

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MALATİYON VERİLEN FARELERDE OKSİDASYON PARAMETRELERİ  
ÜZERİNE *ALLIUM CZELGHAURICUM* (LİLİACEAE), *LATHYRUS*  
*KARSIANUS* (FABACEAE) VE *ONOSMA NİGRİCAULE*  
(BORAGİNACEAE)'DEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ETKİLERİ

Uzm. Biyolog Dinçer ERDAĞ  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Abdullah DOĞAN

2012-KARS

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MALATİYON VERİLEN FARELERDE OKSİDASYON PARAMETRELERİ  
ÜZERİNE *ALLIUM CZELGHAURICUM* (LİLİACEAE), *LATHYRUS*  
*KARSIANUS* (FABACEAE) VE *ONOSMA NİGRİCAULE*  
(BORAGİNACEAE)'DEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ETKİLERİ

Uzm. Biyolog Dinçer ERDAĞ  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Abdullah DOĞAN

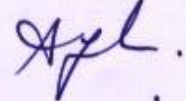
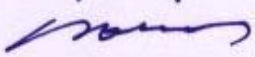
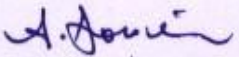
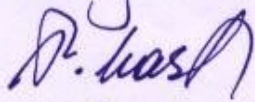

Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından  
desteklenmiştir. Proje No: 2011-VF-30

2012-KARS

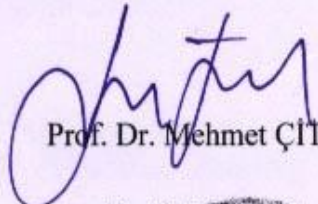
T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Dinçer ERDAĞ'ın Doktora tezi olarak hazırladığı "**Malatyon Verilen Farelerde Oksidasyon Parametreleri Üzerine *Allium czelghauricum* (Liliaceae), *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Onosma nigricaula* (Boraginaceae)'den Elde Edilen Ekstraktların Etkileri**" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy...*birliği*.....ile kabul edilmiştir.

24/05/2012

Adı Soyadı	İmza
Başkan : Prof.Dr.Ayhan FİLAZİ	
Üye : Prof.Dr.Salih OTLU	
Üye : Prof.Dr.Abdullah DOĞAN	
Üye :Doç.Dr.Asım KART	
Üye :Yrd.Doç.Dr.Murat BAYEZİT	

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun **29./05/2012** tarih ve **21...../...137..** sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL

Enstitü Müdürü



**İÇİNDEKİLER**

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>I</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>III</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>V</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	<b>VI</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>VII</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b>	<b>VIII</b>
<b>ÖNSÖZ</b>	<b>IX</b>
<b>1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER</b>	<b>1</b>
1.1. Giriş	1
1.2. Genel Bilgiler	5
<b>2. MATERYAL ve METOT</b>	<b>27</b>
2.1. Materyal	27
2.1.1. Bitki Materyali	27
2.1.2. Hayvanlar	27
2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
2.1.4. Kullanılan Alet ve Gereçler	28
2.1.5. Kullanılan Tampon Çözeltiler	29
2.1.5.1. 0,1 M PBS Tamponu (pH 7,4)	29
2.1.6. Bitki Özütlelerinin Hazırlanması	29
2.1.7. Deney Gruplarının Oluşturulması	30
2.2. Metot	32
2.2.1. Toplam Polifenolik Madde Tayini	32
2.2.1.1. Numune ve standart hazırlanması	32
2.2.1.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler	32



2.2.1.3. Ölçme	32
2.2.2. Nitrik Oksit (NO) Radikal Süpürücü Aktivite	33
2.2.2.1. Numune ve standart hazırlanması	33
2.2.2.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler	34
2.2.3. Total Antioksidan ve Oksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi	35
2.2.3.1. Total Antioksidan Kapasitelerinin (TAK) Belirlenmesi	35
2.2.3.2. Total Oksidan Kapasitelerinin (TOK) Belirlenmesi	36
2.2.4. Canlı Ağırlık Ölçümü	37
2.2.5. Karaciğer Ağırlık Ölçümü	38
2.2.6. Histopatolojik İncelemeler	38
2.2.7. İstatistik Hesaplamalar	38
<b>3. BULGULAR</b>	<b>39</b>
3.1. Toplam Polifenolik Madde	39
3.2. NO Radikal Süpürücü Aktivite	40
3.3. Plazma Total Antioksidan Kapasiteleri	41
3.4. Plazma Total Oksidan Kapasiteleri	42
3.5. Karaciğer Total Antioksidan Kapasiteleri	44
3.6. Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri	45
3.7. Canlı Ağırlık Ölçümü	47
3.8. Karaciğer Ağırlık Ölçümü	48
3.9. Histopatolojik Bulgular	50
<b>4. TARTIŞMA ve SONUÇ</b>	<b>53</b>
<b>5. ÖZET</b>	<b>67</b>
<b>6. SUMMARY</b>	<b>69</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>71</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>83</b>

**SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ**

<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Singlet (tekil) Oksijeni
<b>ABTS</b>	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzthiazolin-6 sülfonik asit
<b>AchE</b>	: Asetilkolinesteraz
<b>ALP</b>	: Alkalın Fosfataz
<b>ALT</b>	: Alanin Aminotransferaz
<b>AST</b>	: Aspartat Aminotransferaz
<b>CAPE</b>	: Kafeik Asit Fenil Ester
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>DMTP</b>	: Dimetiltiyofosfat
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>DPPH</b>	: 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil
<b>EA</b>	: Elajik Asit
<b>EAC</b>	: Ehrlich Ascites Carcinoma
<b>GPx</b>	: Glutatyon Peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutatyon Redüktaz
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutatyon Peroksidaz
<b>GST</b>	: Glutatyon-S-Transferaz
<b>HCl</b>	: Hidroklorik Asit
<b>LDH</b>	: Laktat Dehidrogenaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MİK</b>	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
<b>MPO</b>	: Miyeloperoksidaz
<b>MSS</b>	: Merkezi Sinir Sistemi
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroksit
<b>NO·</b>	: Nitrik Oksit
<b>NO<sub>2</sub></b>	: Nitrit
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Anyonu
<b>ODAP</b>	: Oksalil Diamino Propiyonik Asit
<b>OF</b>	: Organik Fosfor

<b>OH·</b>	: Hidroksil Radikali
<b>OK</b>	: Organik Klor
<b>PBS</b>	: Fosfat Tampon Solüsyonu
<b>PSS</b>	: Perifer Sinir Sistemi
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>SH</b>	: Sülfidril
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>TAK</b>	: Total Antioksidan Kapasite
<b>TBARs</b>	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Yapılar
<b>tGSH</b>	: Total Glutasyon
<b>TOK</b>	: Total Oksidan Kapasite
<b>VLDL</b>	: Very-Low-Density Lipoprotein

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Şekil 1.1:</b> Malatyon'un kimyasal yapısı	10
<b>Şekil 1.2:</b> Malaoksan'ın kimyasal yapısı	11

**RESİMLER DİZİNİ**

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Resim 1.1:</b> <i>Onosma nigricaule</i> 'nin genel görünüşü	18
<b>Resim 1.2:</b> <i>Lathyrus karsianus</i> 'un genel görünüşü	22
<b>Resim 1.3:</b> <i>Allium czelghauricum</i> 'un genel görünüşü	26
<b>Resim 3.1:</b> Vena Centralis Etrafinda Nispeten Normal Hepatositler. (H.E. x40)	50
<b>Resim 3.2:</b> Vena Centralisler Etrafindaki Hepatositlerde Vakuoler Dejenerasyon ve Karaciğer Parankiminde Rejenere Olan Çok Çekirdekli Hepatosit (ok). (H.E. x20)	51
<b>Resim 3.3:</b> Hepatositlerde Hafif Anizositozis ve Anizokaryozis (oklar). (H.E. x40)	52

**TABLolar DİZİNİ**

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1:</b> Toplam Polifenolik Madde analizi	33
<b>Tablo 2.2:</b> NO radikal süpürücü aktivite analizi	34
<b>Tablo 2.3:</b> Total Antioksidan Kapasite (TAK) aktivite analizi	36
<b>Tablo 2.4:</b> Total Oksidan Kapasite (TOK) aktivite analizi	37
<b>Tablo 3.1:</b> Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Gözlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L.)	41
<b>Tablo 3.2:</b> Plazma Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L.)	43
<b>Tablo 3.3:</b> Karaciğer Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L.)	44
<b>Tablo 3.4:</b> Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L.)	46
<b>Tablo 3.5:</b> Canlı Ağırlık Ölçümü (g)	47
<b>Tablo 3.6:</b> Karaciğer Ağırlık Ölçümü (g)	49

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Grafik 3.1:</b> Pirokatekol standart grafiği	40
<b>Grafik 3.2:</b> <i>Allium czelghauricum</i> , <i>Lathyrus karsianus</i> , <i>Onosma nigricauale</i> ve Rutin'in NO radikal süpürücü aktivitelерinin karşılaştırılması	40
<b>Grafik 3.3:</b> Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L)	42
<b>Grafik 3.4:</b> Plazma Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L)	43
<b>Grafik 3.5:</b> Karaciğer Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L)	45
<b>Grafik 3.6:</b> Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equv./L)	46
<b>Grafik 3.7:</b> Canlı Ağırlık lm (g)	48
<b>Grafik 3.8:</b> Karaciğer Ağırlık lm (g)	49



## ÖNSÖZ

Dünya nüfusunun hızla artması beraberinde beslenme sorununu getirmektedir. Tarımsal üretimi artırmak için günümüzde çeşitli uygulamalara başvurulmaktadır. Bu uygulamalar arasında sulama, gübreleme, genetiği iyileştirme çalışmaları sayılabilir. Özellikle son yıllarda genetiği değiştirilmiş ürünlerin ekim alanlarının giderek genişlediği görülmektedir. Ürün artırma çalışmalarına ilaveten ürünlerin dayanma sürelerinin uzatılması konusu da ilgi çekmektedir. Bu anlamda pestisitler önem taşımaktadır. Pestisitler zararlı etkenlerce ürünlerin bozunmasını önlemektedir. Yıkımlanmanın ve ürün kaybının önlenmesi beraberinde dolaylı yoldan da olsa bir verim artışına neden olmaktadır.

Tarım alanlarında Pestisit uygulamalarına yaygın rastlanılmaktadır. Bu uygulamalar eğer gereken kurallar çerçevesinde yapılmazsa, canlı ve cansız çevre üzerinde istenmeyen etkilere neden olmaktadır. Yanlış yapılan yaygın uygulamalar çevrenin kirlenmesi sorununu doğurmaktadır. Pestisitlerle hayvan ve insan gıdalarının giderek kirlendiği görülmektedir. Bu kirlilikler canlılara yansyarak akut ve kronik zehirlenmelerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Yanlış yapılan yüksek doz uygulamaları akut zehirlenmelere neden olurken, düşük dozda uzun süre alınan pestisit kalıntıları kronik zehirlenmeleri ortaya çıkarmaktadır.

Günümüzde çok sayıda pestisit grubu bulunmaktadır. Bunların farmakodinamik ve farmakokinetikleri hakkında önemli sayılabilecek derecede bilgi mevcuttur. Çoğunun etki mekanizmalarının büyük bir kısmı açıklanmış olmakla beraber, açıklanamayan hususlar da vardır. Son yıllarda kimyasal maddelerin etkilerinin açıklanmasında serbest radikal üretimi de kullanılmaktadır. Bazı maddelerin ya doğrudan ya da dolaylı yollardan vücutta serbest radikal oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olan bu serbest radikal oluşumunun azaltılması sağlık açısından büyük önem arz etmektedir. Bu amaçla çeşitli ilaçlar ve kimyasal maddelerden faydalanılabilmektedir. Bu kimyasal maddelerin bir kısmının bitkisel kaynakları belirlenmiştir. Bu çalışmada Kars yöresinde yetişen bazı bitkilerin antioksidan etkilerinin olup, olmadığı çalışılmıştır.

Çalışmada *Allium czelghauricum* (Liliaceae), *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Onosma nigricaula* (Boraginaceae) bitki türlerinden elde edilen metanol özütlerinin Malatyon verilen farelerde oksidasyon parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçların tıbbi bitki tarımına ve sağlığa (ilaç üretim çalışmalarına) hizmet edebileceği düşünülmektedir.

Tez çalışmam boyunca bana her türlü desteği sağlayan, çalışmamın her aşamasında yakın ilgisini esirgemeyen, bilgi ve önerileri ile beni her konuda yönlendiren danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Abdullah DOĞAN'a, çalışmalarım esnasında ve tezin hazırlanması sürecinde yine katkılarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Salih OTLU'ya, Sayın Doç. Dr. Dinç EŞSİZ'e, Sayın Doç. Dr. Mahmut SÖZMEN'e, Sayın Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya, Sayın Doç. Dr. Onur ATAKİŞİ'ye, Sayın Doç. Dr. Muammer TİLKİ'ye, Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat BAYEZİT'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Oğuz MERHAN'a ve Sayın Arş. Gör. Pınar AKSU'ya, ayrıca bitki örneklerinin teşhisinde ve bitki hakkında bilgilerini esirgemeyen Sayın Biyolog Mehmet Nuri YILMAZ ile Sayın Kimyager Muhsin ŞENER'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca her zaman desteğini ve yardımlarını aldığım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# 1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

## 1.1. Giriş

Tarımsal mücadele, bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların olumsuz etkilerinden korunması ve elde edilen ürünlerin miktar ve kalite bakımından daha yüksek ve ekonomik olması amacıyla yapılmaktadır. Bu amaca ulaşabilmek için, tarımsal mücadelenin entegre savaş (entegre zararlı yönetimi) yöntemlerine uygun olarak yapılması gerekmektedir. Entegre zararlı yöntemi, tarımsal mücadelede insan ve çevre sağlığına olumsuz etkileri en az olan yöntemlerin uygulanmasına yönelik çeşitli çalışmaları kapsamaktadır (26).

Dünya nüfusunun hızla artmasına bağlı olarak gıda maddesine olan ihtiyaç da her geçen gün artmaktadır. Artan gıda ihtiyacının karşılanabilmesi için tarım alanlarından elde edilen verimin daha yüksek olması ve elde edilen ürünlerin iyi bir şekilde korunması gerekmektedir. Bu da ürünlerin hastalık ve zararlılardan yeterince korunmasıyla mümkün olmaktadır. Bu amaç için özellikle gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada “pestisit” adı verilen kimyasal tarım ilaçlarının yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir (94).

Pestisitler, besin maddelerinde bulduklarında fiziksel ve kimyasal olarak bozulmaya ve bunun sonucu besin maddelerinin değerinin azalmasına neden olan “pest” adı verilen organizmalara karşı kullanılan ilaçlar olarak tanımlanmaktadır. Pestisitler, pestleri öldürerek tarım ürünlerinin bozulmasını engelleyerek, ürünlerin dayanma sürelerini uzatırlar. Bu durum pestisit kullanımının temel amacını oluşturmaktadır. Pestisitlerin yaygın kullanılmalarının ana nedenleri arasında dünya nüfusundaki hızlı artış ve tarım alanlarından ekonomik olarak daha fazla kar elde etme isteği bulunmaktadır (29). Bu açıdan yaklaşıldığında pestisitler ekonomik yönden önemli ilaçlardır. Tarım ürünlerinin bozunma ve kaybını önleyerek yetiştiriciye ekonomik anlamda bir kar sağlar. Bu nedenle pestisitler aynı zamanda ekonomik zehirler grubuna alınmış ve ekonomik toksikoloji içerisinde de

incelenmektedir. Pestisitler kullanım alanlarına göre; insektisitler, herbisitler, fungusitler, molusisitler, rodentisitler ve akarazitler vb olmak üzere değişik şekillerde isimlendirilmektedirler.

