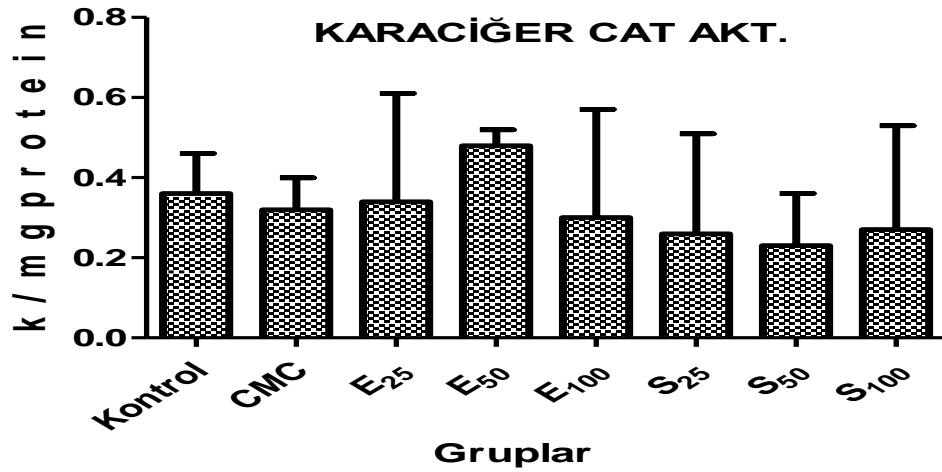
GRUPLAR n:8	Kan CAT (k/ug Hb)	Karaciğer CAT (k/ug Protein)	Böbrek CAT (k/ug Protein)
K	131,54 ±5,27 ^c	0,36±0,10	0,27±0,03 ^a
CMC	132,23±4,69 ^c	0,32±0,08	0,29±0,03 ^a
E ₂₅	242,00±110,49 ^{a,b}	0,34±0,27	0,15±0,07 ^b
E ₅₀	259,92±90,09 ^{a,b}	0,48±0,04	0,14±0,05 ^{b,c}
E ₁₀₀	279,34±3,45 ^a	0,30±0,27	0,12±0,00 ^{b,c}
S ₂₅	185,37±70,99 ^{b,c}	0,26±0,25	0,08±0,07 ^c
S ₅₀	197,93±67,80 ^{b,c}	0,23±0,13	0,09±0,04 ^{b,c}
S ₁₀₀	223,34±77,04 ^{a,b}	0,27±0,26	0,11±0,05 ^{b,c}
P	0,000	0,304	0,000

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.

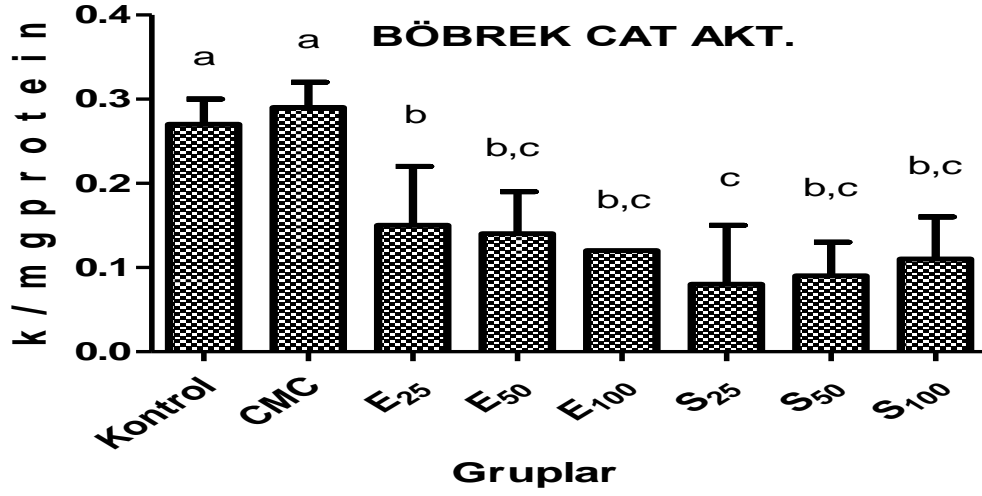
Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.



Grafik 11. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Eritrosit Katalaz Aktiviteleri



Grafik 12. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Karaciğer Katalaz Aktiviteleri



Grafik 13. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Böbrek Katalaz Aktiviteleri

3.7. Plazma Antioksidan Aktivite (AOA)

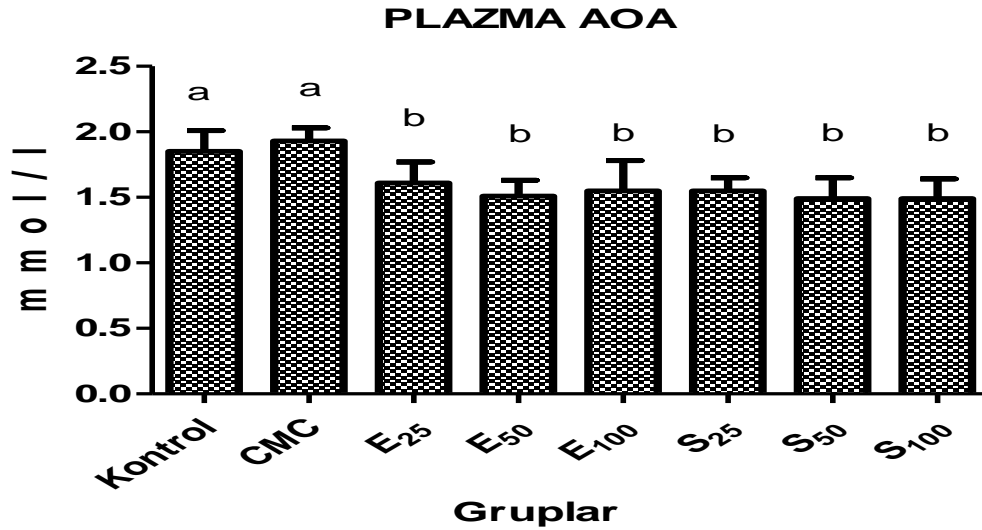
Gruplara ait plazma AOA değerleri ve gruplar arası fark Tablo 8 ve Grafik 14' de gösterildi. Buna göre, plazma AOA değerlerinde K grubuna göre CMC verilen grup yaklaşık değerlere sahip olmasına rağmen Etanollü ve Sulu ekstrakt verilen tüm gruplardaki değerlerin düşüş göstermesi istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P < 0,01$). Bunun yanında deneme grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($P > 0,05$).

Tablo 8. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Plazma AOA Değerleri

GRUPLAR n:8	Plazma AOA (mmol/l)
K	1,85±0,16 ^a
CMC	1,93±0,10 ^a
E 25	1,61±0,16 ^b
E 50	1,51±0,12 ^b
E 100	1,55±0,23 ^b
S 25	1,55±0,10 ^b
S 50	1,49±0,16 ^b
S 100	1,49±0,15 ^b
P	0,000

a,b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan guruplar arası farklılık önemlidir.

Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.



Grafik 14. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Plazma AOA Değerleri

3.8. Kan ve Doku Örneklerinde Belirlenen Antioksidan Aktivitelerin Genel Değerlendirmesi

Gruplara ait kan ve doku örneklerinden elde edilen tüm anti oksidan aktivite değerleri Tablo 9’da gösterildi. Belirlenen kan değerlerinde, tam kan MDA seviyesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında azalan değerler olduğu, özellikle bu azalmanın sulu ekstrakt verilen grupta daha fazla olması ve tam kan GSH seviyesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında artan değerler belirlenmesi, özellikle de bu artışın sulu ekstrakt verilen grupta daha fazla olması istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P<0,01$). Bunun yanında eritrosit SOD aktivitesi K grubuna göre tüm gruplarda, özelliklede sulu ekstrakt verilen gruplarda yükselme gösterdi. Eritrosit CAT aktivitesi de K grubuna göre tüm deneme gruplarında artan değerler gösterdi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P<0,01$). Bunun yanında, plazma AOA değerinin K grubuna göre tüm deneme gruplarında düşük değerler göstermesi istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterdi ($P<0,01$).