Pestisitler yalnızca tarımsal üretimde artış ve korumaya neden olmazlar. Aynı zamanda pestlerle taşınan hastalıkların oranında düşürürler. Çok sayıda hastalık pestisit uygulamaları ile kontrol altına alınabilmektedir. Bu bakımdan hem halk sağlığının hem de besinlerin korunmasına hizmet ederler. Ancak, yanlış doz ve uygulama süresi ile çeşitli alanlarda kullanılmaları çevre sağlığı açısından büyük bir değavantaj oluşturmaktadır. Uygulanmaları esnasında gereken özen gösterilmediği takdirde su, toprak, hava ve besin kirlenmesine yol açarak, ekolojinin bozulmasına neden olmaktadır. Bu anlamda özellikle çevredeki kalıntıları dikkat çekmektedir. Her pestisitinin çevredeki parçalanma yarı ömrü değişik süreleri kapsamaktadır. Hatta buldukları ortamın bile bu süreler üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Diğer bir değişle, bir maddenin toprak ve sudaki parçalanma yarı ömrü ciddi oranda değişiklik arz etmektedir.

Pestisitlerin bazıları selektif olarak kullanıldıkları canlı türünde toksik etki göstermektedirler. Bu, çevrenin korunması açısından istenen bir özelliktir. Ancak, çoğu madde de selektivite düşüktür. Bu nedenle uygulandıkları canlının yanı sıra insan ve diğer memeli hayvanlarda da akut ve kronik tipte zehirlenmeler meydana getirmektedirler (90). Burada kullanılan maddenin çevre şartlarına olan dayanıklılığı, çözünürlüğü gibi faktörler, belirleyici bir rol oynamaktadır. Özellikle bazı pestisit türlerine uzun süreli maruz kalınması durumunda insan ve hayvanlarda mutajenik, karsinogenik ve teratojenik etkiler meydana gelebilmektedir. Ayrıca, pestisitler lipit peroksidasyonu, kas ve sinirlerde soysuzlaşma, çeşitli doku ve organlarda hasar ve bozukluklara neden olabilmektedirler (44).

Organik fosforlu insektisitler (paratyon, malatyon), organo-halojenli pestisitler (karbontetraklorür) ve herbisitler (paraquat) gibi bazı pestisit türleri çeşitli mekanizmalarla hücresel membranlarda lipit peroksidasyonunu tetiklemektedir. Bu pestisit türlerinin metabolize edilmesi sonucu doğrudan serbest radikal türleri veya

reaktif oksijen türleri ortaya çıkmaktadır. Bu radikaller hücrelerde ciddi hasarların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bazı pestisitler etkilerini antioksidanları parçalayarak da göstermektedirler. Ayrıca, enzimleri inhibe edebilmekte ya da parçalayabilmektedirler (91).

Serbest radikaller; biyokimyasal redoks tepkimeleri sonucu ortaya çıkan, dış yörüngelerinde çok az bir süre için bile olsa çiftlenmemiş bir elektron bulunduran atom ya da moleküller olarak adlandırılmakta ve süperoksit anyon radikali ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ), singlet (tekil) oksijeni ( $^1O_2$ ) ve nitrik oksit ( $NO^\cdot$ ) gibi radikal türlerini kapsamaktadır. Bu radikaller çok reaktif olup, hücre yapılarıyla kolay bir şekilde reaksiyona girmektedirler. Öncelikle vücut savunma sistemleri ile ortadan kaldırılırlar. Eğer bu reaktif oksijen türleri, antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmazsa, lipit peroksidasyonuna bağlı olarak hücrelerde yapısal hasarlar ortaya çıkabilir. Antioksidan savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler ile glutatyon (GSH), vitamin A, C ve E gibi enzim olmayan antioksidanları kapsamaktadır (47).

Bitkilerin tedavi edici özellikleri, çok eski zamanlardan beri bilinmekte ve günümüzde halen bazı yörelerde tedavide yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Örneğin; faydası olduğu bilinen bazı bitki türleri ilk çağlarda yaraların tedavi edilmesinde kullanılmıştır (21). Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiyede de tıbbi öneme sahip bitkiler yüzyıllardan beri Anadolu halkı tarafından hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (36). Bitkiler üzerine yapılan birçok araştırmada bazı bitki türlerinin yüksek oranda önemli hastalıkları önlediği rapor edilmiştir. Bunlar arasında kanser ve kardiovasküler hastalıklar da bulunmaktadır. Hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin yüksek seviyede antioksidan özellik gösteren polifenoller, vitaminler vb gibi çok sayıda kimyasal bileşenleri bol miktarda içerdikleri saptanmıştır (11).

*Onosma nigricaula* Boraginaceae familyasına ait bir bitki türüdür. Bu familya yaklaşık 154 cins ve 2500 tür bitki içermektedir. Daha çok tropik ve ılıman

bölgelerde yetişen bitki türleridirler (86). *Onosma nigricaula* Türkiye için endemik bir türdür ve bu bitki türünün kökleri Doğu Anadolu Bölgesinde yara ve yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır (58).

*Lathyrus karsianus* Fabaceae familyasında yer alan bir bitki türüdür ve dünya üzerinde 200'den fazla *Lathyrus* cinsine ait bitki türü bulunmaktadır (34). Bu familya'ya ait bitki türleri başlıca insan ve hayvanlar tarafından gıda maddesi olarak tüketilmekte, ayrıca bazı türleri süs bitkisi ve ilaç sanayiinde kullanılmaktadır (71).

*Allium czelghauricum* Liliaceae familyasında yer alan ve Türkiye için endemik olan bir bitki türüdür. Familyanın birçok türü süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Yine bu aileye ait bazı türler gıda maddesi olarak tüketilmektedir (71). *Allium* cinsi Liliaceae familyasının en fazla ve en çok bilinen türüne sahiptir. *Allium cepa* (soğan), *A. sativum* (sarımsak) ve *A. porrum* (pırasa) en fazla bilinen ve gıda olarak tüketilen *Allium* cinsine ait türlerdir. Bu türlerinin insan sağlığı açısından faydaları bilinmektedir (79). Ancak yüksek dozda tüketilen soğan ve sarımsak zehirlenmelere neden olabilir.

Bu araştırmada, Farelerde (*Mus musculus*) *in vivo* olarak Malatyon'un neden olduğu oksidasyon parametreleri üzerine *Onosma nigricaula* (Boraginaceae), *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Allium czelghauricum* (Liliaceae) endemik bitki türlerinden elde edilen metanolik bitkisel özütlerin antioksidan etkilerinin olup, olmadığını ortaya konması amaçlanmıştır.

## 1.2. Genel Bilgiler

Biyositler canlı organizmaları öldüren maddeler olarak adlandırılmaktadır. Biyositler bakteri, mantar, alg, nematot, böcek, rat gibi canlılara karşı kullanılmaktadırlar. Biyositler geniş bir kavram olup, pestisitleri de kapsamaktadırlar. Biyositler, tarım alanlarında kullanılmayan maddelerin adlandırılmasında kullanılan bir kavramdır. Bu nedenle tarımda kullanılmayan pestisitler olarak da tanımlanmaktadırlar. Ancak, bir madde hem biyosit hem de pestisit olarak kullanılabilir. Pest terimi, tarım ürünlerinde fiziksel ve kimyasal bozunmaya neden olan canlılar için kullanılan bir kavramdır. Pestlerle mücadelede tarım alanlarında kullanılan biyositlere pestisitler denilmektedir (29).

Pestler besin maddelerini yalnızca bozmakla kalmaz, aynı zamanda besinlere hastalık etkenlerini de taşırlar. Pestler tarım ürünlerine tarlada, taşınma, üretim, işleme, depolama ve tüketim safhasının birinde ya da bir kaçında bulaşabilir. Bu safhaların hepsi üretimden, tüketime ya da tarladan sofraya gıda zinciri olarak değerlendirilir. Pestler bu safhalarda tarım ürünlerini bozarak değerini azaltırlar. Pestisitler, besin maddelerinin fiziksel ve kimyasal olarak bozulmasına ya da değerlerinin azalmasına neden olan bu tür zararlılara (pest) karşı yaygın olarak kullanılan ilaçlardır (29).

Dünya nüfusunun hızla artmasına bağlı olarak gıda maddelerine olan ihtiyaç her geçen gün hızla artmaktadır. Bu ihtiyacın karşılanabilmesi için birim alandan elde edilen verimin daha yüksek olması ve ürünlerin korunması büyük önem arz etmektedir. Tarım ürünlerinden arzu edilen miktar ve kalitede ürün alınabilmesi, bu ürünlerin hastalık ve zararlılardan yeterince korunmasıyla mümkün olmaktadır. Bu nedenle tüm dünyada özellikle gelişmiş ülkelerde pestisitler (tarım ilaçları) yaygın olarak kullanılmaktadır (94).

Günümüzde pestisitler bitki sağlığının korunması yanında insan ve hayvan sağlığının korunması amacıyla da yaygın şekilde kullanılmaktadır. Pestlerin gıda maddelerinden uzaklaştırılması, hastalık etkenlerinin gıdalara bulaşmasını önler. Bu



nedenle pestisitlerin çevre sağlığı üzerine olumlu etkileri vardır. Ancak, pestisitler zararsız bileşikler değildir. Ciddi toksik etkileri olan bileşiklerdir. Yanlış kullanıldıklarında yararlı etkilerine ilaveten zararlı etkilere de neden olurlar. Özellikle insan ve hayvanlarda akut ve kronik tipte zehirlenmeler oluşturabilirler. Mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sebep olurlar. Ayrıca geniş boyutlu çevre ve besin kirlenmesine de yol açabilirler (44).

Pestisitler, besin maddelerinin üretimi, hazırlanması, depolanması ve tüketimi sırasında onların besin değerini bozan veya hasara uğratan haşereleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları (pestleri) yok etmek için kullanılmaktadırlar (28). Bütün dünyada yaygın bir şekilde tarım alanlarında zararlılarla mücadelede kullanılırlar. Bu nedenle pestisitler, insanların bugün en çok kullandığı ve dolayısıyla besinlerde sıkça karşılaştığı maddelerdendir. Doğrudan çevreye, tarım alanlarına, bitki örtüsü ve hayvan barınakları ile insan ve hayvanların vücuduna uygulanmaktadırlar. Uygulama alanlarının geniş olması ve yaygın kullanılmaları özellikle insan ve hayvanlar için çok sayıda etkilenme kaynağı oluşturur. Bu tür uygulamalarla çevreye, su ve bitki örtüsü ile besinlere yansıyan pestisit kalıntıları, buldukları ortamda kısa veya uzun süre kalarak önemli bir çevre kirliliğine ve hayvanlarda zehirlenme tehlikesine yol açarlar. Pestisitlerin uzun süreli kullanılması ve bazılarının kalıcı ya da parçalanmaya dayanıklı olması, biyosfere girdikleri andan itibaren besin zincirine girmesine yol açar. Cansız çevreden canlılara yansır. Besin zinciriyle en üst noktada bulunan insanlara kadar ulaşırlar. Yanlış kullanımı sonucu çevre, hayvan ve insanların vücudundaki miktarları giderek artar. Hava, su ve besinlerle birlikte hayvanlar tarafından alınırlar. Vücuda solunum, sindirim ve deri yoluyla giren pestisitler, insan ve hayvanlarda ölüme kadar gidebilen zehirlenmelere yol açabilirler. Canlı vücudunda zor metabolize edilen ya da yıkımlanan pestisitler ile vücutta birikme eğilimi gösterenler kronik tipte zehirlenmelere; canlı vücudunda kolay yıkımlanan ve vücuttan çabuk atılanlar ise akut tipte zehirlenmelere neden olurlar (45). Ancak kolay ve kısa sürede yıkımlanan pestisitlerin sürekli alınması da kronik zehirlenme meydana getirebilir. Özellikle bazı pestisit türlerine uzun süreli maruz kalınması durumunda insan ve hayvanlarda mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkiler meydana gelir. Başta organik klorlu (OK) pestisitler olmak üzere

pestisitlerden bazılarının, doza bağılı olarak çeşitli deney hayvanlarının karaciğer ve tiroid bezinde tümör oluşumuna yol açtıkları bildirilmiştir. Ayrıca pestisitler lipit peroksidasyonuna, kas ve sinirlerde soysuzlaşmaya, çeşitli doku ve organlarda hasar ve bozukluklara neden olmaktadır. Pestisit kalıntıları uygulandıkları ya da depolandıkları yerlerde başlıca enzimatik ve kimyasal yıkımlanma, buharlaşma ve çeşitli hava olayları ile parçalanır veya kaybolurlar (44).

Pestisitler, değişik parametreler göz önüne alınarak sınıflandırılmaktadır. Bunlar arasında etkiledikleri zararlı grubu ile bunların biyolojik dönemi, zararlılara etki yolları, zehirlilik dereceleri, içerdikleri aktif madde grubu, formülasyon şekilleri ve kullanım teknikleri sayılabilir.

Etki ettikleri canlılara göre afisitler, akarisitler, algisitler, arborositler, avisitler, fungusitler, herbisitler, insektisitler, molluskisitler, nematositler, rodentisitler diye sınıflandırılırlar. Kimyasal yapılarına göre de organik fosforlu bileşikler, organik klorlu bileşikler, organik karbamatlar, dinitrofenoller, piretroidler, formamidinler, klorlu karbonik asit türevleri, fenoksikarbonik asit türevleri, üre bileşikleri, dipiridinium bileşikleri, nitrobenzoller vb şekil de sınıflandırılmaktadırlar. Bu gruplar farklı canlı ya da canlılar grubunu etkileyebilir. Kaynakları sentetik olabileceği gibi bazıları doğal yollardan da elde edilebilmektedir. Bu nedenle kaynaklarına göre de sınıflandırılabilirler (29). Bu sınıflandırma şekillerinden en fazla kullanılanı etki ettikleri canlı türü ve kimyasal yapılarına göre olanlarıdır. Kullanıldıkları zararlı gruplarına ya da hedef alınan organizmaya göre yapılan sınıflandırmada; en önemli pestisit grubunu, insektisit, fungusit ve herbisitler oluşturur. Pestisitlerin kimyasal yapılarına göre yapılan en önemli sınıflandırma grubunu ise organik klorlular, organik fosforular, karbamatlar, doğal ve sentetik piretroidler oluşturur.

Dünyada pestisit kullanımında % 47'lik dilimle herbisitler ilk sırayı almaktadır. Bunu % 29 ile insektisitler, % 19 ile fungusitler ve % 5 ile diğer diğer pestisit grupları takip etmektedir (81). Bu durum gelişmiş ülkelerde geçerlidir. Kullanım miktarı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Kullanım miktarlarını

ülkelerin ekonomik öneme sahip ürünlerinin çeşiti ve bunların üretim miktarları etkiler. Ayrıca, sanayi ve kullanım alışkanlıkları da önemli bir faktördür. Türkiye’de ise pestisitlerin en önemli kullanım alanını bitkisel tarım oluşturur. Bu alanda kullanılan gruplar arasında % 47 ile insektisitler, % 24 ile herbisitler ve % 16 ile fungusitler en fazla yer almaktadır (28).

Zararlı böcek türlerine karşı kullanılan insektisitler, böceklerde metabolizma ve üreme bozukluklarına, enzim aktiviteleri, davranış şekilleri ve beslenme alışkanlıkları üzerinde değişiklikler oluştururlar. Bu durum insektlerin üreme ve yaşam siklusunu bozar. İnektler ölürler. İlaçlamalar sonrası gıdalardaki insektlere bağlı bozunmalar ve parazitlenmeler önlenmiş olur (35).