Karaciğer MDA seviyesi ve CAT aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlılık olmamasına ($P>0,05$) rağmen, karaciğer GSH değeri ve SOD aktivitesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında yükselen değerler olduğu ve bu yükselmenin özellikle sulu ekstrakt verilen grupta daha fazla olduğu belirlendi ($P<0,05$).

Böbrek MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($P>0,05$). Ancak, böbrek GSH seviyesi ve SOD aktivitesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında artan değerler belirlendi ($P<0,01$). Ayrıca, böbrek CAT aktivitesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında azalan değerler belirlenmesi istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu ($P<0,01$).

Tablo 9. *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlarda Kan ve Doku Örneklerinden Elde Edilen Tüm Anti Oksidan Aktivite Değerleri

a,b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan guruplar arası farklılık önemlidir.

Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.

4. TARTIŞMA

Yapılan tez çalışmasında, *Thermopsis turcica* bitkisinden elde edilen etanollü ve sulu ekstraktlarının rat kan ve doku örneklerinde MDA, GSH, SOD, CAT, ve plazma AOA üzerine etkileri incelendi.

Çalışmanın 0. gününden 30. gününe kadar geçen sürede ratların canlı ağırlıklarında önemli bir değişim bulunmadı. Yapılan çalışmaya benzer olarak *Thermopsis turcica* ile aynı familyaya ait olan *Erythrina variegata* (fabaceae) bitkisinin etanol ekstraktının ratlarda antioksidan etkisinin incelendiği çalışma da 29 günlük deneme sonunda rat ağırlıklarında önemli bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir (Baskar ve ark., 2012). *Thermopsis turcica* bitki içeriğinde bulunan maddelerin canlı ağırlık üzerine olumsuz etkilerinin olmaması ve çalışma süresinin bir ay gibi kısa bir sürede tamamlanmış olmasından dolayı ratların canlı ağırlık bakımından etkilenmedikleri düşünülmektedir.

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarının belirlenmesi, oksidatif zararın en önemli göstergesi olarak bilinmektedir (Zhang ve Kirkham, 1996). Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan MDA organizma için oldukça zararlı bir maddedir ve oluşan bu MDA hücre membranlarındaki iyon değişimine etki ederek geçirgenliğin bozulması, DNA bazlarıyla reaksiyona girerek mutajenik bir karakter kazanması gibi pek çok olumsuz etki göstermektedir (Çelikezen ve Ertekin, 2008).

Yapılan çalışmada K grubuna göre, tüm sulu ekstrakt verilen gruplardaki tam kan MDA seviyelerinde anlamlı bir düşüş gözlemlendi, görülen düşük değerler istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturdu. Ancak etanollü ve sulu *Thermopsis turcica* ekstraktları verilen gruplarda karaciğer ve böbrek dokularında belirlenen MDA değerleri önemli bir değişim göstermedi. Bitkimizin de dahil olduğu fabaceae familyasına ait bir bitki olan *Tamarindus Indica L.* bitkisi ile yapılan bir çalışmada hazırlanan ekstrakt obez ratları tedavi etmek amacı ile çeşitli dozlarda (5,25,50

mg/kg) 10 hafta boyunca oral gavaj yolu ile ratlara verilmiştir. Deneme sonunda, tüm dozlarda kontrol grubuna göre plazma MDA seviyesinde azalma olduğu belirlenmiştir (Khairunnuur ve ark., 2010). Yine *Cassia fistula L.*(fabaceae) bitkisinin in vitro antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sulu ve etanollü ekstraktlarının DPPH seviyesinde yükselmeye sebep olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bu iki ekstraktın rat karaciğer ve böbrek dokularında doza bağlı lipid peroksidasyonunda azalma, DPPH seviyesinde artma belirlenmiştir. Bu etkinin bitkide ki total fenolik bileşikler ile flavanoid konsantrasyonundan kaynaklanmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Neelam ve ark., 2011). *Thermopsis turcica* bitki içeriğinde de, alkaloid, flavanoid, kumarin, radyoaktif glikozit ve steroidal bileşiklerin bulunduğu (Dayan, 2006) göz önüne alınırsa yapılan çalışma da sulu ekstrakt verilen grupta tam kan MDA düzeyindeki azalmanın içeriğinde bulunan bu maddelerin radikal süpürücü etkilerine bağlı olarak lipid peroksidasyonunu azaltmış olabileceği sonucunu düşündürmektedir. Ancak yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitki ekstraktlarının doku MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı görüldü. Bu durumun gerek verilen dozlar bakımından gerekse aktif içerik yönünden dokulardaki MDA açısından yeterli düzeyde olmadığını aklı getirmektedir.

Antioksidanlar, serbest radikallere karşı kendilerini okside etmek suretiyle hücredeki hasarı inhibe eden veya geciktiren maddelerdir (Choudhary ve Swarnkar, 2011). Bilindiği gibi glutasyon organizmanın tüm hücrelerinde bulunan ve bazı detoksifikasyon olaylarında önemli görevler üstlenen temel bir bileşiktir. Hücre içi glutasyon düzeyleri; glutasyon sentezinin kontrolü, hücre dışına taşınması, redoks olayları ve detoksifikasyon işlemlerine katılımı ile düzenlenir (Yalçın, 1993; Göker ve Özmen, 2009). Glutasyon ve glutasyon peroksidazın yeterli aktivitelere sahip olmaları durumunda hücrelerin oluşabilecek serbest radikallere karşı dirençleri artmaktadır. Eğer hücre içi aktivasyonlarında bir zayıflık var ise, hücre membranlarındaki poliansature yağ asitleri, serbest yağ asitleri tarafından daha kolay oksitlenip patolojik değişmelere maruz kalabilirler (Çelikezen ve Ertekin, 2008). İndirgenmiş glutasyon yani GSH, aktif bölgesinde selenyum iz elementini içeren bir enzim olan GPx enzimi katalizörlüğünde H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona

girerek antioksidan etki gösterir ve H₂O₂' yi alyuvarlardan uzaklaştırır (Bayır, 2004). Glutasyon vücutta direk olarak sistein, glisin ve glutamattan sentezlenmektedir. GSH redoks döngüsünün bir substratı olarak, hidroksil radikalleri ile singlet oksijenin temizlenmesinde yararlıdır. Direkt olarak serbest radikalleri temizlemesinin yanısıra; GPx ile birlikte enzimatik olarak da etki gösterir. (Çaylak, 2011). Glutasyon antioksidan aktivitesini ortamdaki mevcut serbest radikallerle birleşip hücrenin oksidatif hasarını engelleyerek gösterirken diğer taraftan, proteinlerdeki sülfidril gruplarını redükte halde tutarak, protein ve enzimlerde oluşabilecek inaktivasyonu engelleyerek göstermektedir (Çelikezen ve Ertekin, 2008). Eğer bir sistemde lipid peroksidasyonu başladığı zaman enzimsel savunma sistemi yeterli değilse düşük molekül ağırlıklı radikal tutucular (GSH, E vitamini, askorbik asit, bilirubin, karotenler, ürik asit gibi) yağ asitleri yerine kendileri yükseltgenerek reaksiyonun devamını engellerler (Battal, 2008).

Yapılan çalışmadan elde edilen verilere göre *Thermopsis turcica* bitkisinin etanollü ve sulu ekstraktları uygulanan ratların kan, karaciğer ve böbrek GSH değerlerinde kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. Kanserli farelerde antitümör ve *in vivo* antioksidan özelliğın değerlendirildiğı bir çalışma da *Mucuna pruriens* (*Fabaceae*) bitkisinin metanol ekstraktı 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 0.1 ml/10 g şeklinde 14 gün boyunca farelere enjekte (i.p.) edilmiştir. Deneme sonunda kanserli fare grubuna göre bitki ekstraktı ile tedavi edilen tüm gruplarda doku GSH seviyesi anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Uygulanan doza bağılı olarak bu etkinin değişebileceğı düşünölmüştür (Rajeshwar ve ark., 2005). *Yakovlev* (*Fabaceae*) bitkisinin içeriğinde bulunan flavanoidlerin antioksidan aktivitesinin incelendiğı diğer bir çalışmada, flavanoidlerin antioksidan aktiviteyi artırdığı bulunmuştur (Yanez ve ark., 2011). *Tephrosia tinctoria Pers.*(*Fabaceae*) bitkisinin kallus kültürü ve farklı bitki çalışmaları ile kıyaslandığı çalışmada, bitkinin kök, gövde ve yaprak etil asetat ekstraktları içersinde en yüksek DPPH- serbest radikal süpürücü aktivite gövde kısmında, en az da kök kısmında belirlenmiştir. Bu antioksidan özelliğın bitki içeriğinde bulunan yüksek fenolik ve flavanoid bileşiklerden kaynaklanabileceğini belirtilmiştir (Rajaram ve ark. 2013). *Thermopsis turcica* bitkisi ile direkt ilişkili bir

çalışma olmamasına rağmen, aynı familya ya ait bitkiler ile yapılan çalışmalar göz önüne alındığında (Rajeshwar ve ark., 2005; Yanez ve ark., 2011; Rajaram ve ark., 2013), yapılan tez çalışmasından elde edilen sonuçlara benzer olan bu veriler, *Thermopsis turcica* bitki içeriğinde bulunan fenolik bileşikler, glikozit ve steroidal yapıların antioksidan aktivite üzerine olumlu bir etki oluşturduğunu göstermektedir.

Hücrede oksijenin reaktif ve toksik ürünlerine karşı doğrudan koruyucu fonksiyon gören en önemli enzim SOD'dur. Bu enzim iki süperoksit radikali arasındaki dismutasyon tepkimesini katalizler (Aliyev, 2005). Süperoksit dismutaz enziminin fizyolojik fonksiyonu lipit peroksidasyonunu inhibe ederek oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Süperoksit dismutaz aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku PO₂ artışı ile artar (Atalay, 2012). Normalde metabolizma sırasında hücreler tarafından fazlaca süperoksit üretilmesine rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler düzeyleri düşük tutulur. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ile serbest radikallerin intrasellüler öldürülmesi sağlanır (Bayır, 2004). Oksidatif stresin derecesine bağlı olarak SOD izozimleri bağımsız olarak düzenlenmektedir. Bu ilgili subsellüler kompartmanda var olan oksidatif stresin derecesi ile bağlantılıdır. Söz konusu düzenlenme olayının moleküler seviyede lipit peroksidasyon ürünlerinin oksidatif hasar bölgesinden çekirdeğe göç ederek spesifik SOD genlerinin transkripsiyonunu artırarak yaptığı bildirilmektedir (Aliyev, 2005).

Yapılan çalışmada, etanollü ve sulu *Thermopsis turcica* bitki ekstraktları verilen gruplarda K grubuna göre, tüm deneme gruplarında kan, karaciğer ve böbrek dokularında artan SOD aktiviteleri belirlendi. *Tamarindus İndica L. (fabaceae)* bitkisinden hazırlanan ekstrakt obez ratları tedavi etmek amacı ile çeşitli dozlarda (5,25,50 mg/kg) 10 hafta boyunca ratlara oral gavaj yolu ile verilmiştir. Deneme sonunda, tüm dozlarda kontrol grubuna göre kan SOD seviyelerinde yükselme ve plazma MDA seviyesinde azalma olduğu belirlenmiştir (Khairunnuur ve ark., 2010). *Soya bitkisi (fabaceae)* izoflavonoidlerinin antioksidan etkisi ile ilgili yapılan bir

çalışmada soya izoflavanoidlerinin tüketilmesi sonucu plazma SOD aktivitesinde artma olduğu belirtilmiştir (DiSilvestro ve ark., 2005). Norlaily ve ark. (2013), Etanol kaynaklı karaciğer hasarı oluşturulmuş farelerde çimlenmiş ve mayalanmış *Mung fasülyesi (fabaceae)* nin sulu ekstraktları hazırlanarak antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Hazırlanan *Mung fasülyesi* çimlenmiş ve mayalanmış sulu ekstraktları, düşük doz (200 mg/kg) ve yüksek doz (1000 mg/kg) olarak 8-10 hafta boyunca farelere oral olarak uygulanmıştır. Bu çalışma sonucuna göre, verilen tüm ekstraktlarda SOD karaciğer aktivitesinde belirgin yükselme görülmüştür. Ayrıca, *Mung fasülyesi* su ekstraktlarının fare kan plazmasında MDA oluşumunu baskıladığı rapor edilmiştir. *Mung fasülyesi* içeriğinde bulunan yüksek miktarda total fenolik bileşiklerin güçlü bir antioksidan aktivite ile bu etkiyi oluşturabileceği belirtilmiştir. *Soya fasülyesi (fabaceae)* isoflavanoidlerinin in vivo antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, farelere oral olarak 60 gün boyunca 1.08 gr/kg şeklinde isoflavanoidden zengin soya diyeti uygulanmıştır. Çalışma sonucunda fare karaciğer SOD aktivitesinde yükselme belirlenmiş ve isoflavanoidlerin bu etkiden sorumlu olabileceği belirtilmiştir (İbrahim ve ark., 2008). *Cytisus Scoparius (fabaceae)* bitkisinin farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktları (kloroform, etil asetat, metanol, hidroalkolik) ile yapılan çalışmada, ekstraktlar çalışma grubundaki ratlara çeşitli dozlarda (250-500 mg/kg) oral olarak uygulanmıştır. Hidroalkolik ekstrakt verilen ratlarda her iki dozda da rat böbrek dokusunda kontrol grubuna göre SOD aktivitesinin arttığı görülmüştür (Raja ve ark., 2007). Yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitkisinden elde edilen etanollü ve sulu ekstraktların ratlara uygulanması sonucu, SOD aktivitesinin yükselmesi, bu bitki ile aynı familyada olan diğer bitkilerle yapılan çalışmalar (Khairunnuur ve ark., 2010; DiSilvestro ve ark., 2005; İbrahim ve ark., 2008; Raja ve ark., 2007) göz önüne alındığında, bitkinin fitokimyasal içeriğinde bulunan fenolik bileşikler ve hazırlanan ekstrakt türü ile ilgili olabileceği kanaatine varmamızı sağladı.

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit radikalini ortadan kaldırmakta fakat bunun sonucunda toksik özelliği yine çok yüksek olan bir başka madde hidrojen peroksit oluşmaktadır. Hidrojen peroksitin parçalanması (detoksifikasyonu) için

etkili olan enzimlerden birisi CAT, diğerkleri de askorbat-glutasyon d6ngüsüne katılan glutasyon reduktaz ve askorbat peroksidaz'dır (Yaşar ve ark., 2008). Bir metalloenzim olarak bilinen CAT enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir. Süperoksit dismutaz enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik H₂O₂, CAT enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürölmektedir. Hidrojen peroksit, biyolojik önemi olan moleküllerin çoğı ile spesifik olarak reaksiyona girmemekle birlikte OH· radikali gibi daha reaktif oksidanların oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır. Peroksidazlar da CAT enzimiyle aynı özelliklere sahiptir (Koca ve Karadeniz, 2005). Bu bağlamda SOD aktivitesinin yükselmesi sonucu CAT aktivitesinin de yükselmesi söz konusu olabilmektedir.

Kan CAT aktivitesinin büyük ölçüde eritrositlerden kaynaklanmış olabileceğı düşünölmektedir (Bayır, 2004). Yapılan çalışmada buna paralel olarak, ratların eritrosit CAT aktivitesinde yükselme görülürken, böbrek CAT aktivitesinde azalma olduğı belirlendi. Bu durum, yapılan çalışmada eritrositlerde ki CAT aktivitesinin yüksek olmasını destekler niteliktedir. *Erythrina variegata (fabaceae)* bitkisinin etanol ekstraktının antioksidan etkisinin incelendiğı çalışma da bitki ekstraktı dört hafta boyunca 200 mg/kg günlük oral olarak ratlara uygulanmış ve deneme sonunda kontrol grubuna göre *Erythrina variegata (fabaceae)* bitkisi etanol ekstraktının verildiğı ratlarda karaciğer CAT aktivitesinde azalma belirlenmiştir. Katalaz aktivitesindeki bu azalmanın uygulanan doza bağı olabileceğini belirtmişlerdir (Baskar ve ark., 2012). Yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitki ekstraktlarının her ikisinde de böbrek CAT aktivitesinde azalma görölmüştür. *Soya fasülyesi (fabaceae)* nin in vivo ve invitro antioksidan etkisinin araştırılması ile ilgili çalışmada, etanol ekstraktı içersinde isoflavanoidler ve glikozidler belirlenmiştir. Sekiz hafta boyunca 50 mg/kg isoflavanoid ve 24 hafta boyunca 150 ve 250 mg/kg isoflavanoid uygulanmıştır. Yirmidört hafta sonunda 150 ve 250 mg/kg isoflavanoid uygulanan ratların çeşitli organlarında SOD ve CAT aktivitelerinde yükselme görölmüştür. Bu yükselmenin, ratlara yüksek dozda ve uzun süre isoflavanoid verilmesinden kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir. Bunun yanında soyadan