Kimyasal insektisitlerin hemen hemen hepsi nörotoksik etkiye sahip olup, hedef organizmalarda sinir sistemi üzerine toksik etki gösterirler. Böceklerde merkezi sinir sistemi (MSS) çok iyi gelişmiş olup, memelilerinkine benzer. Aynı şekilde perifer sinir sistemi (PSS) de benzerlik göstermektedir. Bu nedenle insektisitlerin toksik etki mekanizmaları ve hedef aldıkları organlar bütün türlerde aynıdır. Ancak hayvanların bireysel ve türsel duyarlılıkları farklılıklar gösterebilir. Bunlar sinir sisteminde sodyum, potasyum ve klorür iyonlarının membran transportunu engelleyerek (organik klorlular, piretroidler gibi), spesifik enzimleri inhibe ederek (organik fosforlu insektisitler, asetikolinesteraz inhibitörüdür) veya sinir uçlarındaki kimyasal nörotransmitterleri etkileyerek (organik fosforlular, karbamatlar gibi) nörotoksitelerini gösterirler. Organik fosforlu insektisitler, toksik etkilerini asetilkolinesteraz enzimini (AChE) inhibe ederek gösterirler. Toksisitenin şiddeti, asetilkolinesterazın inhibisyon derecesine bağlıdır (90). Bu durum ise organik fosforlu insektisitinin kimyasal ve fiziksel özelliği ile doğrudan ilişkilidir. Çözülme, insektisitlerin emilme ve etki edecekleri yerlerdeki konsantrasyonunu doğrudan etkilemektedir.

Zararlı böceklerle mücadelede, yaygın olarak 4 temel insektisit grubu kullanılmaktadır. Bunlar; organik fosforlu (OF), organik klorlu, organik karbamat ve

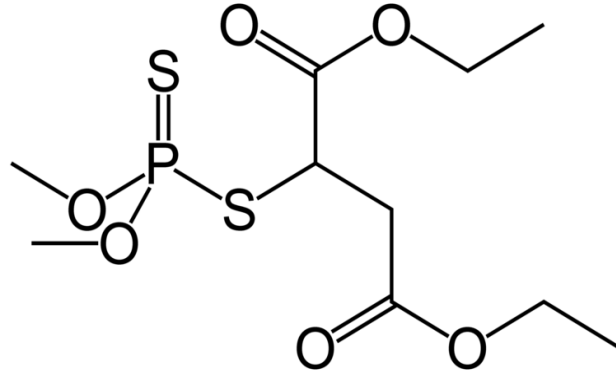
piretroidler grubunda bulunurlar (37). Bu gruplar arasında organik fosforlu insektisit grubu önemli bir yer tutmaktadır.

Organik fosforlu insektisitler fosforik asit veya kükürtlü analoglarının esterleridir. Malatyon, paratyon, diklorvos, diazinon vb gibi maddeler organik fosforlu insektisitler grubunda yer alan önemli insektisitlerdendir. Bu gruptaki insektisitler geniş ölçüde zirai amaçlı kullanılmaktadır. Bu grup insektisitler, yalnızca tarım alanında kullanılmaz, aynı zaman da halk sağlığında da kullanılmaktadır. Ancak, tarımsal ilaçlama veya alan ilaçlamaları sırasında çevredeki insan ve hayvanlarda kitle halinde zehirlenmelere neden olabilirler. Organik fosforlu insektisitlerle zehirlenme akut veya subakut tipte olabilir. Etkilerini deri, sindirim ve solunum yoluyla gösterirler. Sudaki çözünürlükleri az, organik çözücü ve yağlarda oldukça iyi çözünürler. Bu yüzden insan ve hayvanların derilerinden kolayca emilirler. Nitroaromatik yapılu bu bileşiklerin biyotransformasyonları sırasında süperoksit anyon radikalleri ortaya çıkar. Bu serbest radikaller, hücre zarı fosfolipitlerinde, lipit peroksidasyonuna neden olur. Sonuçta hücrelerde yapısal hasarlar meydana getirirler (45, 92).

Organik fosforlu bileşikler başta olmak üzere, insektisitlerin olumsuz etkisinden korunmak için bazı tedbirlerin alınması şarttır. Kullanıcıların, kendilerini, uyguladıkları canlı ya da besin maddesini ve çevreyi koruyacak tedbirlere başvurması gerekmektedir. Kullanıcılar, maske takmalı ve özel elbiseler giymelidirler. İnsektisitler uygun dozda uygulanmalıdır. Uygulamaların yapıldığı bölgelerdeki ürünler belli bir süre geçmeden tüketime sunulmamalı, ilaçlı besin ve sular kullanılmamalıdır. İlaç atıkları rastgele atılmamalı, su kaynakları ve bitkiler korunmalıdır. Ayrıca, böyle ilaçların depolanmasında gereken özen gösterilmelidir. Kiler ve gıda maddelerinden uzak yerlerde bulundurulmalıdır. Ağız kilitli dolaplarda saklanmalıdır. Çocukların ve evcil hayvanların ulaşmasına izin verilmemelidir (29). Ayrıca bu ilaçların kasıt amacıyla da kullanılabilmesi unutulmamalıdır.

Malatyon [O,O-dimethyl-S-(1,2-dicarbethoxyethyl) phosphorodithioate] tarım ürünlerinin korunmasında ve halk sağlığında çeşitli böceklere karşı çok yaygın

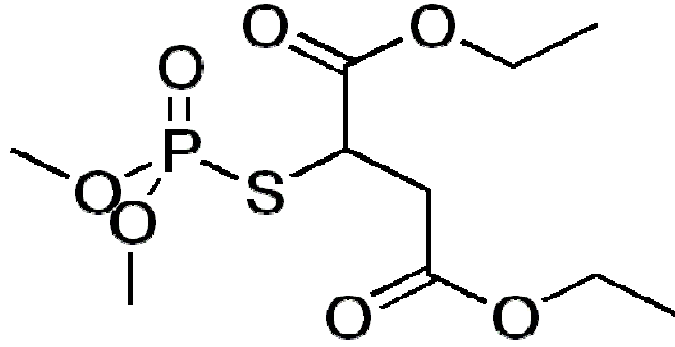
kullanımı olan organik fosforlu insektisitlerden birisidir (52). Malatyon, geniş spektrumlu bir insektisit türü olup, hedef organizmalarda sinirsel impulsların iletiminde rol alan asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek, sinir uçlarındaki sinapslarda asetilkolin birikmesine yol açar. Böylece ilaçla temas eden hedef organizmalarda önce uyarılar ortaya çıkar ve sonra bu uyarıları felçler takip eder. Malatyon memeli hayvanlar ve insanlar için zehirliliği düşük olan bir insektisit türüdür. Buna karşın, bit, pire ve kene gibi dış parazit çeşitleri ile havyan barınaklarında yaşayan çeşitli sineklerde toksisitesi yüksek oranda ortaya çıkmaktadır. Daha çok hayvan barınakları ve çevrede kullanılmaya uygun bir insektisit türüdür. Diğer organik fosforlu insektisitlerde olduğu gibi malatyon da uygulandığı yüzeylerde hidrolitik ayrışmaya uğrar. Alkali koşullar bu durumu hızlandırır.



Şekil 1.1: Malatyon'un kimyasal yapısı

Malatyon, memeli hayvanlar ve insanlar için toksisitesinin düşük olması nedeniyle, yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Memelilerde zehirliliğinin düşük olmasının nedeni, yapısında kolayca hidrolize olabilen karboksil gruplarının bulunmasıdır (45). Dolayısıyla bu hidrolizasyon ilacın vücutta daha kolay parçalanmasına neden olur. Çevredeki dayanıklılığı oldukça dikkat çekicidir. Doğada birkaç günden birkaç aya kadar kalabilme özelliğine sahiptir. Sindirim, deri ve solunum yoluyla vücuda girerler (59) ve karaciğer ile böbreklerde yüksek yoğunlukta birikirler. Vücutta başlıca karaciğerde sitokrom P-450 enzimi ile yıkılırlar. Metabolizma sonucu biyoaktivasyona uğrar. Ortaya çıkan metabolit malatiyondan

daha toksiktir. Toksik metaboliti olan malaoksan'a dönüşür ve bu metabolit tekrar biyotransformasyona uğrar. Bu metabolitin detoksikasyon ürünü dimetiltiyofosfat (DMTP)'tir. Yani malaoksan hem metilasyona hem de tiyol grupları ile konjugasyona uğrar. Vücudu çoğunlukla idrar, safra ve dışkı yoluyla terk ederler (15, 48). Nadir olarak değişmeden ya da daha çok dimetiltiyofosfat metabolitleri halinde atılmaktadır.



Şekil 1.2: Malaoksan'ın kimyasal yapısı

Dere ve ark. (27), malatyonun fare karaciğer, böbrek ve ince bağırsak alkalen fosfataz aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda malatyonun böbrek alkalen fosfataz aktivitesini artırdığı, ancak karaciğer ve ince bağırsak alkalen fosfataz aktivitesini azalttığı kanısına varmışlardır.

Alp ve ark. (5), ratlarda akut malatyon toksisitesinin neden olduğu oksidatif stres üzerine kafeik asit fenil ester ve elajik asit'in etkilerini araştırmışlardır. Kafeik asit fenil ester ile elajik asit'in akut malatyon toksikasyonunda oluşan oksidatif stres üzerine, antioksidan etkili olduklarını göstermişlerdir. İki maddenin antioksidan etkileri birbirine yakın bulunmuştur. Kafeik asit fenil ester ile elajik asit'in akut malatyon toksikasyonunda antioksidan amaçla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Kayhan ve ark. (46), wistar albino sıçanların böbrek dokusunda endosulfan ve malatyonun neden olduğu doku hasarını histolojik yöntemlerle araştırmışlar ve endosulfan ile malatyonun farklı dozlarının böbrek dokusunda belirgin bazı yapısal değişikliklere neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca tübüler dilatasyon, tübüler epitelde dejenerasyonlar ve böbrek korteksinin kortikal ve medulla kısımlarında

kanamalar tespit etmişlerdir. Sonuç olarak; malatyon ve endosülfanın böbrek dokusunda doza bağlı olarak doku hasarı meydana getirdiği sonucuna varmışlardır.

Susan ve ark. (38), rat eritrositlerinde dimethoate ve malatyon tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı vitamin E'nin koruyucu etkisini araştırmışlar ve dimethoate ile malatyonun rat eritrositlerinde lipit peroksidasyonunu tetiklediğini, buna rağmen vitamin E ile tedavi edilen ratlarda lipit peroksidasyonunda bir düşüş olduğunu gözlemlemişlerdir. Dimethoate ve malatyon verilen ratların eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ile glutatyon (GSH) içeriğinde bir artış gözlenmiş; buna rağmen vitamin E ile tedavi edilen ratların bu antioksidan parametrelerinde bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Yine bu organik fosforlu pestisitlere maruz bırakılan ratların eritrosit glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktivitesinde inhibisyon meydana gelmiş, ancak vitamin E ile tedavi edilen ratlarda GST aktivitesinde iyileşme olduğu görülmüştür. Eritrosit ve serum asetilkolinesteraz enzim aktivitesi pestisit verilen gruplarda inhibe olmuş ve bu inhibisyon vitamin E ile tedavi edilen ratlarda düzeltilememiştir.

Ahmed ve ark. (2), organik fosforlu bir insektisit olan malatyon subkronik olarak maruz bırakılan erkek sıçanların serum lipit peroksidasyon düzeyinde bir artış olduğunu, yine eritrositlerde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ile tam kan glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitelerinde artış olduğunu gözlemlemişler, ancak serum glutatyon (GSH) içeriğinde ise bir azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir.

Uzun ve ark. (87), dişi ratlarda malatyonun neden olduğu nefrotoksik etki üzerine vitamin C ve E'nin koruyucu etkisini araştırmışlar ve sonuç olarak vitamin C ve E'nin, malatyonun sebep olduğu bu nefrotoksik etki üzerine koruyucu etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Pestisitler yalnızca doku ve sistemlere zarar vermeyip, aynı zamanda hücre yapısı ve metabolizması üzerine de etki ederek hücresel faaliyetlerin bozulmasına neden olmaktadır. Hücresel hasara yol açan faktörlerden birisi de pestisitlerin neden



olduğu serbest radikal oluşumudur (4). Serbest radikaller; biyokimyasal redoks tepkimeleri sonucu ortaya çıkan, dış yörüngelerinde çok az bir süre için bile olsa çiftlenmemiş bir elektron bulunduran atom ya da moleküller olarak bilinmektedir. Serbest radikaller aşırı derecede reaktif oldukları için diğer moleküller ile kolay bir şekilde ve hızla reaksiyona girerler. Bu radikaller aerobik şartlarda hücre içinde metabolizma sırasında sürekli oluşmaktadır. Normal şartlarda oluşan radikaller hücre tampon sistemleri tarafından ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Ancak, bazı şartlarda fazla miktarda serbest radikal oluşmakta ve bu tampon sistemler tarafından bertaraf edilememektedir. Bazı patolojik durumlarda üretimleri iyice artmaktadır (hastalık ve zehirlenmeler gibi). Serbest oksijen radikalleri; süperoksit anyon radikali ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ), singlet (tekil) oksijeni ( $^1O_2$ ) ve nitrik oksit ( $NO^\cdot$ ) gibi radikal türlerini kapsar. Serbest radikaller, nükleik asitler, lipitler, proteinler, serbest amino asitler, lipoproteinler, karbohidratlar gibi biyomoleküllere zarar verebilmektedirler. Normal fizyolojik şartlarda oksijenin % 2-5'i reaktif oksijen türleri (ROT)'ne dönüşmekte ve bunlar antioksidan sistem ile ortadan kaldırılmaktadır. Eğer bu reaktif oksijen türleri antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmazsa, lipit peroksidasyonu ile hücrel hasar ortaya çıkmaktadır.

Antioksidan savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler ile glutatyon (GSH), vitamin A, C ve E gibi enzim olmayan maddelerden oluşmaktadır. Bu maddelere antioksidan maddeler adı verilmektedir. Dokularda antioksidan sistemlerce kaldırılamayacak kadar aşırı serbest radikal üretiminin olduğu patolojiler çeşitli hücrel hasarlara neden olmaktadır. Normal fizyolojik şartlarda oluşanlardan daha fazla miktarda ortaya çıkan serbest radikallerin organizmadaki etkilerine oksidatif stres adı verilmektedir (47). Oksidatif stres i patolojik şartlardan kaynaklanabileceği gibi dış faktörlerden de kaynaklanabilir. Bu faktörler arasında kimyasal maddelerin yeri ve önemi büyüktür. Vücuda alınan zehirlerin bir kısmı ROT'ların oluşmasına neden olmaktadır. Bu durum hücrenin oksidan/antioksidan dengesinin bozulması sonucunu doğurmaktadır. Patolojik durumda dışarıdan alınan böyle maddeler çok daha şiddetli etkilere neden olurlar. Böyle durumlarda oksidanların düzeyleri ve etkileri daha şiddetli olur.

Bitkilerin antioksidan etkileri 50-60 yıl öncesine kadar fazla bilinmemekteydi. Bitkilerin antioksidan olarak kullanılmaları üzerinde 1950'lerden önce sınırlı sayıda araştırma bulunmaktaydı (22). Bu konuda ilk temel çalışma, Chipault ve ark. tarafından yapılmıştır. Chipault ve ark. (19), 32 baharat türünün antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar test ettikleri bitkiler arasında biberiye ve adaçayının çok iyi antioksidan aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Birçok araştırmada bazı bitki türlerinin hastalıklara iyi geldiği rapor edilmektedir. Bazılarının ise hastalıklardan koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Koruyucu etkilerin en önemlilerinin kanser ve kardiovasküler hastalıklarda olduğu bildirilmiştir. Koruyucu özellikteki bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda, bu tip bitkilerin yüksek düzeylerde antioksidan özellik gösteren maddeleri taşıdığı belirlenmiştir. Böyle bitkilerin yapılan çalışmalarda polifenol, vitamin gibi kimyasal maddeler bakımından zengin oldukları gösterilmiştir. Bu kimyasal maddeler antioksidan etkilidirler. Bu bitkilerin tüketilmesi oksidasyona bağlı hasarlardan ve bununla ilişkili olan hastalıklardan canlıları koruyabileceği bildirilmektedir. Bu hastalıklar arasında kanser gibi çok ciddi hastalıklar da bulunmaktadır (11).