elde edilen tofu (soya loru) ekstraktının 50 mg/kg uygulandığı ratların, 150 ve 250 mg/kg isoflavanoid uygulanan ratlara göre daha iyi bir antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Tofu içerisinde bulunan isoflavan dışındaki moleküler yapıların in vivo antioksidan enzimler üzerine sinerjistik bir etki göstermiş olabileceği belirtilmiştir (Liu ve ark., 2005). Yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitkisinin etanollü ve sulu ekstraktlarının ratlara uygulanması sonucu, kanda CAT aktivitesinin yükselmesinin nedeni, verilen doz miktarından, uygulama süresinden ve bitki içeriğinde bulunan flavanoid, glikozidik bileşikler gibi yapılardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında *Thermopsis turcica* bitki içeriği ile ilgili yeterli veri bulunmadığı için bitki içerisinde bilinen maddelerin dışında, bitkide olabilecek farklı bileşiklerinde CAT aktivitesi üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Thermopsis turcica'nın yaprak, dal, çiçek kısımlarından hazırlanan metanol ve aseton ekstraktlarının serbest radikal süpürücü aktivite, total fenolik içerik, toplam oksidan seviye ve toplam antioksidan seviye in vitro ölçümlerine göre, *Thermopsis turcica*'nın aseton ekstraktında serbest radikal süpürücü aktivite ve metanol ekstraktında total antioksidan aktivitenin yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu etkinin ekstraktların içeriğinde bulunan fenolik madde miktarı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (Aksoy ve ark., 2013). Endemik *Thermopsis turcica* bitkisinin in vitro antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmada, bitkinin farklı polaritedeki çözücülerde etanol, metanol, etil asetat, hekzan ve su ekstraktları hazırlanmış ve DPPH süpürücü aktivite, β karoten/ linoleik asit sistemi ve indirgeme gücü yöntemleriyle antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar standart antioksidan olarak bilinen bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, en yüksek antioksidan aktivite etil asetat ve metanol (% 93-% 92 inhibisyon etkisi) ekstraktlarında gözlenmiştir. Ancak hekzan ekstresinde antioksidan aktivite gözlenmemiştir (Bali ve ark., 2009). Ayrıca fabaceae familyasına ait olan *Sophora* bitkisinin fitokimyasal, etnomedikal ve farmakolojik etkileri üzerine yapılan bir çalışmada, *Sophora* bitkisinin içeriğinde farklı miktarlarda bulunan lupin alkaloid,

glikozit ve flavanoidlerin antioksidan özellik gösterdiği belirtilmiştir (Krishna ve ark., 2012).

Yapılan çalışmada *Thermopsis turcica* etanollü (25, 50, 100) ve sulu (25, 50, 100) ekstraktları verilen ratların plazma AOA değerleri kontrol ve CMC grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Çalışma sonucuna paralel olan Fermante *soybean (fabaceae)* ekstraktının antioksidan aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, rat karaciğer dokusunda SOD, CAT ve GPx aktiviteleri artarken, böbrek dokusunda SOD ve beyin dokusunda SOD, GPx aktivitelerinde azalma görülmüştür (Hu ve ark., 2004). *Soya fasülyesi (fabaceae)* içerisinde bulunan isoflavon bileşiklerinin insan sağlığına etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüksek miktarda isoflavan tüketiminin, az miktarda isoflavan tüketimine göre plazma lipid peroksidasyonunu düşürmede daha etkili olduğu bulunmuştur. Plazma konsantrasyonu içinde bulunan isoflavon fitoöstrojen biomarkırlarının bu etkiden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir (Wiseman ve ark., 2000). *Thermopsis* genusu içinde bulunan fenolik bileşiklerin içeriği ve kalitesi antioksidan aktivite üzerinde etkilidir. Bazı meyvelerde bulunan yüksek seviyede fenolik bileşiklerin DPPH radikal absorbans hızında çok hızlı bir düşüşe sebep olduğu bildirilmiştir (Choudhary ve Swarnkar, 2011). Yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitki ekstraktlarının her ikisinin de ratlar üzerinde plazma AOA seviyesini düşürdüğü belirlendi. Bu etkinin bitki içeriğinde bulunan alkaloid türleri ve diğer maddelerin etkileşimlerinden kaynaklanan zararlı bir durum ortaya çıkardığı ve buna bağlı olarak plazma antioksidan aktivitesini azaltıcı yönde bir sonuç oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ratlarda *Thermopsis turcica* bitkisinden elde edilen ekstraktların antioksidan etkilerinin araştırılması ile ilgili yapılan çalışmada,

Thermopsis turcica bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstraktları ratlara gastrik gavaj yoluyla verilerek öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) miktarı bulundu. Uygulanan dozların ölüme sebep olmadığı gözlemlendi ve öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) > 2000 mg/kg olarak belirlendi.

Çalışmanın 0. gününden 30. gününe kadar geçen sürede ratların ağırlıklarında değişim gözlemlenmedi.

Gruplara ait MDA tam kan değerlerinde K grubuna göre, sulu ekstrakt verilen gruplarda değerlerin azaldığı görülürken, karaciğer ve böbrek MDA seviyelerinde herhangi bir değişiklik bulunmadı.

Glutatyon tam kan, karaciğer ve böbrek değerlerinde etanollü gruplar arasında fark görülmezken, Etanol verilen gruplara göre Sulu grupların değerlerinde önemli bir artış kaydedildi.

Eritrosit, karaciğer ve böbrek SOD aktivitelerinde, tüm deneme gruplarında yükselen değerler belirlendi.

Eritrosit CAT aktivitesinde, etanollü ve sulu ekstrakt verilen gruplarda artış olduğu bulundu. Karaciğer CAT aktivitesinde değişiklik olmadığı, böbrek CAT

aktivitesinde etanollü ve sulu ekstrakt verilen gruplarda azalan değerler olduğu bulundu.

Plazma AOA değerlerinde etanollü ve sulu ekstrakt verilen tüm gruplardaki değerlerde düşüş olduğu saptandı.

Sonuç olarak, endemik *Thermopsis turcica* (fabaceae) bitkisi etanollü ve sulu ekstraktlarının in vivo antioksidan aktivitesinin ilk kez araştırıldığı çalışmada, sulu ekstraktlarının, etanollü ekstraktlara göre kan, karaciğer ve böbrek doku örneklerinde MDA, GSH üzerine olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir. Bitki içeriğinde bulunan ancak yoğunluğu, türü ve kalitesi hakkında yeterli bilgi bulunmayan fenolik bileşiklerin bu etkiden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Plazma AOA üzerinde bu olumlu etkinin görülmemesi ise yine bitki içeriğinde bulunan alkaloidler ve glikozitler gibi yapıların zararlı etkilerinden kaynaklanabileceği kanaatine varılmıştır. Bunun dışında çalışmada kullanılan ekstrakt türü ve ratlara uygulama süresinde antioksidan aktivite üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen veriler *Thermopsis turcica* bitkisinin antioksidan aktivite üzerine etkisinin neden kaynaklandığı ile ilgili daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Bu sonuçların, konu ile ilgili gelecekte yapılacak çalışmalara temel oluşturması açısından önemli olduğu ve ayrıca, bitki içeriği ile ilgili yapılacak çalışmaların bitkinin sağlık alanında kullanımını açısından önemli ip uçları verebileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Ratlarda *Thermopsis turcica* Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin Araştırılması

Fabacea familyasına ait endemik bir bitki olan *Thermopsis turcica* ülkemizde *Thermopsis* cinsini temsil eden tek türdür. Yapılan çalışma ile *Thermopsis turcica* bitkisinden elde edilen ekstraktların antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada, *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımları toplanarak oda sıcaklığında ve gölgede kurutuldu. Kurutulmuş bitkilerden etanol ve su ekstraktları elde edildi. Çalışmada, 1,5- 2 aylık, 250-350 gr ağırlığındaki Wistar Albino ırkı toplam 74 adet erkek rat kullanıldı. Ratlardan 64 tanesi antioksidan aktiviteyi, 10 tanesi ÖD₅₀ dozu belirlemek için kullanıldı. Ratlar, her grupta 8 adet olacak şekilde 8 gruba ayrıldı. *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstraktlar, belirlenen ÖD₅₀ dozunun yaklaşık % 1'i, % 2'si ve % 4'ü oranlarında alınarak gruplandırmada belirlenen şekilde, günlük tek doz halinde eş zamanlı olarak gastrik gavaj yoluyla uygulandı. Gastrik gavaj uygulamaları 30 gün boyunca devam etti. Çalışma sonunda hayvanlardan, ksilazin-ketamin anestezisi altında intrakardiyak olarak kan ve ayrıca karaciğer, böbrek doku örnekleri alındı. Kan ve doku örneklerinden Malondialdehit (MDA), Redükte Glutasyon (GSH), Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), ve plazma Antioksidan Aktivite (AOA) değerlerine bakıldı.

Çalışmada, *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ve su ekstraktları uygulanarak öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) > 2000 mg/kg olarak bulundu. Çalışmanın 0. gününden 30. gününe kadar geçen sürede ratların ağırlık değişimleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P>0,05). Tam kan MDA değerlerinde K grubuna göre sulu gruplarda düşük değerler görüldü (P<0,01).

Thermopsis turcica bitkisinin tam kan MDA seviyesinin özellikle sulu ekstrakt verilen grupta düştüğü ($P>0,05$), ancak dokularda böyle bir etki olmadığı belirlendi. Bunun dışında kan, karaciğer ve böbrek GSH seviyelerinde özellikle sulu ekstrakt verilen gruplarda artan değerler bulundu ($P<0,01$). Ayrıca enzimsel olarak her iki ekstrakt verilen grupta eritrosit SOD, CAT aktiviteleri ile karaciğer, böbrek SOD aktivitesinde artış olmasına rağmen ($P<0,01$), böbrek CAT aktivitesinde düşme ($P<0,01$), ve karaciğer CAT aktivitesinde herhangi bir etki olmadığı ($P>0,05$) görüldü. Ek olarak, her iki ekstrakt verilen grupta plazma AOA değerlerinde düşme olduğu saptandı ($P<0,01$).

Sonuç olarak, tam kan MDA seviyesinde görülen düşük değer ile tam kan ve doku örneklerinde belirlenen GSH düşük değerlerinin özellikle sulu ekstraktlarda görülmesi bitkinin antioksidan etki üzerine olumlu etkisinin olduğunu göstermektedir. Ancak, plazma AOA değerlerinin her iki ekstraktta düşük bulunması yeterli bir antioksidan etki oluşmadığı kanaatine varmamızı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler; Antioksidan Aktivite, Fabaceae, Lipid Peroksidasyonu, Rat, *Thermopsis turcica*

ABSTRACT

The Research in Antioxidant Effects of Extracts Obtained from Plant *Thermopsis Turcica* on Rats

Thermopsis turcica, the endemic plant belonging to fabaceae family, is the only species that represents *Thermopsis* in our country. This study aims to investigate antioxidant effects of extracts obtained from *Thermopsis Turcica* plant.

In this study the upper parts of the plant *Thermopsis turcica* were collected on ground surface and dried at room temperature under the shade. Ethanaol and water extracts were obtained from the dried plant. A total of 74 male Wistar albino rats, aging between 1,5 - 2 months old and weighing between 250-350 gr were used. 64 of them were used to determine antioxidant activity, 10 of them were used to determine the lethal dose LD₅₀. Rats were divided into 8 groups and each group consisted 8 rats. The prepared extracts from the upper parts of the plant *Thermopsis turcica* that consisted % 1, % 2 and % 4 of LD₅₀ were fed simultaneously as specified in grouping in single daily doses through gastric gavage. Gastric gavage feeding continued for 30 days. At the end of the study, intracardiac blood, kidney tissue and liver samples of animals were taken under xylazine -ketamine anesthesia. From the blood and tissue samples, malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and plasma antioxidant activity (AOA) levels were measured.

The lethal dose 50 (LD50) > 2000 mg / kg was found by applying ethanol and water extracts that were prepared from the upper parts of the plant *Thermopsis turcica*. There was no significant difference in weight among the rats from the first day to the last day of the month ($P > 0,05$). In whole MDA blood values, aqueous groups showed lower values than K group ($P < 0,01$). The whole MDA blood value level in *Thermopsis turcica* plant, especially the groups with aqueous extracts showed a decrease ($P > 0,05$) but no effect on tissues was determined. Furthermore, especially the groups which were given aqueous extracts are found to have increasing values of blood, liver and kidney GSH levels ($P < 0,01$). Although, the group which was given both extracts enzymatically had an increase of erythrocyte SOD, CAT, liver and kidney activities ($P < 0,01$), it had a decrease of kidney CAT activity ($P < 0,01$) and no effect on liver CAT activity was observed ($P > 0,05$). Additionally, a decrease in plasma AOA values ($P < 0,01$) was observed in the group which was given both extracts.

As a result, low values observed in whole blood MDA and low GSH values in whole blood and in tissue samples of especially aqueous extracts of the plant has positive effects on antioxidant effect. However, low AOA plasma values in both extracts led to the opinion that sufficient antioxidant effect did not occur.

Key Words: Antioxidant Activity, Fabaceae, Lipid peroxidation, Rat, *Thermopsis turcica*.

KAYNAKLAR

- AEBİ H. (1984). Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol.* 105: 121-126.
- AKSOY L., KOLAY E., AĞILÖNÜ Y., ASLAN Z., KARGIOĞLU M. (2013). Free Radical Scavenging Activity, Total Antioxidant Status and Total Oxidant Status of Endemic *Thermopsis turcica*, *Saudi Journal of Biological Science*,10.1016.
- AL-FAWAIER S. (2009). Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Farklı Vücut Sıvılarında, Hassas Bir Malondialdehid (MDA) Ölçüm Yönteminin Kurulması Ve Rutin Kullanıma Geçirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ALİYEV E. (2005). Atrisorb Uygulanmış ve Radikal Süpürücü Enzimler (superoxide dismutase (SOD) ve Catalase (CAT)) Verilmiş Köpeklerin Dişeti Dokularında Radikal Süpürücü Enzimlerin (SOD, CAT VE Glutathione Peroxidase) Aktivitelerinin Zamana Göre Değişimi. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- ALTINIŞIK M. (2001). Serbest Oksijen Radikalleri Ve Antioksidanlar 2000–2001 Eğitim-Öğretim Sunuları Biyokimya anabilim dalı semineri. Erişim: <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/sunularim.htm>
<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/s-oa-HeksozmonofosfatYolu.ppt> Erişim Tarihi: (07. 06. 2013)].
- ALTUĞ M. (2009). Sağlıklı Erişkinlerde Fiziksel Aktivitenin Eritrosit ve Plazmadaki Oksidan/ Antioksidan Parametreler Üzerine Olan Etkilerinin Belirlenmesi ve Yüksek Antioksidan Özelliği Olduğu Bilinen Nar Suyunun Bu Parametreler Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ANONİM a. (2013). Sarı meyan [<http://www.wikipedia.org>. (10. 10. 2013)].
- ANONİM b. (2013). *Thermopsis turcica* [<http://www.thermopsisturcica.com>. (10. 10. 2013)].
- ANTMEN Ş.E. (2005). Beta Talasemide Oksidatif Stres. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ARDAĞ A. (2008). Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.