Türkiye biyolojik çeşitlilik açısından dünyanın önemli zengin bölgeleri arasındadır. Bunun başlıca nedenleri arasında; iklim farklılıkları, topoğrafik, jeolojik ve jeomorfolojik çeşitlilikler, deniz, göl, akarsu gibi değişik su kaynağı çeşitlilikleri, 0-5000 m arasında değişen yükseklik farkı, üç farklı fitocoğrafik bölgenin birleştiği yerde oluşu ve Anadolu'nun doğusu ile batısı arasındaki ekolojik farklılıklar sayılabilir. Bütün bu özellikler Türkiye'ye küçük bir kıta özelliği kazandırmaktadır (62).

Boraginaceae (hodangiller) familyasına ait bitki türleri Türkiyede yetişebilmektedir. Bu familyanın 154 cins ve 2500 civarında da türü bulunmaktadır. Kozmopolit bir familya olan hodangiller daha çok tropik ve ılıman bölgelerde yayılış göstermektedir ki, buna Türkiye de dahildir (86). Genellikle kaba tüylü otsular,

çalılar veya ağaçsı şeklinde bir görünüme sahiptirler ve yapraklar basit, stipulsuz ve alternat şeklindedir. Ayrıca, gövde ve yapraklar genel olarak sert tüylerle kaplıdır (24, 71). Bu aileye ait 34 cins ve 300'den fazla tür Türkiyede yetişmektedir (24, 63, 93). Boraginaceae familyasının en geniş cinsini 96 tür, 4 varyete ve 1 melez taksonla *Onosma* cinsi oluşturmaktadır (24). Ayrıca, *Onosma riedliana* olarak teşhis edilen yeni bir tür ile bu sayı 97'ye ulaşmıştır (9, 10). *Onosma* L. cinsi genel olarak yarı çalimsı, çok yıllık veya 2 yıllık otsu bitki türlerinden olup, çoğunlukla Akdeniz Bölgesi'nde yetişmektedir (71). *Onosma nigricaula* Türkiye için endemik bir türdür. Bu bitki türünün kökleri Doğu Anadolu Bölgesinde yara ve yanıkların tedavisinde uygulama alanı bulmaktadır (58).

*Onosma* L. türleri Hindistan ve Afganistan gibi bazı Asya ülkelerinde boya maddesi elde etmede kullanılmaktadır. Elde edilen kırmızı renkteki boya maddesi ilaç, yağ ve yiyeceklerin renklendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yine bu bitkiden Uzakdoğu Asya ülkelerinde (Hindistan, Afganistan) tıbbi amaçla yararlanıldığı görülmektedir (9).

*Onosma armeniacum* tıbbi yönden önem arz etmektedir. Geleneksel olarak; yara ve yanıklarda, solunum yetersizliği, hemoroit, karın ağrısı ve mide ülseri gibi çeşitli hastalıkları tedavi etmede kullanılmaktadır (16).

*Onosma sericeum* ve *Onosma armenum*'un yaprakları özellikle Doğu Anadolu Bölgesinde yara ve şişliklerin tedavi edilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca *Onosma sericeum* türünün çiçekleri besin maddesi olarak da aynı bölgede tüketilmektedir. *Onosma hispidum* türünün köklerinden elde edilen özütler bazı Asya ülkelerinde solucan düşürücü, kaşıntı giderici ve yanıkları tedavi edici olarak değerlendirilmektedir. *Onosma bracteatum* türünün yaprak ve çiçeklerinden elde edilen "phenytoin" maddesi de epilepsi tedavisinde antiepileptik ilaç olarak kullanılmaktadır (3).

Boraginaceae familyasının önemli bir türü de *Onosma hispidum*'dur. Bazı *Onosma* türlerinden elde edilen özütler özellikle de *Onosma hispidum*'un bitki özütü

antioksidan, antibakteriyel, antiviral ve anti-inflamatör ajan olarak geleneksel tıpta kullanılmaktadır. *Onosma hispida*'dan laksatif ve antihelmintik olarak yararlanılmaktadır. Ayrıca bu bitki göz hastalıkları, kan bozuklukları, bronşit, karın ağrısı gibi hastalıkların tedavisinin yanında yangı, kaşıntı, ateş, yara, hemoroit ve böbrek taşı gibi rahatsızlıklara karşı da kullanılmaktadır (84).

*Onosma sericeum* ve *Onosma microcarpum* Türkiye'nin kırsal bölgelerinde yaraları tedavi etmek için kullanılan bitkilerdendir (57). *Onosma stellulatum*'un yapraklarından elde edilen alkaloidlerin karsinojenik ve hepatotoksik özelliklerinin olduğu bildirilmiştir. *Onosma echiodes* özütünün deneysel olarak cilt karsinogenezinin önlenmesine, tümör gelişimi ve oksidatif stresin azaltılmasına yardımcı olduğu rapor edilmiştir (56).

Özgen ve ark. (61), *Onosma argentatum* ve *Rubia peregrina* bitkilerinden elde ettikleri özütlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. *Onosma argentatum* bitkisinin n-hekzan-diklorometan ile elde edilen kök özütü ve *Rubia peregrina* bitkisinin toprakaltı kısımlarının (kök ve rizomları) metanol ile elde edilen özütü in vitro olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler yönünden incelenmişlerdir. *Onosma argentatum* bitkisinin köklerinden elde edilen n-hekzan-diklorometan özütünün % 0,1'lik konsantrasyonu ile yüksek oranda antioksidan aktivite (% 98) elde edilmiştir. Ayrıca, *Onosma argentatum* bitkisinin n-hekzan-diklorometan ile elde edilen özütünün *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* üzerinde antibakteriyel aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ancak, bu bitki özütünün herhangi bir antifungal aktivitesine rastlamamışlardır.

Naz ve ark. (56), *Onosma hispidium*'un kök kabuklarını etanol ile özüt alma işlemine tabi tutmuşlardır. Bu özüt alma işleminden ferulik asit ve vanillik asit'i izole etmişler. Ayrıca, izole ettikleri bu asitlerin antimikrobiyal aktivitelerinin olduğunu rapor etmişlerdir. İzole edilen bu bileşiklerin *corynebacteria*, *enterococci*, *staphylococci* ve *streptococci* bakteri türlerine karşı oldukça biyoaktif etki gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Ahmad ve ark. (1), *Onosma griffithii* türünün olası farmakolojik aktivitelerini araştırmışlardır. Bu türün metanolik özütünün *Leshmania major*'a karşı parazitikal, benzer şekilde *Aspergillus flavus* ve *Fusarium solani*'ye karşı antifungal aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Yine aynı türün su özütünün *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

*Onosma* türlerinin kökleri Türkiye'de halk arasında bronşit, tonsillit, hemoroit gibi hastalıkların tedavisi ile ağrıların hafifletilmesinde kullanılmaktadır. Tosun ve ark. (84), Türkiyede yetişen bazı *Onosma* türlerinin (*O. aucheranum*, *O. isauricum*, *O. sericeum*, *O. tauricum* Pallas ex Willd. var. *brevifolium* ve *O. tauricum* Pallas ex Willd. var. *Tauricum*) köklerinden elde edilen kloroform ve etanol özütlerinin *in vivo* şartlarda anti-inflamatör ve antinosiseptiv aktivitelerini araştırmışlardır. Deneysel sonuçlardan elde edilen bulgulara göre *O. aucheranum*, *O. isauricum* ve *O. sericeum* önemli ölçüde anti-inflamatör ve antinosiseptiv aktivite sergilemiştir.

*Onosma* türlerinin antiinflamatuvar etkileri üzerinde yurt dışı çalışmalara da rastlanmaktadır. Kundakovic ve ark. (50), *Onosma leptanhtha* bitkisinin kök özütünü antiinflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri için araştırmışlardır. *Onosma leptanhtha*'dan elde edilen shikonin türevlerinin inflamasyonu baskılama ve kanser hücrelerinin ömrünü kısıtlama gibi birden fazla *in vivo* ve *in vitro* aktivitelere sahip olduğunu yaptıkları bu çalışma ile doğrulamışlardır.



Resim 1.1: *Onosma nigricaula*'nin genel görünüşü

Fabaceae (leguminosae, baklagillerin bir alt familyası) familyasında yer alan bitki türleri genel olarak otsu, nadiren çalı ya da ağaç şeklinde görüme sahiptirler. Fabaceae, Leguminosae familyasının bir alt familyası olup, yaklaşık olarak 12000 kadar türü kapsamaktadır. Dünya genelinde geniş bir yayılış gösterirler (55). Türkiye Florasıyla ilgili en kapsamlı çalışma olan " Flora of Turkey and East Aegean Islands " (Davis 1970) adlı eserin 3.cildinde Fabaceae familyası'na ait Türkiye'de 68 cins ve 926 türün yayılış gösterdiği bildirilmektedir (25).

İnsanlar ve hayvanlar tarafından gıda maddesi olarak tüketilen çok önemli türleri içermekle birlikte süs bitkisi olarak da kullanılmaktadırlar. Ayrıca ilaç sanayisinde kullanılan bu aileye ait önemli türler bulunmaktadır (55, 71).

Fabaceae familyasına ait bazı bitki türlerinin tıbbi yönden önemleri vardır. Geleneksel olarak çeşitli hastalıkların tedavi edilmesinde kullanıldığı rapor edilmiştir (17). Familya'ya ait bazı türlerin antibakteriyal ve antifungal aktivitelere sahip olduğu (70), ayrıca bazı türlerin yine güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (32). Familya üyelerinin tohumları insan ve hayvanlar için önemli bir besin kaynağı olup, birçok türünün tarımı yapılmaktadır (55).

Familyanın bazı türleri özellikle kabuk ve tohumları zehirli maddeleri içermektedir. Bu yüzden familya'ya ait birçok tür zehirli bitkiler olarak da bilinmektedir (29, 66).

*Lathyrus* cinsi Leguminosae (Fabaceae) familyasının, Papilionoidae alt familyasına ait Viciaeae tribusunda yer almaktadır (25). Yeryüzünde 200'ün üzerinde tür ile temsil edilen *Lathyrus* cinsi bitkiler Türkiye'de de yetişmektedir. *Lathyrus* cinsi bitkiler, Türkiyede tür, alttür ve varyete seviyesinde yaklaşık 78 taksonu kapsamaktadır. Türkiyede tespit edilmiş olan *Lathyrus* cinsi bitkilerden 25'inin endemik olduğu bildirilmektedir. Taksonlar 10 seksiyonda toplanmıştır (34). Genel olarak, Kuzey Yarım Küre, Akdeniz ülkeleri ve Tropik Afrika'nın yüksek dağlık kesimlerinde yayılış göstermektedir (72). *Lathyrus* cinsine ait türlerin gövdeleri kanatlı veya kanatsız olup, bir ya da çok yıllık otsu bitkilerdir (71).

*Lathyrus* türleri dünya genelinde hayvan ve insan besini olarak kullanılmaktadır. İnsan ve hayvan beslenmesinde önemli rolleri vardır. Ancak, Türkiye'de bu türlerin tarımı çok az yapılmaktadır. Dünyada ve Türkiye'de en fazla kültürü yapılan tür, kuraklığa, olumsuz toprak koşullarına ve su baskınlarına karşı dayanıklı olan, *L. sativus* (yaygın mürdümük) türüdür. *Lathyrus* türlerinde, insan ve hayvan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olan oxalyl diamino propionic acid (ODAP) bulunmaktadır. Bu bitki türünün tanelerinin hayvanlar tarafından 3-4 aylık bir süre boyunca yoğun şekilde tüketilmesiyle zehirlenmeler ortaya çıkmaktadır. Etken madde bir nörotoksin olup, merkezi sinir sistemini etkileyerek, insan ve hayvanların arka bacaklarında kalıcı felçlere yol açmaktadır. Bu hastalığa "*lathrism*" adı verilmektedir (8).



Pastor-Cavada ve ark. (65), Güney İspanyada yayılış gösteren 15 yabancı *Lathyrus* türünün tohumlarında bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi üzerine araştırma yapmışlardır. Üzerinde çalışılan *Lathyrus* türlerinin soya, nohut ve bakla gibi yaygın tüketilen türlerine göre daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikleri taşıdıkları gösterilmiştir. *Lathyrus* cinsinin, doğal antioksidan olarak kullanılabilir baklagillerden olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun baklagillerin yeniden kültüre edilmesine katkıda bulunabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, bu bitkilerin güçlü antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin bir kaynağı olarak kullanılabilirliğini vurgulamışlardır.

Starzynska-Janiszewska ve ark. (77), Polonya'da tarımı yapılan *Lathyrus sativus* türünün fermentasyon ve dekoksasyon ürünleri ile tohumlarından elde edilen özütlerin antioksidan özellikleri üzerine araştırma yapmışlardır. *Lathyrus sativus*'un tohumlarından elde edilen ham özütlerin (fermentasyon, dekoksasyon ve enjeksiyon için hazırlanmış özütlerin) anti-radikal ve total antioksidan aktiviteleri bu araştırma ile ölçülmüştür. *Rhizopus oligosporus* ile mayalanmış bitki özütü, total fenolik bileşiklerine bağlı olarak, DPPH ve ABTS radikallerine karşı güçlü radikal süpürücü aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. En yüksek total antioksidan aktiviteyi tohumların bakır özütü göstermiştir. Dekoksasyon ile elde edilen tohum özütü, fermentasyon özütü ile karşılaştırıldığında, özellikle DPPH analizi için, radikal süpürücü aktivitesi daha az bulunmuştur. Tohumların dekoksasyonu ile elde edilen metanol ve bakır özütleri linoleik asite karşı prooksidan aktivite göstermiştir.

Rosado-Vallado ve ark. (70), ishal ve göz enfeksiyonlarının tedavi edilmesi için Maya tıbbında geleneksel olarak kullanılan Fabaceae familyasına ait 6 türün metanol ve su özütlerini *in vitro* şartlarda antimikrobiyal aktivite yönünden araştırmışlardır. Bu türlerden 4 tanesinin Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite, 5 tanesinin *Candida albicans*'a karşı ve 2 tanesinde *Aspergillus niger*'e karşı antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırılan bu türlerden yalnızca birisi *Pseudomonas aeruginosa*'nın büyümesini inhibe etmiştir. Bu türlerden hiçbiri *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği araştırma sonucunda bulunmuştur.

Vinayaka ve ark. (88), Fabaceae familyasına ait *Abrus pulchellus* Wall türünün yapraklarından elde edilen metanol özütünün farklı konsantrasyonlarının antioksidan, antibakteriyel ve insektisidal aktivitesi üzerine çalışmışlardır. *Abrus pulchellus* Wall türünü içeren bitkisel preparatların serbest radikaller tarafından oluşturulan hasarlara karşı kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yine test ettikleri patojen bakteriler ile insektler üzerine etkili olduğunu ve bunlara bağlı çeşitli hastalıkların önlenmesine karşı kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Rajeshwar ve ark. (69), swiss albino farelerde EAC (Ehrlich Ascites Carcinoma)'ye karşı Fabaceae familyasına ait *Mucuna pruriens* türünün tohumlarından elde edilen metanol özütünün antitümör ve antioksidan etkileri üzerinde araştırma yapmışlardır. Mevcut çalışmada *Mucuna pruriens* türünün metanol özütünün EAC tümörünü taşıyan farelerin yaşam süresini arttırdığını, lipid peroksidasyonu'nu azalttığını ve buna bağlı olarak karaciğerde endojen kaynaklı antioksidan enzimlerin sayısında artış gözlendiğini tespit etmişlerdir. Bütün bu sonuçlar, *Mucuna pruriens* tohumlarının metanol özütünün potansiyel olarak antitümör ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.