- ATALAY F. (2012). Gebelerden Alınan Amniyon Sıvılarının Karyotip Analizinde Normal, Down Sendromu ve Nöral Tüp Defekti Olduğu Tespit Edilen Olguların Amniyon Sıvılarında Oksidatif Stres (MDA) Parametrelerinin, Antioksidan (SOD, CAT, GSH-Px) ve Eser Element (Se, Zn, Cu) Düzeylerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- AVCI G., UĞUZ C., BAYRAM İ., ERDOĞAN M., KÜÇÜKKURT İ., DOSAY AKBULUT M., ÖZDEMİR M., LENGER Ö.F., İŞCAN M., TOGAN İ. (2010). Effects of Nonylphenol on Growth Parameters and Antioxidant Defense System in Japanese Quails (*Coturnix japonica*). *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 16 (4): 537-546.
- AYDIN İ., (1996). Yembitkilerinin besin değerini etkileyen faktörler. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi.* 11(1): 167-176, Samsun.
- BAKER D.C., KEELER R.F. (1989). Thermopsis montana- induced myopathy in calves. *J. Am Vet Med Assoc.* 194(9): 1269-72.
- BAKKALOĞLU B. (2007). Otistik Bozuklukta Antioksidan Enzim ve Antioksidan Vitamin Düzeyleri, Malondialdehit ve Glutasyon Düzeyleri. Uzmanlık Tezi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi. Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı.
- BALABANLI C., ALBAYRAK S., TÜRK M., YÜKSEL O. (2006). Türkiye Çayır Meralarında Bulunan Bazı Zararlı Bitkiler Ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi Seri: A, Sayı: 2, Sayfa: 89-96.*
- BALİ E.B., AÇIK L., VURAL M. (2009). Türkiye’de Monotipik Endemik Thermopsis Turcica Kit Tan, Vural & Küçüködük (Piyan) Bitkisinin İn vitro Antioksidan Aktivitesi. *Turkish Journal of Biochemistry.* Sayfa: 34.
- BASKAR N., PARİMALA DEVİ B., JAYAKAR B. (2012). Evaluation of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Erythrina Variegata and Impatiens Balsamina on Chromium (VI) Induced Oxidative Stress in Albino Rats. *International Journal of Research in Pharmacology and Pharmacotherapeutics.* Vol-1(1). 30-33.
- BATTAL E., (2008). Afyokarahisar Yöresindeki Saponin İçeriği Yüksek Bitkilerin Radyasyona Karşı Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- BAYDAR H. (2005). Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 51, Isparta.

- BAYIR Y. (2004). *Usnea Longissima* Ach. Liken Türünden İzole Edilen Difraktaik Asit' in İndometazin Ülseri Üzerine Koruyucu Etkisi ve İn-Vivo Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- BAYŞU SÖZBİLİR N., BAYŞU N. (2008). *Biyokimya*. Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara.
- BERTUCAT M., ERTAN R. (1975). *Farmasötik Kimya Ders Notları - Alkaloidler ve Analog Sentetik Türevleri*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi. Yayın No: 45.
- BENZER F., OZAN S.(2003). *Fasciola hepatica* ile Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri, *Turk J Vet Anim Sci* 27, 657-661
- BEUTLER E., DURON O., KELLY B.M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 61, 882-888.
- BOZDEMİR Y.(2007). Keten tohumu(*Linum usitatissimum*) ekstraktında katalaz ve süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- BUNSUPA S., KATAYAMA K., IKEURA E., OIKAWA A., TOYOOKA K., SAİTO K., YAMAZAKİ M. (2012). Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in leguminosae. *Plant Cell*. 24(3):1202-16. doi: 10.1105/tpc.112.095885.
- CENKÇİ S., YILDIZ M., DAYAN S., KARGIOĞLU M., KONUK M. (2005). Endemik ve Tehlike Altındaki *Thermopsis Turcica*'nın Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonu. XIV. Biyoteknoloji Kongresi. Eskisehir.
- CENKÇİ S., KARGIOĞLU M., DAYAN S., KONUK M. (2008). In vitro propagation of an endangered plant species, *Thermopsis turcica* (Fabaceae). *Institute of Botany, Slovak Academy of Sciences. Biologia* 63/5: 652—657.
- CHANDA S. DAVE R. (2009). In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 3(13) pp. 981-996
- CHOUDHARY R.K., SWARNKAR P.L.(2011). Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of india. *Natural Product Research*. Vol 25, No. 11, 1101-1109.
- CORDEIRO R.M. (2013). Reactive oxygen species at phospholipid bilayers: Distribution, mobility and permeation. *Biochimica et Biophysica Acta*, Pages: 7; 4C: 3, 4, 5, 6.

- ÇAYLAK E.(2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar.,Tıp Araştırmaları Dergisi: 9 (1) : 73-83.
- ÇELİKEZEN F.Ç., ERTEKİN A., (2008). Ratlarda Akciğer Fibrozisinde Lipid Peroksidasyonu (MDA), Antioksidan Madde (Glutasyon, Seruloplazmin) ve Bazı Antioksidan Vitamin (B-Karoten, Retinol) Düzeylerinin İncelenmesi. Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi (2) 17-20.
- ÇETİNKAYA A. (2013). Antioksidanların Reaktif Oksijen Türleri Tüketimiyle Cuprac Antioksidan Kapasitesi Arasındaki İlişki. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- ÇİMEN Ç., ÖTER Ç., DEMİR H., SAVRAN A. (2005). Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet Fak Derg, 16 (1):15-20
- DAVİS P.H., MİLL R.R., TAN, KIT. (1988). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. University of Edinburg Press. Edinburg. 10: 112.
- DAYAN S. (2006). Endemik ve Tehlike Altındaki Thermopsis turcica (Fabaceae)'nın in vitro çimlenmesi ve mikroçogaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- DELİBAŞ N., ÖZCANKAYA R. (1995). Serbest Radikaller. S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi; 2(3): 11-17.
- DEMİRTAŞ Ö. (2007). Keçiboynuzu (Ceratonia siliqua) Çekirdeklerinden Gam Üretim Yollarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- DEMPLE B., HARRİSON L. (1994). Repair of Oxidative Damage to DNA: Enzymology and Biology. Annu. Rev. Biochem. 63:915-48.
- DEVİRİM E. (2005). Yüksek Kolesterolü Diyetin Ratlarda Değişik Organlardaki Oksidan/ Antioksidan Dengesine Etkisi ve Antioksidan Vitaminlerin Olası Rollerinin Araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- DİSİLVESTRO R.A., GOODMAN J., DY E., LAVALLE G. (2005). Soy isoflavone supplementation elevates erythrocyte superoxide dismutase, but not ceruloplasmin in postmenopausal breast cancer survivors. Breast Cancer Research and Treatment 2005; 89:251-255.
- DRABKİN D.L., AUSTİN J.H. (1935). Spectrophotometric Studies: II. Preparations from Washed Blood Cells; Nitric Oxide Hemoglobin and Sulphemoglobin. J. Biol. Chem. 112:51-65.
- DRAPER H.H., HADLEY M.(1990). Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. Methods in Enzymology; 186: Pages 421–431.

- DÜNDAR Y., ASLAN R. (2000). Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları. Afyon.
- EL-SHAZLY A., ATEYA M., WINK M. (2001). Quinolizidine Alkaloid Profiles of *Lupinus Varius Orientalis*, *L. Albus albus*, *L. Hartwegii*, and *L. Densiflorus*. *Z. Naturforsch* 56c, 21-30.
- FİDAN A.F. (2007). Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyete Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu ve Lipid Peroksidasyonu İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- FRIDOVICH I. (1975). Superoxide Radical and Superoxide Dismutase, *Biochem. Soc. Trans.*, 1: 48.
- FRIDOVICH I., (1978). The biology of oxygen radicals, The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity; superoxide dismutases provide an important defense, *Science*, 201, 875–880.
- GRANOT E., KOHEN R. (2004). Oxidative stress in childhood-in health and disease states. *Clin Nutr* 23:3-11.
- GÖKER B., ÖZMEN R. (2009). Sıçanlarda Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.) Yaprağı ile Beslenmenin Akut Karbon Tetraklorür Uygulamasına Bağlı Gelişen Karaciğer Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*. Cilt 23, Sayı 2, 77-80.
- GÖNCÜ E. (2010). İsoproterenol İle Miyokart İnfarktüsü Oluşturulmuş Ratlarda L-Argininin Lipit, Lipoprotein Ve Malondialdehid Düzeylerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- GÜDER, A. (2008). *Urtica Dioica* L. Ve *Malva Neglecta* Wallr. bitkilerinin ve karışımlarının antioksidant aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- GÜMÜŞ A., KARADENİZ Ş., UĞRAŞ H.İ., BULUT M., ÇAKIR Ü., GÖREN A.C. (2010). Synthesis, Complexation, and Biological Activity Studies of 4-Aminomethyl-7,8-dihydroxy Coumarines and Their Crown Ether Derivatives. *J. Heterocyclic Chem.*, 47, 1127.
- GÜNER M., (2011). Endemik Bitkilerimizden Olan *Chronanthus Orientalis* (Lois) Heywood&Frodin (Fabaceae) ile Fitokimyasal Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü.
- GÜNDÜZ C. (2009). “Di- ve Tetrahidroksi- 2H-1-Benzopiron Türevi Makrohalkalı Eterlerin Sentezi, Spektroskopik Karakterizasyonu ve Alkali Katyon Bağlama Özellikleri”, Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.

- HAJİEVA P., BEHL C. (2006). Antioxidants as a potential therapy against age-related neurodegenerative diseases: amyloid Beta toxicity and Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des* 12(6):699-704.
- HALLİWELL B. (1974). Superoxide dismutase, Catalase and Glutathione peroxidase: Solutions to the problems of living with oxygen. *New Phytol* 73, 1075-1086.
- HALLİWELL B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 91:14/22.
- HALLİWELL B., WHİTEMAN M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 142: 231–255.
- HATFIELD G.M, VALDES L.J, KELLER W.J, MERRİLL W.L, JONES V.H. (1979). An investigation of *Sophora secundiflora* seeds (Mescalbeans). *Lloydia*. Jul-Aug;40(4):374-83.
- HU C.C., HSİAO C.H., HUANG S.Y., FU S.H., LAİ C.C., HONG T.M., CHEN H.H., LU F.J.(2004). Antioxidant activity of fermented soybean extract. *J Agric Food Chem*. 52(18):5735-9.
- İBRAHİM W.H., HABİB H.M., CHOW C.K., BRUCKNER G.G. (2008). Isoflavone-rich soy isolate reduces lipid peroxidation in mouse liver. *Int J Vitam Nutr Res*. 78(4-5):217-22.
- İŞİK F.E. (2005). Edirne Bölgesinde Yetişen *Trifolium resupinatum* L. var. *Microcephalum* Bitkisinin Fitokimyasal İncelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- İTOKURA Y., HABERMEHL G., MEBS D., 1988. Tannins Occurring in the Toxic Brazilian Plants. *Herbage Abstract*, Vol: 58 No: 12.
- İNCE S., EKİCİ H., YURDAKÖK B. (2012). Determination of in vitro antioxidant activity of the sainfoin (*Onobrychis Viciifolia*) extracts, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 59, 23-27.
- JURETA W. H. (2003). Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology*, Volume 189, Issues 1–2, Pages 75–88.
- KARA F.B. (2013). Lokal Endemik *Thermopsis turcica* Kıt Tan, Vural & Küçüködük'nin Büyüme Parametreleri, Lipid Peroksidasyonu, Prolin ve Klorofil İçerikleri Üzerine Tuz Stresinin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.

- KARATAŞ M.O. (2011). Hidroksi Kumarin Kuaterner Amonyum Tuzlarının Sentezi ve Karakterizasyonu. Yüksek lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- KAYA S., PİRİNÇCI İ., BİLGİLİ A.(2002). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayınevi: (2.Baskı).ISBN Numarası: 975-7774-50-2.
- KEELLER R. F., BAKER D. C. (1990). Myopathy in cattle induced by alkaloid extracts from *Thermopsis montana*, *Laburnum anagyroides* and a *Lupinus* sp. *J. Comp. Path.* Vol:103 p:169-182.
- KEELLER R. F., JOHNSON A.E., CHASE R.L. (1986). Toxicity of *Thermopsis montana* in cattle. *Cornell Vet.* 76(2): 115-27.
- KESİK V. (2004). Aspirin İle Tedavi Edilen Ratlarda Eritrosit İçi Antioksidan Enzim Seviyelerinin Korunmasında, Hepatik ve Renal Toksisitenin Önlenmesinde Antioksidan Enzim Kofaktörlerinin Etkinliklerinin İnvivo Olarak Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Genel Kurmay Başkanlığı GATA Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı.
- KHAIRUNUUR F.A., ZULKHAIRI A., HAIRUSZAH I., AZRINA A., NURSAKINAH I., FAZALI F., KAMAL M.N.H., ZAMREE M.S., KAMILAH K.A.K. (2010). Hypolipemic and Weight Reducing Properties from *Tamarindus indica* L. Pulp Ekstrakt in Diet- Induced Obese Rats. *International Journal of Pharmacology* 6(3): 216-223. ISSN 1811-7775. Malaysia.
- KILIÇGÜN, H. (2008).Kuşburnu İnfüzyonlarının Antioksidan Potansiyeli. Doktora Tezi, Marmara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- KOCA N., KARADENİZ F. (2005). Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*.
- KORACEVIĆ D., KORACEVIĆ G., DJORDJEVIĆ V., ANDREJEVIĆ S., COSIĆ V.(2001). Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol* ;54:356-361 doi:10.1136/jcp.54.5.356.
- KORCAN S.E., CİĞERCİ İ.H., DİLEK M., KARGIOĞLU M., CENKÇİ S., KONUK M. (2009). Antimicrobial activity of an endemic species, *Thermopsis turcica*, Turkey. *Kuwait J Science & Engineering.* 36(1A):101-112.
- KOYUNCU M., SENER B., ERGUN F. (1993). *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural et Küçüködük'nin Alkaloitleri Üzerinde Arastirmalar. VIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı. İstanbul. Bildiriler Cilt 2, S 225.
- KRİSHNA P.M., KNV R., SANDHYA S., BANJÍ D. (2012). A review on phytochemical, ethnomedical and pharmacological studies on genus *Sophora*, Fabaceae. *Rev. bras. farmacogn.* vol.22 no.5.

- KÖKSAL C., KONUKOĞLU D., ERCAN M., ARSLAN C., KAZIMOĞLU K., BOZKURT K. (1999). Periferik Arter Hastalarında Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Kapasite. *Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi*; 7: 244-246.
- KURT N., (2008). Yaşa Bağlı Olarak Antioksidan Enzimlerinin Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) Aktivitelerinin ve Malondialdehit (MDA) Seviyesinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- KÜÇÜKKURT İ. (2007). Diyete Farklı Miktarlarda *Yucca schidigera* Tozu Katılmasının Sıçanlarda Plazma Leptin, İnsülin ve Troid Hormonları İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- LİMAN R., EREN Y., AKYIL D., KONUK M. (2012). Determination of mutagenic potencies of aqueous extracts of *Thermopsis turcica* by Ames test. *Tr J Biol*, doi:10.3906/biy-1011-158, 36(1).
- LİU J., CHANG S.K., WIESENBERN D. (2005). Antioxidant properties of soybean isoflavone extract and tofu in vitro and in vivo. *J Agric Food Chem*. 53(6):2333-40.
- LOBO V., PATİL A., CHANDRA N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*; 4(8): 118-126.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., RANDALL R.J. (1951). Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem*. 193; 265-272.
- LUCK, H. (1955). Catalase. In: H.U. Bergmeyer (Eds.), *Methods in Analysis*, Academy Press, London.
- McCORD J.M. (2000). The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. *Am J. Med*. 108: 652-659.
- McGRATH-HİLL C.A, VİCAS I.M. (1997). Case series of *Thermopsis* exposures. *J Toxicol Clin Toxicol*. 35(6):659-65.
- MEİSTER A. (1994). Glutathione, Ascorbate and Cellular Protection. *Cancer Res.*, s.1: 1969-1975.
- NAKAZAWA H., GENKA C., FUJİSHİMA M. (1996). Pathological Aspect of Active Oxygens / Free Radicals. *J of Phsiology*, s.46: 15-32.
- NAPHADE S.S., KHADABADİ S.S., DEORE S.L., JAGTAP N.S., HADKE S.P. (2009). Antioxidant Activity of Different Extracts of Plant *Tricholepis Glaberrima* dc (Asteraceae). *International Journal of Pharm Tech Research*. Vol.1, No.3, pp 502-505.
- NİZAMLIOĞLU N.M., NAS S.(2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi Cilt:5, No: 1, (20-35)*.