Resim 1.2: *Lathyrus karsianus*'un genel görünüşü

Türkiye zengin bir floraya sahip olmakla birlikte, çok sayıda endemik ve endemik olmasa da, nadir bitki türlerini barındırmaktadır. Özellikle geofitler olarak bilinen soğanlı, yumrulu ve rizomlu bitkiler, gösterişli çiçekleriyle dikkat çekmektedir. Bu kapsamda, Iridaceae ve Liliaceae familyaları bu türden bitkileri içermektedir (43).

Liliaceae (zambakgiller) familyasında yer alan bitki türleri genellikle çok yıllık otsular ve nadiren de odunsu çalılar şeklinde bir görünüme sahiptir. Kozmopolit bir familya olan Liliaceae yaklaşık olarak 250 cins ve 3500 kadar türü kapsamaktadır. Zambakgiller ailesine sahip 44 cins ve 426 tür Türkiye'de bulunmaktadır. Familyanın birçok türü süs bitkisi olarak yetiştirilmekte ve bazıları gıda maddesi olarak tüketilmektedir (71).

Liliaceae familyası kozmopolit bir familya olmasına rağmen daha çok tropikal ve ılıman bölgelerde yayılış göstermektedir. Çiçekli bitkilerin büyük ve önemli bir kısmı bu familyada yer alır, ayrıca bu familyada ilaç yapımında kullanılan bitki türleri yanında önemli süs bitkileri, aromatik bitkiler ve sebzelerde bulunmaktadır (79).

*Allium* (soğan) cinsi, Liliaceae familyasında en fazla bilinen ve en fazla türe sahip olan önemli bir cinstir. Bilinen bazı türleri sebze olarak tüketilmekte ve bazıları ise çepni olarak kullanılmaktadır. *Allium cepa* (soğan), *A. sativum* (sarımsak) ve *A. porrum* (pırasa) en çok kullanılan ve yetiştirilen türlerdir (79).

Antioksidanlar, çeşitli hastalıklara yol açabilen oksidatif stresin önlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Birçok sebze ve meyve potansiyel olarak koroner kalp hastalığı ve bazı tümörler gibi çeşitli kronik rahatsızlıkların riskini azaltmak için yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu tür bitkilerde koruyucu etkiye sahip olan C vitamini, E vitamini,  $\beta$ -karoten ve polifenolik gibi bileşikler bulunmaktadır. *Allium* cinsi birçok ülkede polifenolik bileşikler açısından besinsel flavonoidlerin önemli kaynaklarından birisini oluşturmaktadır.

*Allium* cinsi kuzey yarımkürenin özellikle sıcak bölgelerinde yayılış göstermektedir ve genellikle tek ya da çok yıllık 750'den fazla türü kapsamaktadır (60). Türkiye florasında ise 65'i endemik olmak üzere toplam 164 türü bulunmaktadır. *Allium* türlerinin insan sağlığı açısından faydaları oldukça iyi bilinmektedir. Örneğin; *Allium sativum*'un (sarımsak), bazı hastalıklarda (mantar) profilaktik ve terapötik etkilere sahip olması oldukça dikkat çekicidir. Araştırmalar sonucu elde edilen kanıtlar, patojenik enfeksiyonlar, tümör ve kardiyovasküler hastalıkların tedavi edilmesinde ve bu hastalıkların önlenmesinde *Allium* cinsinin önemli bir rolünün olduğunu göstermiştir. *Allium* türlerinin bazı öncü bileşikleriyle sülfür içeren bileşiklerinin antioksidatif aktiviteye sahip olduğu birçok araştırma sonucunda doğrulanmıştır. Bu kimyasal bileşiklerin potansiyel olarak deney hayvanlarında lipit peroksidasyonu düzeyini önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (80).

*Allium* türleri içerdikleri allisin, tiyosülfınatlar ve diğer dönüşüm ürünleri ile antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Taşıdığı bu bileşikler, bakteri, mantar, virüs ve parazit gibi mikroorganizmalara karşı inhibitör etki göstermektedir. Ayrıca birçok ilaca karşı direnç gösteren mikroorganizmalar üzerinde de inhibitör etkili olduğu bildirilmektedir. *Allium* türleri içerdikleri maddelerle çok sık olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlar ile sinerjistik olarak etkileşmektedir. *Allium* türlerinde mevcut olan antimikrobiyal bileşikler, hücresel proteinlerin sülfidril (SH) grupları ile reaksiyona girerek mikroorganizmaları inhibe etmektedir (51).

*Allium sativum* (sarımsak) alliin'in hidrolizi sonucu açığa çıkan kükürtlü bileşiklerden allil disülfür'ü içermektedir. Sarımsak bu bileşikten dolayı tansiyon düşürücü etkiye sahiptir. Sarımsakta ayrıca, A ve C vitamini ile antibiyotik etkili bileşiklerde bulunmaktadır. Bu nedenle tüketilmesi sonucu bakterisit etkisi birinci derecede ağızda ortaya çıkar. Ayrıca diüretik ve antelmentik etkilerinin olduğu da bildirilmektedir. İştah açıcı ve lezzet vericidir. *A. cepa* (soğan) A, C ve B2 vitaminleri ile flavonoidleri içerir. Sindirim yollarındaki salguları arttırdığı için iştah açıcıdır; ayrıca antibiyotik etkisi de vardır (79).

*Allium ursinum* Avrupa'da *Fagetum* bitki popülasyonunda yer alan geniş yayılışlı bir geofit türüdür Stajner ve ark. (76), *Allium ursinum* türünün yaprak, gövde ve soğan kısımlarının antioksidatif özellikleri üzerinde araştırma yapmışlardır. Bitkinin tüm kısımlarından elde edilen özütlerin antioksidan aktivitesi incelenmiş ve en yüksek antioksidan aktivite yapraklarda görülmüştür. Bu anlamda bu bitki türünün çok sayıda yararlı etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Sharma ve ark. (73), erkek farelerde kurşun nitrat ile meydana getirilen zehirlenme üzerine *Allium sativum* (sarımsak) bitki özütünün koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmışlardır. Denemeler hematolojik ve immünolojik parametreler ile oksidatif stres ve kurşun nitrat uygulanması sonucu zehirlenen farelerin beyin ve böbreklerinde biyokimyasal parametrelere bağlı toksisite üzerine bitki özütünün olası koruyucu özellikleri üzerine yürütülmüştür. Mevcut çalışmadan elde edilen bulgulara göre, *Allium sativum* (sarımsak) bitki özütünün hematolojik, biyokimyasal ve

immünolojik parametreler üzerinde önemli değişikliklere yol açtığını ve bu bitki özütünün biyolojik olarak bazı yararlı özelliklere sahip olduğunu göstermiştir.

Tepe ve ark. (80), Türkiye florasında 2'si endemik tür olmak üzere toplam 5 tane *Allium* türünün metanol özütünün antioksidan aktiviteleri üzerine araştırma yapmışlardır. Bitkilerden elde edilen özütlerin DPPH radikali süpürücü aktiviteleri araştırılmış, ayrıca  $\beta$ -karoten/linoleik asit düzeyleri analiz edilmiştir. Sonuç olarak, Türkiye florasında geniş yayılış gösteren bu *Allium* türlerinin potansiyel olarak antioksidan özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir.

Pârvu ve ark. (64), *Allium obliquum* bitki özütünün bazı fitopatojenik mantar türlerinin büyüme ve gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. LC/MS metoduyla *Allium obliquum* bitki özütünün taşıdığı alliin miktarı 141,08  $\mu\text{g/ml}$  olarak tespit edilmiştir. *Allium obliquum* özütünde mevcut alliin'in *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* F. sp. *gladioli*, *Penicillium expansum* and *Sclerotinia sclerotiorum* mantar türlerine karşı önemli ölçüde antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu bitki özütünün minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK), mantar türlerine göre 50-80  $\mu\text{l/ml}$  arasında tespit edilmiştir.

*Allium ascalonicum* birçok toplumda özellikle de Asya'da yaygın şekilde tüketilen bir besin maddesidir. Sağlık açısından faydalı olduğu ve hatta çeşitli hastalıklara ve zayıflamaya karşı potansiyel olarak şifalı olduğu, bu bitki türünü tüketen toplumlar tarafından bilinmektedir. Mahmoudabadi ve Nasery (54), *Allium ascalonicum* Linn. (soğancık) bitki özütünün *in vitro* şartlarda kliniksel açıdan önemli olan bazı mantar türlerine karşı antifungal aktivitesini araştırmışlardır. Mevcut çalışmada *Allium ascalonicum* bitki özütünün, izole edilen *Candida albicans*'ın 11 türüne, saprofitik mantarların 8 türüne ve dermetofitlerin 5 türüne karşı antifungal etki gösterdiği agar-difüzyon metoduyla tespit edilmiştir.



Resim 1.3: *Allium czelghauricum*'un genel görünüşü

Bu araştımda, farelerde (*Mus musculus*) malatiyon tarafından meydana getirilen oksidasyona karşı, endemik bitki türlerinden olan *Onosma nigricale* (Boraginaceae), *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Allium czelghauricum* (Liliaceae)'dan elde edilen metanol özütlerinin antioksidan etkilerinin tespiti amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Bitki Materyali

*Onosma nigricaula* (Boraginaceae), *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Allium czelghauricum* (Liliaceae) bitki türleri Mayıs-Eylül 2011 tarihleri arasında Kars İlinden toplandı ve herbaryumda güneş ışınlarına maruz kalmayacak şekilde gölgede kurumaya bırakıldı. Kurutma işleminden sonra bitkilerin sadece yaprakları alındı ve bir öğütücü vasıtasıyla iyice toz haline gelinceye kadar öğütülüp, özüt alma işlemi için hazır hale getirildi.

#### 2.1.2. Hayvanlar

Araştırma için Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Karar no: 26.11.2010/48) onay alındı. Araştırmada daha önce çiftleşmemiş ve herhangi bir çalışmada kullanılmamış toplam 100 adet aynı cins fare (*Mus musculus*) kullanıldı. Ergenlik dönemine erişmiş, 7-8 haftalık, yaklaşık 22-35 g ağırlığındaki erkek fareler deneye alındı. Fareler her grupta 10 adet olacak şekilde ayrıldı ve kafeslere yerleştirildi (toplam 10 grup). Hayvanlar  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ortam sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda standart kafeslerde barındırılıp, normal fare yemi ve musluk suyu ile *ad libitum* olarak beslendi.

#### 2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Organofosfatlı bir insektisit olan Malatyon (% 95 saflıkta) HEKTAŞ TİCARET T.A.Ş.'den temin edildi.

Total Antioksidan Kapasite Kit (REL ASSAY)

Total Oksidan Kapasite Kit (REL ASSAY)



**Toplam Polifenolik Madde Analizi için;**

Metanol (Sigma-Aldrich)  
Pirokatekol (Sigma)  
Disodyum karbonat (Sigma-Aldrich)  
Folin ciocalteus (Sigma-Aldrich) kullanıldı.

**NO Analizi için;**

Metanol (Sigma-Aldrich)  
Rutin standart madde (Sigma)  
Sodyum nitropurisit (Merck)  
Sodyum klorür (Sigma-Aldrich)  
Sodyum Fosfat dibazik dihidrat (Sigma-Aldrich)  
Sodyum Fosfat monobazik dihidrat (Sigma-Aldrich)  
Sodyum Hidroksit (Sigma-Aldrich)  
Hidroklorik Asit (Sigma-Aldrich)  
Fosforik Asit (Sigma-Aldrich)  
Sulfanilamid (Sigma-Aldrich)  
Naftiletlen diamin dihidroklorit (Fluka) kullanıldı.

**2.1.4. Kullanılan Alet ve Gereçler**

Araştırmada NÜVE (NS 104) marka distile su cihazı, mikrogram hassasiyetli SHIMADZU (AUX 220) marka hassas terazi, IKA (MS 3 basic) marka vorteks, JEIO TECH (TM-14S) marka ısıtmalı manyetik karıştırıcı, SOCOREX (10-100 µl, 100-1000 µl) marka otomatik pipetler ve Hettich (MIKRO 120) marka santrifüj cihazı kullanıldı. Özüt alma işleminde Wisd (Wise Therm) marka ceketli ısıtıcı, İLDAM (250 ml BOROSİLİKAT) marka Soxhlet aparatı ve Heidolph (LABOROTA 4000) marka evaporatör kullanıldı. Spektrofotometrik okumalar SHIMADZU (UV-1201) marka spektrofotometre ile yapıldı. Homojenizasyon işlemi için NÜVE (NF 800) marka santrifüj cihazı ve WIGGEN HAUSER marka homojenizatör cihazı kullanıldı. Total Antioksidan Kapasite ve Total Oksidan

Kapasite ölçümleri için BioTek (PowerWase XS) marka spektrofotometre kullanıldı. Mikroskobik incelemeler Olympus (BX51) marka mikroskop ile yapıldı.

### **2.1.5. Kullanılan Tampon Çözeltiler**

#### **2.1.5.1. 0,1 M PBS Tamponu (pH 7,4)**

250ml 10X konsantre solüsyon için;

18,93g NaCl

3,075g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O

2,075g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O

Kimyasallardan gösterilen oranlarda hassas terazide tartıldı ve bir beher içerisinde karıştırılıp, üzerine 200 ml distile su ilave edildi. Manyetik karıştırıcıda iyice çözdürüldü. Çözünme işlemini takiben solüsyonun pH'sı 1M HCl veya 1M NaOH ile 7,4'e ayarlandı. pH'sı 7,4'e ayarlanan bu solüsyondan 250ml hazırlandı.

#### **2.1.6. Bitki Özütlerinin Hazırlanması**

Sokselet sistemiyle bitkilerden özüt alma işlemi gerçekleştirildi. Özüt alma işleminde ceketli ısıtıcı kullanıldı. Özüt alma işleminde çözücü madde olarak metanol kullanıldı. Kurutulmuş bitki yaprağı örnekleri öğütülerek toz haline getirildi. Bu bitki tozundan her deney için 25 g tartılarak kullanıldı. Filtre kâğıdından yapılmış rulo içerisine kondu. Bu rulo sokselet cihazı içerisine yerleştirildi. Daha sonra ceketli ısıtıcıya, içerisinde 400 ml metanol bulunan balon düzenli bir şekilde yerleştirildi. Cihaz metanol kaynayacak biçimde (65 °C) ısıtıldı. Bu özüt alma işlemi çözücünün rengi berraklaşınca kadar devam etti. İşlem tamamlandıktan sonra metanol bir evaporatörde su trompu ile düşük basınçta tamamen uçuruldu. Özüt madde bir tüp içerisinde elde edildi. Sonrasında cam kap içerisinde bulunan özüt madde alüminyum folyo ile ışıktan korunacak şekilde iyice paketlenip, -35 °C'de muhafaza edildi.

Bu özütler fizyolojik tuzlu suda çözdürüldü ve daha sonraki aşamada antioksidan testler için deney hayvanlarına intraperitoneal yolla enjekte edildi. Elde edilen özütlerin toplam polifenolik madde içeriğine, nitrik oksit (NO) radikal süpürücü etkisine bakıldı. Bu etkiler antioksidan kapasiteye sahip olduğu bilinen standart maddeler ile karşılaştırıldı.

### 2.1.7. Deney Gruplarının Oluşturulması

Her bir grupta 10 adet erkek fare olmak üzere aşağıdaki deney grupları oluşturuldu. Hayvanlara verilecek kimyasal madde ve özütler 100 mg/10 ml olacak şekilde uygun solüsyonlarda çözdürüldü (malatyon mısır yağında, bitki özütleri fizyolojik tuzlu suda çözdürüldü). Sonuç olarak, negatif kontrol grubu hariç diğer gruplara 0,2 ml/ 20 g fare hesabında çözelti, fizyolojik tuzlu su ya da mısır yağı enjekte edildi.