- NORLAİLY M.A., HAMİDAH M.Y., KAMARİAH L., SWEE K.Y., WAN Y.H., BOON K.B., SOO P.K., MOHD P.A., NOORJAHAN B.A. (2013). Antioxidant and Hepatoprotective Effect of Aqueous Extract of Germinated and Fermented Mung Bean on Ethanol-Mediated Liver Damage. *BioMed Research*, Article ID 693613, 9. Malaysia.
- OECD. (2001). Guidelines for the Testing of Chemicals-425. [www.oecd.org/dataoecd, (02. 04. 2013)].
- OHMIYA S., OTOMASU H., MURAKOSH I., HAGİNIWA J. (1974). N-Formylcytisine: A new alkaloid from *Thermopsis chinensis*. *Phytochemistry* Vol: 13, pp:643- 644.
- OKHAWA H., ONİSHİ N., YAGİ K. (1979) *Anal. Biochem.*, 95, 351.
- ÖZDEN T.A., ÖMER B., SANER G., SANER H., MÜSLÜMANOĞLU M., TUZLALI S. (2004). Meme Kanserinde MDA, Zn ve GSH Düzeyleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*; 2(2): 59-64.
- PATTANAYAK P., BEHERA P., DAS D., PANDA S.K. (2010). *Ocimum sanctum* Linn. A reservoir plant for therapeutic applications: An overview. *Pharmacogn Rev. Jan-Jun*; 4(7): 95–105.
- PIGEOLET E., CORBİSTER P., HOUBION A., LAMBERT D., MICHIELS C., RAES M., ZACHARY M.D., REMACLE J. (1990) Glutathione Peroxidase, Superoxide Dismutase, and Catalase Inactivation by Peroxides and Oxygen Derived Free Radicals, Mechanism of Ageing and Development. 51, 283-297.
- PUGAZHENTHİ S., PHANSALKAR K., AUDESİRK G., WEST A., CABELL L. (2006). Differential regulation of c-jun and CREB by acrolein and 4-hydroxynonenal. *Free Radic Biol Med* 40(1):21-34.
- RAJA S., AHAMED H.N., KUMAR V., MUKHERJE K., BANDYOPADHYAY A., MUKHERJE P.K. (2007). Exploring the Effect of *Cytisus Scoparius* on Markers of Oxidative Stress in Rats. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*. Vol. 6:15-21.
- RAJARAM K., MOUSHMİ M., VELAYUTHAM M.D.P., KUMPATİ P., GANASARASWATHİ M., SURESHKUMAR P. (2013). Comparative Bioactive Studies Between Wild Plant and Callus Culture of *Tephrosia tinctoria* Pers. *Appl Biochem Biotechnol* DOI 10.1007/s12010-013-0444-3.
- RAJESHWAR Y., GUPTA M., MAZUMDER U.K. (2005). Antitumor Activity and in vivo Antioxidant Status of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) Seeds against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*. 4:46-53, 1735-2657/05/41-46-53.
- SCHEİBMEİR H.D., CHRİSTENSEN K., WHİTAKER S. H., JEGAETHESAN J., CLANCY R., PİERCE J. D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive Crit Care Nurs* 21: 24-28.

- SEVEN İ. (2008). Oksidatif Strese Maruz Etçi Piliçlerde Antioksidan Etkili Vitamin C ve Propolis Katkıları Yemlerin Performans, Sindirilebilirlik, Karkas Özellikleri, Kan Parametreleri, Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzim Düzeyleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- SİNAN, B. (2002). *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük (Fabaceae)'nın Morfolojisi, Anatomisi ve Ekolojisi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- SPOERKE D.G., MURPHY M.M., WRUK K.M., RUMACK B.H. (1988). Five cases of *Thermopsis* poisoning. *J. Toxicol.* 26 (5-6): 397-406.
- SUN Y., OBERLEY L.W., LI Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 34, 497-500.
- ŞERBETÇİ H. (2007). *Meyan (Glycyrrhiza glabra L.)* Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- TARKO T, DUDA-CHODAK A, ZAJAC N.(2013) Digestion and absorption of phenolic compounds assessed by in vitro simulation methods. A review. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 64(2):79-84.
- TEZCAN S.(2008). *Thermopsis turcica* (Fabaceae) Kit Tan, Vural & Küçüköyük Üzerinde Anatmik, Morfolojik ve Karyolojik Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- TOSUN A., TANKER M., ÖZDEN T., TOSUN F. (1989). Kinolizidin Alkaloidleri Kimyasal Yapıları ve Biyolojik Aktiviteleri. *Pharmacia- JTPA* 29: 63 (1,2,3), 46-58.
- TÜR L.(2008). Karbon Tetraklorür İle Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda *Matricaria Chamomilla L.* Nin Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- TÜREL H. (2007). Tavşanlarda Akut Parasetamol Uygulamasının Karacigerdeki CuZn-SOD, GSHPx ve Katalaz Enzimlerinin mRNA Seviyelerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- UZAR E. (2006). Metotreksat Uygulanan Ratların Siyatik Sinir ve Medulla Spinalisinde Oksidan / Antioksidanların Durumu: Kafeik Asit Fenetil Ester'in Antioksidan Koruyucu Etkisi. Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi. Nöroloji Anabilim Dalı.
- VALKO M, LEİBFRITZ D, MONCOL J, CRONİN M.T, MAZUR M, TELSER J.(2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39(1):44-84.

- VINAY R. PATEL., PRAKASH R., PATEL., SUSHİL S. KAJAL. (2010). Antioxidant Activity of Some Selected Medicinal Plants in Western Region of India. *Advances in Biological Research* 4 (1): 23-26.
- WINK M, WITTE L, HARTMANN T, THEURING C, VOLZ V. (1983). Accumulation of quinolizidine alkaloids in plants and cell suspension cultures: genera lupinus, cytissus, baptisia, genista, laburnum, and sophora. *Planta Med.* Aug; 48(8):253-7.
- WISEMAN H., O'REILLY J. D. O., ADLERCREUTZ H., MALLET A. I., BOWEY E. A., ROWLAND I. R., SANDERS T. A. B. (2000). Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F2-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *American Journal of Clinical Nutrition.* 72:395-400.
- WITTERBOURN C.C, HAWKINS R.E, BRAIN M, CARREL W. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 1975; 55:337-41.
- WOLUCKA B.A., MONTAGU M. V. (2003). Enzyme Catalysis and Regulation: GDP-Mannose 3',5'-Epimerase Forms, GDP-L-gulose, a Putative Intermediate for the de Novo Biosynthesis of Vitamin C in Plants. *J. Biol. Chem.* 278:47483-47490.
- YALÇIN A. (1993). Fare Karaciğerinde Çeşitli Etkenler İle Oluşturulan Doku Hasarlarında GSH, GST ve Selenyum Tayinleri. Doktora Tezi. E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- YÁNEZ RMB, M., MATEOS M.R.G, HERNÁNDEZ M.R.S., LEÓN T.C., KÍTE G. (2011). Flavonoids and antioxidant activity of *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Rev. fitotec. Mex.* vol.34. no.3.
- YARŞAN E. (2013). Süte geçebilen zehirli maddeler. [<http://www.enderyarsan.net/SutZehir.php> (22.12.2013)].
- YAŞAR F., ELLİALTIOĞLU Ş., ÖZPAY T., UZAL Ö. (2008). Tuz Stresinin Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) Antioksidatif Enzim (SOD, CAT, APX ve GR) Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*,18(1): 61-65
- YAVAŞER R. (2011). Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- YILMAZ Y.(2006). Antioksidan Enzim Aktivitelerinin (CAT ve GSH-Px) Koroner Anjioplasti Sırasında ve Sonrasındaki Değişimi ve Bu Enzim Aktivitelerine Anjioplast sırasında Verilen Nazal Oksijenin Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.

ZHANG J., KIRKHAM, M.B. (1996). Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate, *J. Plant Physiol.* 149, 489-493.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Afyon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Afyon Sultandağı ilçesi Yeşilçiftlik kasabasında, lise öğrenimini Afyon'da tamamladıktan sonra 1997 yılında başladığı A.K.Ü. Sağlık Yüksekokulundan 2001 yılında mezun oldu. 2002 yılında A.K.Ü Araştırma ve Uygulama Hastanesinde Hemşire Araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2005 yılında Afyon Sağlık Yüksekokuluna geçti ve halen bu görevini sürdürmektedir. Evli ve bir çocuk annesidir.