**1. Grup:** Bu grup, negatif grup olarak tasarlanıp, farelere hiçbir madde uygulaması yapılmadı (**K**).

**2. Grup:** Farelere günlük olarak bitki özütlerinin taşıyıcı maddesi olan serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) 21 gün boyunca intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı. Serum fizyolojinin dozu 0,2 ml/20 g fare olacak şekilde uygulandı (**S**).

**3. Grup:** Farelere günlük olarak malatyonun taşıyıcı maddesi olan mısır yağı 21 gün boyunca intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı. Mısır yağının dozu 0,2 ml/20 g fare olacak şekilde uygulandı (**MY**).

**4. Grup:** Farelere günlük 100 mg/kg dozda malatyon 21 gün boyunca mısır yağı içerisinde çözdürülerek intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (0,2 ml/20 g), (**M**).

**5. Grup:** Farelere günlük 100 mg/kg dozda *Allium czelegianum* (Liliaceae) bitki özütü 21 gün boyunca serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) içerisinde çözdürülerek intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (0,2 ml/20 g), (**A**).

**6. Grup:** Farelere günlük 100 mg/kg dozda *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) bitki özütü 21 gün boyunca serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) içerisinde çözdürülerek intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (0,2 ml/20 g), (**L**).

**7. Grup:** Farelere günlük 100 mg/kg dozda *Onosma nigricaula* (Boraginaceae) bitki özütü 21 gün boyunca serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) içerisinde çözdürülerek intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (0,2 ml/20 g), (**O**).

**8. Grup:** Farelere günlük 100 mg/kg dozda *Allium czelghauricum* (Liliaceae) bitki özütü + 100 mg/kg dozda malatyon 21 gün boyunca intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (0,2 ml/20 g), (**MA**).

**9. Grup:** Farelere günlük 100 mg/kg dozda *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) bitki özütü + 100 mg/kg dozda malatyon 21 gün boyunca intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (0,2 ml/20 g), (**ML**).

**10. Grup:** Farelere günlük 100 mg/kg dozda *Onosma nigricaula* (Boraginaceae) bitki özütü + 100 mg/kg dozda malatyon 21 gün boyunca intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (0,2 ml/20 g), (**MO**).

## 2.2. Metot

### 2.2.1. Toplam Polifenolik Madde Tayini

*Onosma nigricaula*, *Lathyrus karsianus* ve *Allium czelghauricum* bitkilerinin metanolde hazırlanmış özütlerinin toplam çözünebilir Fenolik maddelerinin tayini Slinkard ve Singleton'un metoduna göre Folin-Ciocalteu ayırıcı kullanılarak belirlendi (74).

#### 2.2.1.1. Numune ve standart hazırlanması

Bitkilerden elde edilen özütler 1 ml metanol içerisinde ayrı ayrı çözdürüldü (her bir çözelti 1 mg *Onosma nigricaula*, *Lathyrus karsianus* ve *Allium czelghauricum* özütü içermekteydi).

Pirokatekol standart maddesinin de 0–12,5 µg/ml arasında değişen miktarlarda metanolde çözülmüş konsantrasyonları hazırlandı.

#### 2.2.1.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler

Folin-Ciocalteu ayırıcı, %2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

#### 2.2.1.3. Ölçme

Maddeler Tablo 2.1.'de gösterildiği gibi tüplere yerleştirildi. Çözeltiler aralıklarla çalkalanarak oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra 760 nm'de spektrofotometrede kör'e karşı sıfırlanarak özüt ve standart çözeltilerin toplam polifenolik madde absorbans ölçümleri yapıldı. Bütün gruplarda okumalar 3 tekrarlı yapılarak ortalama değerleri alındı. *Onosma nigricaula*, *Lathyrus karsianus* ve *Allium czelghauricum* bitki özütlerinin toplam polifenolik madde içeriği pirokatekol standart maddesine göre mg/g cinsinden belirlendi.

Tablo 2.1: Toplam Polifenolik Madde analizi

	Kör	Bitki Özüt Grubu	Pirokatekol Grubu
Metanol	100 µl	—	—
Bitki Özütü	—	100 µl	—
Pirokatekol (0–12,5 µg/ml arası konsantrasyonlar)	—	—	100 µl
Distile su	4,5 ml	4,5 ml	4,5 ml
Folin-Ciocalteu ayracı	100 µl	100 µl	100 µl

Çözeltiler eklendi ve karıştırıldı. 3 dakika sonra %2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklendi

%2'lik Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	300 µl	300 µl	300 µl
--	--------	--------	--------

### 2.2.2. Nitrik Oksit (NO) Radikal Süpürücü Aktivite

*Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus* ve *Onosma nigricaula* bitkilerinden elde edilen metanol özütlerinin NO serbest radikal süpürücü aktivitesi Badami ve ark. (7) ile Kumar ve ark. (49)'nın metotlarının kısmen modifiye edilmesiyle ölçüldü. Sodyum nitropurisit sulu solüsyonlarda ve fizyolojik pH'da kendiliğinden NO üretmektedir ve bu NO radikali de ortamdaki oksijenle etkileşime girerek nitrit (NO<sub>2</sub>) iyonları üretmektedir. Oluşan nitrit anyonunda Greiss reaksiyonuyla renklendirilerek 548 nm'de, spektrofotometrede okunarak ortamdaki NO tayini yapıldı (33).

#### 2.2.2.1. Numune ve standart hazırlanması

*Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus* ve *Onosma nigricaula* bitki özütlerinin 25, 50, 75, 100, 200, 300 ve 400 µg/ml arasında değişen konsantrasyonları metanolde çözdürüldü. Aynı şekilde Rutin standart maddesinin de 25, 50, 75, 100, 200, 300 ve 400 µg/ml arasında değişen miktarları metanolde çözdürülerek hazırlandı. Üç farklı eşit konsantrasyonlarda çalışıldı. Söz konusu konsantrasyonlar Rutin standart maddesinin 12,5, 25, 37,5, 50, 100, 150 ve 200 µg

miktarlarına denk gelmektedir. Bitki özütlerinin 100 µg/ml konsantrasyonlarda taşıdıkları polifenol miktarı *Allium czełghauricum*'da 6,285 µg/ml, *Lathyrus karsianus*'ta 5,415 µg/ml ve *Onosma nigricale*'de 4,353 µg/ml'lik yoğunluğa denk gelmektedir.

### 2.2.2.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler

10 mM sodyum nitropurisit, PBS tamponu (0,1 M, pH 7,4), Greiss Reaktifi (% 5'lik fosforik asitte % 1'lik sulfanilamid ve distile suda % 0,1'lik naftiletilen diamin dihidroklorit hazırlanarak yapıldı), fosforik asit, metanol kullanıldı. Çözeltiler deney tüplerine aşağıdaki Tablo 2.2'de olduğu gibi yerleştirildi.

Tablo 2.2: NO radikal süpürücü aktivite analizi

	Kontrol Grubu	Bitki Özütünden Gelen Absorbans	Standarttan (Rutin) Gelen Absorbans	Bitki Özüt Grubu	Rutin Grubu
Metanol	0,5 ml	-	-	-	-
PBS Tamponu (0,1 M, pH 7,4)	0,5 ml	2,5 ml	2,5	0,5 ml	0,5 ml
Sodyum nitropurisit (10mM)	2 ml	-	-	2 ml	2 ml
Bitki Özütü	-	0,5 ml	-	0,5 ml	-
Rutin	-	-	0,5 ml		0,5 ml

Hazırlanan çözeltiler deney tüplerine eklendi, karıştırıldı ve oda sıcaklığında 150 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra özüt, standart ve kontrole 1:1 oranında Greiss reaktif eklenerek 30 dakika daha oda sıcaklığında beklendikten sonra absorbansları spektrofotometrede 548 nm dalga boyunda PBS kör'üne karşı

okundu. Bütün numuneler 3 tekrarlı çalışılarak ortalama değerleri alındı. Oluşan nitrik oksitin yüzde inhibisyonu kontrolün ve numunelerin absorbans değerlerinin karşılaştırılmasıyla hesaplandı. Rutin pozitif kontrol olarak kullanıldı. Elde edilen değerler % inhibe edici konsantrasyon olarak belirlendi.

### **NO radikal süpürücü etki hesaplanması;**

% inhibisyon =  $[A_0 - (A - A_b) / A_0] \times 100$  formülü kullanılır.

$A_0$ : Kontrol Absorbansı

A: Bitki Özüt Grubu veya Standart (Rutin) Grubu Absorbansı

$A_b$ : Bitki Özütü veya Standarttan gelen Absorbans

### **2.2.3. Total Antioksidan ve Total Oksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi**

Plazma ve karaciğer dokusundaki antioksidan ve oksidan miktarı Total Antioksidant Status (TAS) Assay Kit ve Total Oksidant Status (TOS) Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions) kullanılarak ölçüldü (30). Plazma ve karaciğer dokusunda antioksidan ve oksidan kapasiteleri için analiz metodu kısmen modifiye edilerek kullanıldı.

#### **2.2.3.1. Total Antioksidan Kapasitelerinin (TAK) Belirlenmesi**

##### **Kullanılan Reaktif ve Standartlar**

Reaktif	1:	Test tamponu
Reaktif	2:	Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)] radikal solüsyonu
Standart	1:	0.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu
Standart	2:	1.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu



Tablo 2.3: Total Antioksidan Kapasite (TAK) aktivite analizi

	Absorbans 1 (660 nm)	Absorbans 2 (660 nm)
Std1	285µl reaktif 1 + 20 µl standart 1 Standart 1'in ilk absorbansı	Std1 + 45 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, Absorbans
Std 2	285 µl reaktif 1 + 20 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorbansı	Std 2 + 45 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, Absorbans
Örn 1	285 µl reaktif 1 + 20 µl örnek Örneğin ilk absorbansı	Ör 1 + 45 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, Absorbans

**Sonuçların Hesaplanması;**

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Örnekte})]}{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]}$$

$\Delta$  Standart 1'in absorbansı = (Std 1'in ikinci absorbansı - Std 1'in ilk absorbansı)

$\Delta$  Standart 2'nin absorbansı = (Std 2'in ikinci absorbansı - Std 2'in ilk absorbansı)

$\Delta$  Örneğin absorbansı = (Örneğin ikinci absorbansı - Örneğin ilk absorbansı)

**2.2.3.2. Total Oksidan Kapasitelerinin (TOK) Belirlenmesi****Kullanılan Reaktif ve Standartlar**

Reaktif 1: Test tamponu (50 ml x1)

Reaktif 2: Prokromojen solüsyonu (10 ml x 1)

Standart 1: Kör solüsyonu (deiyonize su)

Standart 2: Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu (SSSS) (800 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Equiv./L, 10 ml x1)

Stok solüsyondan 50 µl alındı ve 10 ml deiyonize su ile karıştırıldı. Bu solüsyondan da 50 µl alındı ve 10 ml deiyonize su ile karıştırıldı (her iki karıştırılma vortekste gerçekleştirildi). Bu şekilde standart iki stok solüsyonu 40 000 kat sulandırılmış oldu ve elde edilen çalışma solüsyonunun yoğunluğu 20 mikromolar E/L olarak elde edildi. Bu çalışma solüsyonu günlük olarak hazırlandı.

Tablo 2.4: Total Oksidan Kapasite (TOK) aktivite analizi

	Absorbans 1 (530 nm)	Absorbans 2 (530 nm)
Std 2	300 µl reaktif 1 + 45 µl standart 2 Standart 2'nin ilk absorbansı	Std 2 + 15 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, Absorbans
Örn 1	300 µl reaktif 1 + 45 µl örnek Örneğin ilk absorbansı	Ör 1 + 15 µl reaktif 2 Oda ısısında 10 dakika ya da 37 °C'de 5 dakika inkübasyon, Absorbans

### Sonuçların Hesaplanması;

$$\text{Sonuç} = [(\Delta\text{Abs Örnek}) / (\Delta\text{Abs Std2})] \times 20 \text{ (Std 2 değeri)}$$

$$\Delta\text{Abs Örnek} = \text{Örneğin ikinci absorbansı} - \text{örneğin ilk absorbansı}$$

$$\Delta\text{Abs Std2} = \text{Standart 2'nin ikinci absorbansı} - \text{standart 2'nin ilk absorbansı}$$

$$\text{Std 2 değeri} = 20 \text{ µmol H}_2\text{O}_2\text{Equiv./L}$$

### 2.2.4. Canlı Ağırlık Ölçümü

İlaçlar uygulanmadan hemen önce (uygulamaya başlandığı ilk gün) tüm gruptaki hayvanların ağırlıkları ölçüldü. Hayvanlar hareket edemeyecekleri ve darası alınmış bir kap içerisine konularak hassas dijital terazide tartıldı. Bu işlem uygulama süresince her hafta tekrarlandı. Uygulama bittikten sonra (21. Gün) hayvanlar ötanazi edilmeden hemen önce tekrar tartıldı. Hayvanların canlı ağırlıkları birbiriyle istatistiksel yöntemler kullanılarak karşılaştırıldı.

### **2.2.5. Karaciğer Ağırlık Ölçümü**

Çalışma sonunda eter anestezi altında servikal dislokasyon ile öldürülen deney hayvanlarından alınan karaciğer dokuları steril bir kap içerisine konularak hassas dijital terazide tartıldı. Hayvanlardan alınan karaciğer dokularının ağırlıkları istatistiksel yöntemler kullanılarak karşılaştırıldı ve gruplar arasındaki fark tespit edildi.

### **2.2.6. Histopatolojik İncelemeler**

Çalışmanın sonunda ötanazi edilen deney hayvanlarının karaciğer dokuları alınarak histopatolojik olarak incelendi. Bütün deney farelerinden alınan karaciğer örnekleri % 10'luk formaldehid solüsyonunda tespit edildi. Dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol solüsyonlarından seri bir şekilde geçirildikten sonra parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında doku kesitleri alındı ve Hematoksilen-Eosin (H.E.) (53) ile boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51; Olympus Optical Co., Osaka, Japonya) değerlendirildi. Gerekli görülen olgulardan mikroskopik resimler çekildi. Karaciğer hasarının değerlendirilmesinde, deney ve kontrol gruplarında görülen karaciğer yüzey alanındaki; (1) hepatosellüler nekrozun yaygınlığı; (2) bulanık şişkinlik ve hidropik dejenerasyon; (3) vakuoler dejenerasyon; (4) safra kanalı hiperplazisi; (5) anizositozis ve anizokaryozis; (6) polimorf ve mononükleer yangı hücresi infiltrasyonu şiddeti ve yaygınlığı olmak üzere 6 ayrı kategori semi-kantitatif olarak değerlendirildi.

### **2.2.7. İstatistik Hesaplamalar**

İstatistiksel hesaplamalarda One-Way Anova Testi kullanıldı. Deneme grupları, kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak çalışıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma ( $X \pm SD$ ) şeklinde belirlendi ve  $p < 0.05$  istatistiksel farklılığı gösterdi.

Tüm hesaplamalar SPSS (16.0-2010) paket programı kullanılarak yapıldı.

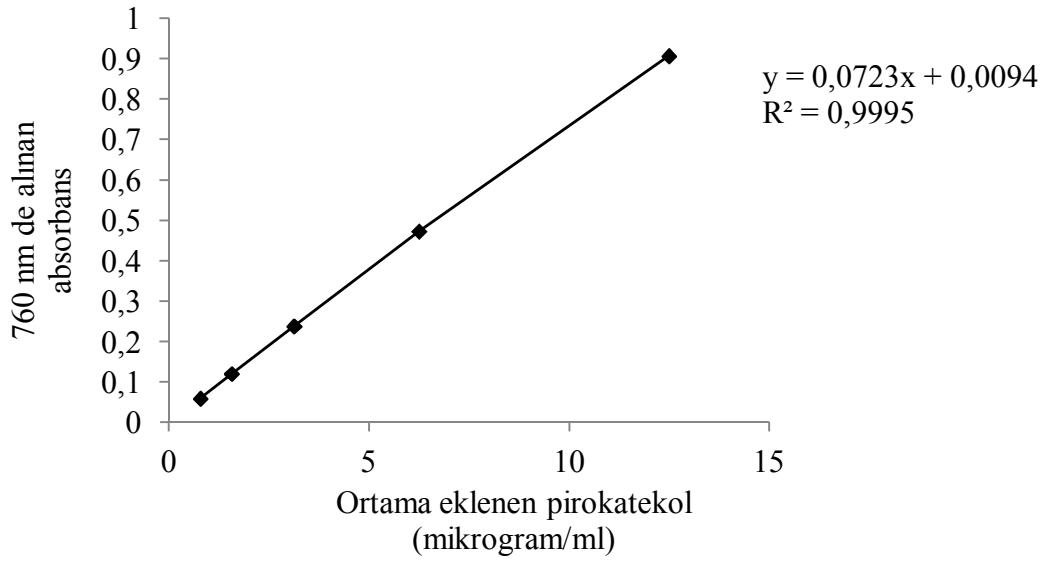
### 3. BULGULAR

#### 3.1. Toplam Polifenolik Madde Tayini

Polifenoller (hidroksil grupları sayesinde) radikal yakalatici bileşiklerdir. Serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz, dolayısıyla zararsız bileşiklere dönüştürürler. Bu etkileri serbest radikal süpürücü (temizleyici) aktivite olarak da adlandırılabilir. Bu etkileri polifenolik bileşiklere antioksidan özellik kazandırmaktadır. Bu nedenle bitkilerdeki düzeyleri önem arz etmektedir. Araştırmada antioksidan parametreler üzerine etkili olmalarından dolayı çalışılan bitkilerdeki fenolik bileşiklerin düzeyleri tespit edilmiştir. Bitkilerde bulunan fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu çözeltisi kullanılarak belirlenmiştir. *Onosma nigricaula*, *Lathyrus karsianus* ve *Allium czelghauricum* bitkilerinin metanol özütlerinin toplam fenolik madde içeriği saptandı. Bu hesaplamada aşağıda sunulan standart Pirokatekol grafiğinden ve aşağıdaki formülden faydalanıldı. Sonuçlar mikrogram pirokatekole eş fenolik madde olarak tespit edildi. Standartlardan elde edilen eğrinin  $r^2=0,9995$  olduğu hesaplandı (Grafik 3.1).

$$\text{Pirokatekol } (\mu\text{gr}) = [\text{Absorbans} - 0,0094] / 0,0723 \quad (r^2=0,9995)$$

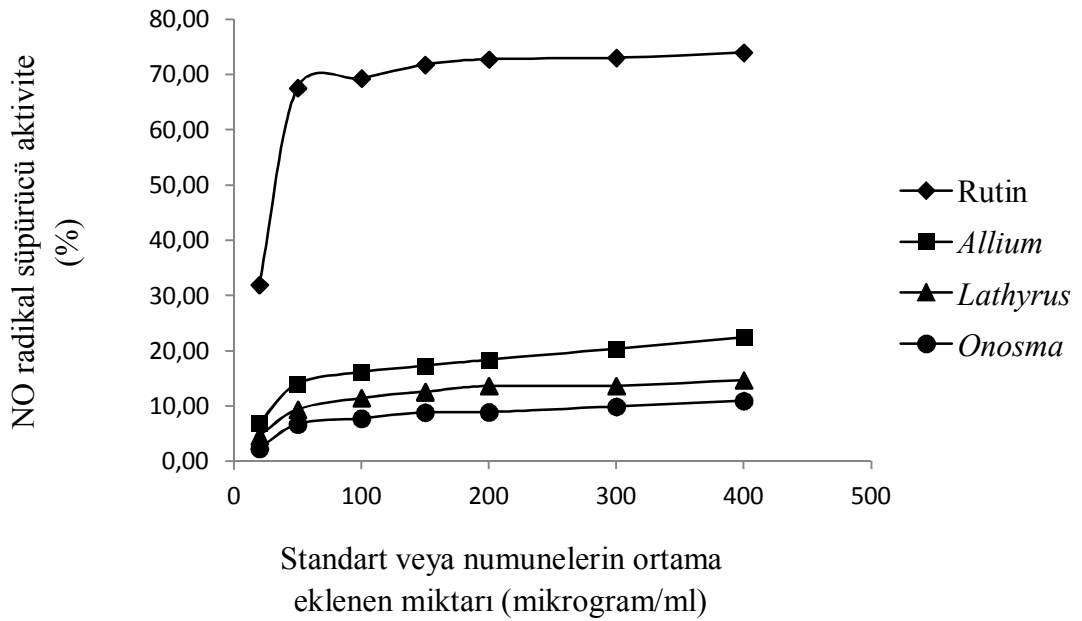
Buradan da 1 mg *Onosma nigricaula*'nin 43,53  $\mu\text{gr}$ , 1 mg *Lathyrus karsianus*'un 54,15  $\mu\text{gr}$  ve 1 mg *Allium czelghauricum*'un 62,85  $\mu\text{gr}$  pirokatekol eşlenik madde içerdiği tespit edildi.



Grafik 3.1: Pirokatekol standart grafiği

### 3.2. Nitrik Oksit (NO) Radikal Süpürücü Aktivite

*Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus*, *Onosma nigricaula* ve Rutin standart maddesinin NO radikal süpürücü % aktiviteleri üç denemeden sonra elde edilen verilerin ortalaması alınarak aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Grafik 3.2).



Grafik 3.2: *Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus* ve *Onosma nigricaula* ile Rutin'in NO radikal süpürücü aktivitelerinin karşılaştırılması

Bitkilerin nitrik oksit süpürücü etkilerinin, ihtiva ettikleri polifenolik bileşik oranıyla paralellik gösterdiği belirlendi. Rutin maddesine göre nitrik oksiti süpürücü etkinin, *Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus* ve *Onosma nigricaula* bitki özütü sırasını izleyerek azaldığı tespit edildi (400 µg/ml dozda rutin % 72, *Allium czelghauricum* özütü % 22,44, *Lathyrus karsianus* özütü % 14,70 ve *Onosma nigricaula* özütü % 10,96 oranında nitrik oksit'i temizledi). Farklılık rutin ile bitki özütleri arasında anlamlı bulunmuştur (P<0.01). Ancak bitki özütleri arasında nitrik oksit süpürücü farklılık önemsiz olarak tespit edildi. Polifenolik bileşik oranları göz önüne alındığında bitki özütlerinin rutin maddesine yakın derecede süpürücü etki gösterdiği belirlenmiştir.

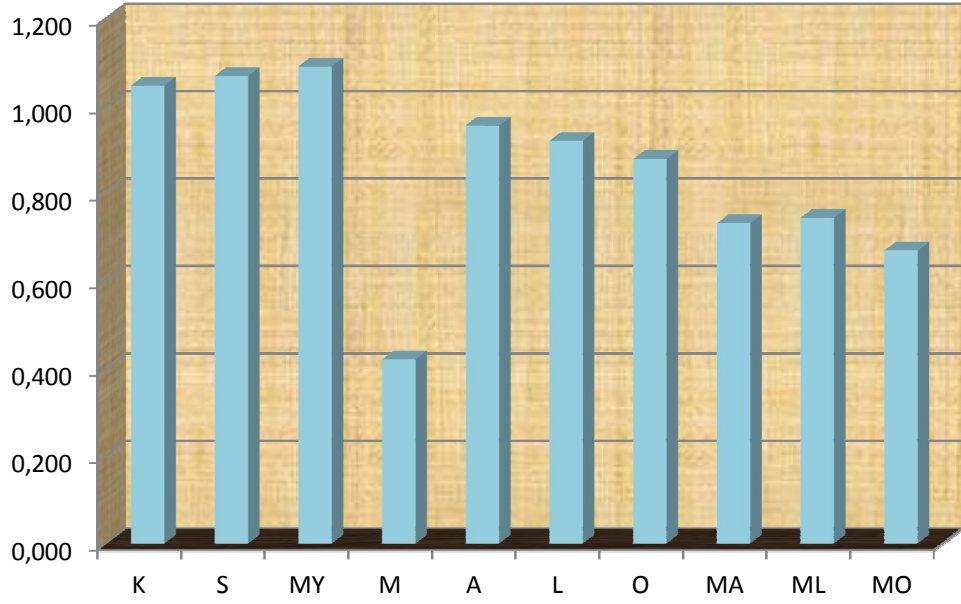
### 3.3. Plazma Total Antioksidan Kapasiteleri

Gruplarda erken ölüm görülmüş olup, bunların adetleri aşağıdaki Tablo 3.1'de anlaşılmaktadır. Erken ölen hayvanlar hesaplama dahil edilmemiştir. Grupların plazma total antioksidan düzeylerinde gözlenen değişimler Tablo 3.1 ve Grafik 3.3'te gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Gözlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L.)

Gruplar	$\bar{X} \pm Sx$
<b>K</b> (n=7)	1.047 $\pm$ 0.053 <sup>a</sup>
<b>S</b> (n=7)	1.069 $\pm$ 0.043 <sup>a</sup>
<b>MY</b> (n=7)	1.091 $\pm$ 0.072 <sup>a</sup>
<b>M</b> (n=10)	0.421 $\pm$ 0.029 <sup>b</sup>
<b>A</b> (n=10)	0.956 $\pm$ 0.092 <sup>ac</sup>
<b>L</b> (n=10)	0.921 $\pm$ 0.060 <sup>ac</sup>
<b>O</b> (n=9)	0.879 $\pm$ 0.097 <sup>ac</sup>
<b>MA</b> (n=9)	0.732 $\pm$ 0.030 <sup>d</sup>
<b>ML</b> (n=9)	0.745 $\pm$ 0.078 <sup>d</sup>
<b>MO</b> (n=9)	0.670 $\pm$ 0.034 <sup>d</sup>

a, b, c, d : Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).



Grafik 3.3: Plazma Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmol Trolox Equiv./L)

Plazma total antioksidan kapasiteleri (TAK) gruplara göre kıyaslama yapıldığında, kontrol, serum ve mısır yağı gruplarının total antioksidan kapasiteleri diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. TAK malatyon verilen grupta düşük olarak tespit edilmiştir. Yalnızca bitki özütü verilen gruplarda hesaplanan TAK dereceleri kontrol gruplarıyla benzer bulunmuştur. Ancak elde edilen sonuçlara göre bitki özütlerinin malatyonla birlikte verilmesinin TAK değerini artırdığı görülmektedir. Kontrol grubu ile malatyon ve malatyon ile birlikte verilen bitki özütü gruplarından elde edilen plazma total antioksidan düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bütün gruplarda TAK düzeylerinin kontrol, serum ve mısır yağı verilen gruplara göre düşük olduğu görülmüştür.

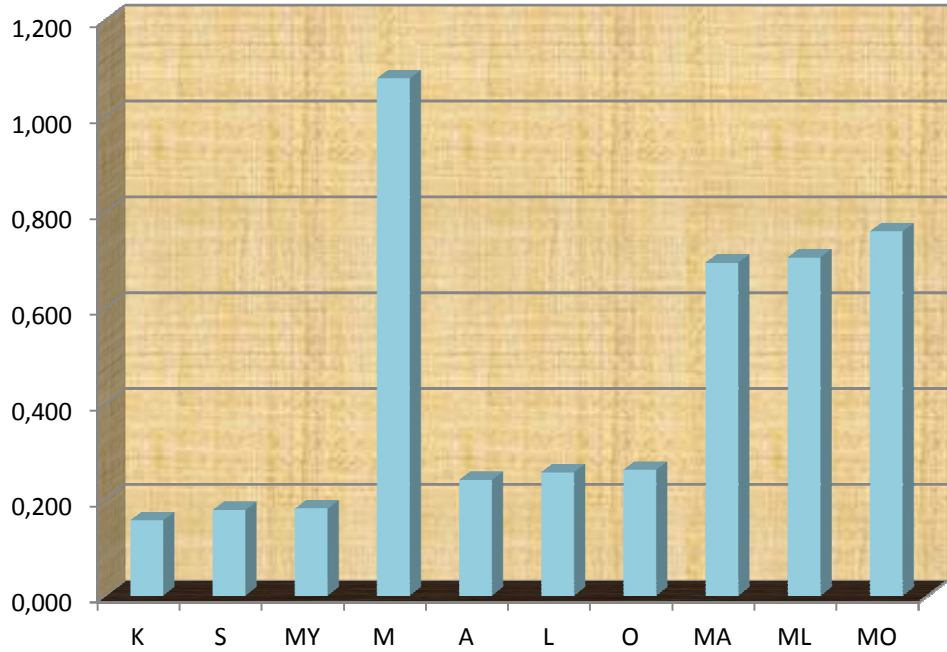
#### 3.4. Plazma Total Oksidan Kapasiteleri

Grupların plazma total oksidan kapasitelerinde belirlenen değişimler Tablo 3.2 ve Grafik 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.2: Plazma Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L.)

Gruplar	$\bar{X} \pm S_x$
<b>K</b> (n=7)	0,157 $\pm$ 0,636 <sup>a</sup>
<b>S</b> (n=7)	0,178 $\pm$ 1,244 <sup>a</sup>
<b>MY</b> (n=7)	0,181 $\pm$ 0,823 <sup>a</sup>
<b>M</b> (n=10)	1,078 $\pm$ 2,166 <sup>b</sup>
<b>A</b> (n=10)	0,241 $\pm$ 1,026 <sup>ac</sup>
<b>L</b> (n=10)	0,257 $\pm$ 0,482 <sup>ac</sup>
<b>O</b> (n=9)	0,262 $\pm$ 0,546 <sup>ac</sup>
<b>MA</b> (n=9)	0,694 $\pm$ 1,039 <sup>d</sup>
<b>ML</b> (n=9)	0,705 $\pm$ 0,702 <sup>d</sup>
<b>MO</b> (n=9)	0,759 $\pm$ 0,634 <sup>d</sup>

a, b, c, d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.05$ ).

Grafik 3.4: Plazma Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L)

Plazma total oksidan kapasiteleri (TOK) kontrol, serum ve mısır yağında düşük bulunmuştur. TOK düzeyinin malatiyon grubunda en yüksek düzeyde olduğu



görülmektedir. Bitki özütü verilen gruplarda yapılan TOK düzeylerinin kontrol grubuna yakın olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bitki özütlerinin malatyonun ortaya çıkardığı oksidasyonu azalttığı belirlenmiştir. Ancak, bu malatyon ile birlikte bitki özütü verilen gruplardan elde edilen sonuçlar kontrol grubundan yüksek tespit edilmiştir. Farklılıklar en fazla malatyonla kontrol grubu arasında olup, istatistiksel açıdan önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). TOK düzeyleri, malatyon ve bitki özütlerinin birlikte verildiği grupların kendi aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark göstermemiştir.

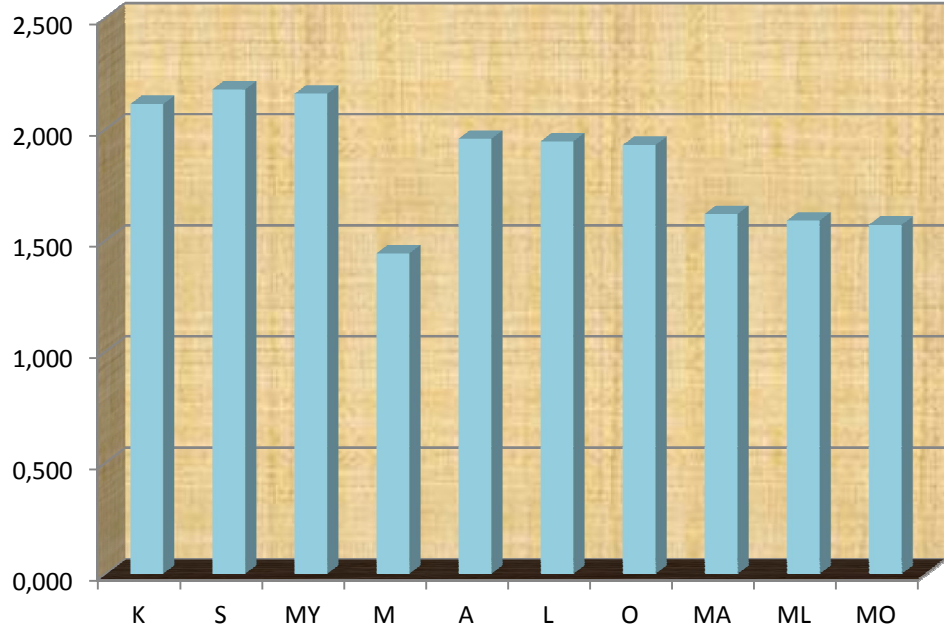
### 3.5. Karaciğer Total Antioksidan Kapasiteleri

Grupların karaciğer total antioksidan kapasitelerinde belirlenen değişimler Tablo 3.3 ve Grafik 3.5'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3: Karaciğer Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmolTrolox Equiv./L.)

Gruplar	$\bar{X} \pm S_x$
<b>K</b> (n=7)	2,112 $\pm$ 0,183 <sup>a</sup>
<b>S</b> (n=7)	2,178 $\pm$ 0,185 <sup>a</sup>
<b>MY</b> (n=7)	2,158 $\pm$ 0,186 <sup>a</sup>
<b>M</b> (n=10)	1,441 $\pm$ 0,160 <sup>b</sup>
<b>A</b> (n=10)	1,956 $\pm$ 0,163 <sup>ac</sup>
<b>L</b> (n=10)	1,945 $\pm$ 0,167 <sup>ac</sup>
<b>O</b> (n=9)	1,928 $\pm$ 0,140 <sup>ac</sup>
<b>MA</b> (n=9)	1,618 $\pm$ 0,182 <sup>d</sup>
<b>ML</b> (n=9)	1,588 $\pm$ 0,091 <sup>d</sup>
<b>MO</b> (n=9)	1,569 $\pm$ 0,120 <sup>d</sup>

a, b, c, d : Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0.05$ ).



Grafik 3.5: Karaciğer Total Antioksidan Kapasitelerinde Belirlenen Değişimler (mmol Trolox Equiv./L)

Karaciğerdeki total antioksidan kapasitelerinin malatyon verilen gruplarda kontrol grubuna göre düştüğü görülmüştür. Bitki özütlerinin malatyon verilen gruplarda antioksidan kapasiteyi artırdığı tespit edilmiştir. Bu fark kontrol gruplarına göre önemli bulunmuştur.

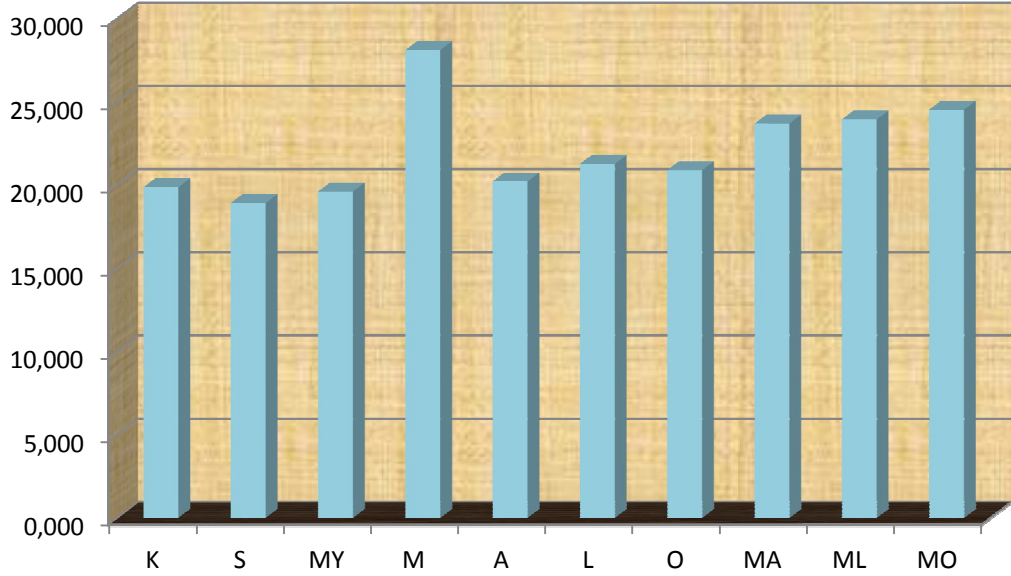
### 3.6. Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri

Grupların karaciğer total oksidan kapasitelerinde belirlenen değişimler Tablo 3.4 ve Grafik 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.4: Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L.)

Gruplar	$\bar{X} \pm S_x$
<b>K</b> (n=7)	19,854 $\pm$ 0,669 <sup>a</sup>
<b>S</b> (n=7)	18,906 $\pm$ 0,935 <sup>a</sup>
<b>MY</b> (n=7)	19,597 $\pm$ 0,410 <sup>a</sup>
<b>M</b> (n=10)	28,092 $\pm$ 0,631 <sup>b</sup>
<b>A</b> (n=10)	20,203 $\pm$ 0,661 <sup>a</sup>
<b>L</b> (n=10)	21,254 $\pm$ 0,632 <sup>a</sup>
<b>O</b> (n=9)	20,883 $\pm$ 0,569 <sup>a</sup>
<b>MA</b> (n=9)	23,678 $\pm$ 1,284 <sup>c</sup>
<b>ML</b> (n=9)	23,924 $\pm$ 1,101 <sup>c</sup>
<b>MO</b> (n=9)	24,505 $\pm$ 0,854 <sup>c</sup>

a, b, c : Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0.05$ ).

Grafik 3.6: Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L)

Karaciğer Total Oksidan Kapasiteleri kontrol grubuna göre, malatyon verilen grupta yüksek olarak bulundu. Elde edilen verilere göre bitki özütlerinin kontrol grubuna göre malatyonun neden olduğu oksidasyonu azalttığı belirlendi ( $p < 0.05$ ).

Kontrol, serum, mısır yağı ve yalnızca bitki özütü verilen gruplar arasında karaciğer oksidanları açısından belirgin bir farkın olmadığı gözlemlendi.

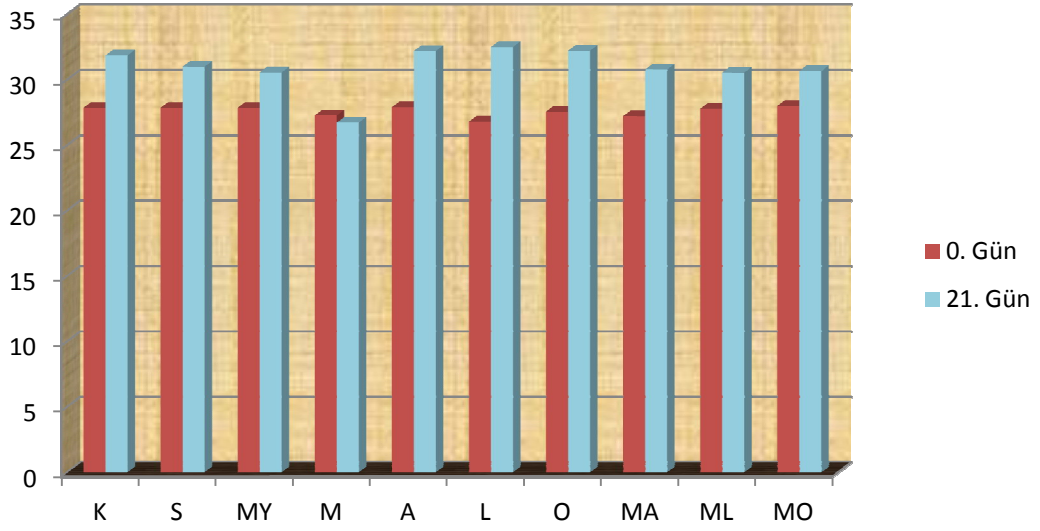
### 3.7. Canlı Ağırlık Ölçümü

Deney gruplarının canlı ağırlıklarındaki 0. Gün ile 21. Gün değişimleri Tablo 3.5 ve Grafik 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3.5: Canlı Ağırlık Ölçümü (g)

Gruplar	0. Gün	21. Gün
	X ± Sx	X ± Sx
<b>K</b> (n=7)	27,86 ± 2,77	31,86 ± 3,01
<b>S</b> (n=7)	27,86 ± 2,80	31,00 ± 2,45
<b>MY</b> (n=7)	27,86 ± 2,42	30,57 ± 1,62
<b>M</b> (n=10)	27,27 ± 2,31	<b>26,72 ± 1,33*</b>
<b>A</b> (n=10)	27,90 ± 2,63	32,20 ± 1,23
<b>L</b> (n=10)	26,80 ± 2,87	32,50 ± 1,35
<b>O</b> (n=9)	27,56 ± 2,08	32,22 ± 1,15
<b>MA</b> (n=9)	27,22 ± 1,58	30,78 ± 1,41
<b>ML</b> (n=9)	27,78 ± 1,58	30,56 ± 1,17
<b>MO</b> (n=9)	28,00 ± 3,43	30,67 ± 2,52
<b>Genel Ortalama</b>	<b>27,58 ± 0,76</b>	<b>30,90 ± 0,56</b>

\* : İstatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).



Grafik 3.7: Canlı Ağırlık Ölçümü (g)

Grupların belirlenen zaman diliminde canlı ağırlıkları karşılaştırıldığında 0. Günde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Ancak, 21. Gün ağırlıklarında malatyon grubunda diğer gruplara göre canlı ağırlıklarında bir azalma meydana geldiği görülmüştür. Buda istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

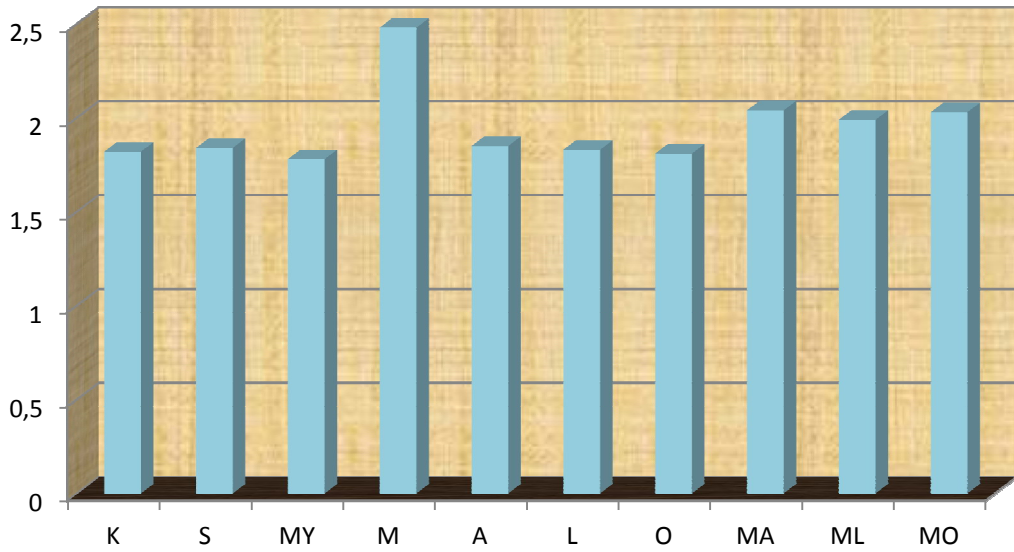
### 3.8. Karaciğer Ağırlık Ölçümü

Deney grupların karaciğer ağırlıklarında belirlenen değişimler Tablo 3.6 ve Grafik 3.8'de gösterilmiştir.

Tablo 3.6: Karaciğer Ağırlık Ölçümü (g)

Gruplar	X ± Sx
<b>K</b> (n=7)	1,92 ± 0,15
<b>S</b> (n=7)	1,84 ± 0,13
<b>MY</b> (n=7)	1,78 ± 0,12
<b>M</b> (n=10)	<b>2,48 ± 0,10*</b>
<b>A</b> (n=10)	1,65 ± 0,13
<b>L</b> (n=10)	1,91 ± 0,05
<b>O</b> (n=9)	1,90 ± 0,06
<b>MA</b> (n=9)	1,99 ± 0,09
<b>ML</b> (n=9)	1,96 ± 0,09
<b>MO</b> (n=9)	1,98 ± 0,06
<b>Genel Ortalama</b>	<b>1,87 ± 0,03</b>

\* : İstatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).



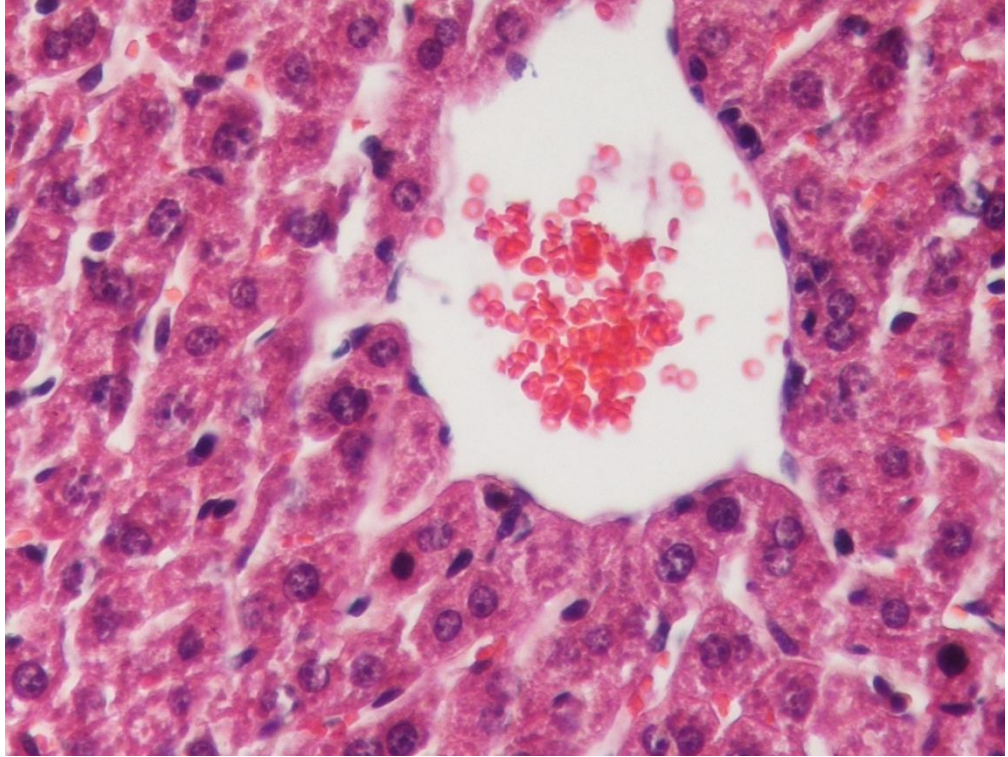
Grafik 3.8: Karaciğer Ağırlık Ölçümü (g)

Deney gruplarının karaciğer ağırlıkları 21 günlük deneme sonrasında karşılaştırıldığında malatyon grubunda diğer gruplara göre karaciğer ağırlığında bir artışın meydana geldiği görülmüştür. Buda istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

### 3.9. Histopatolojik Bulgular

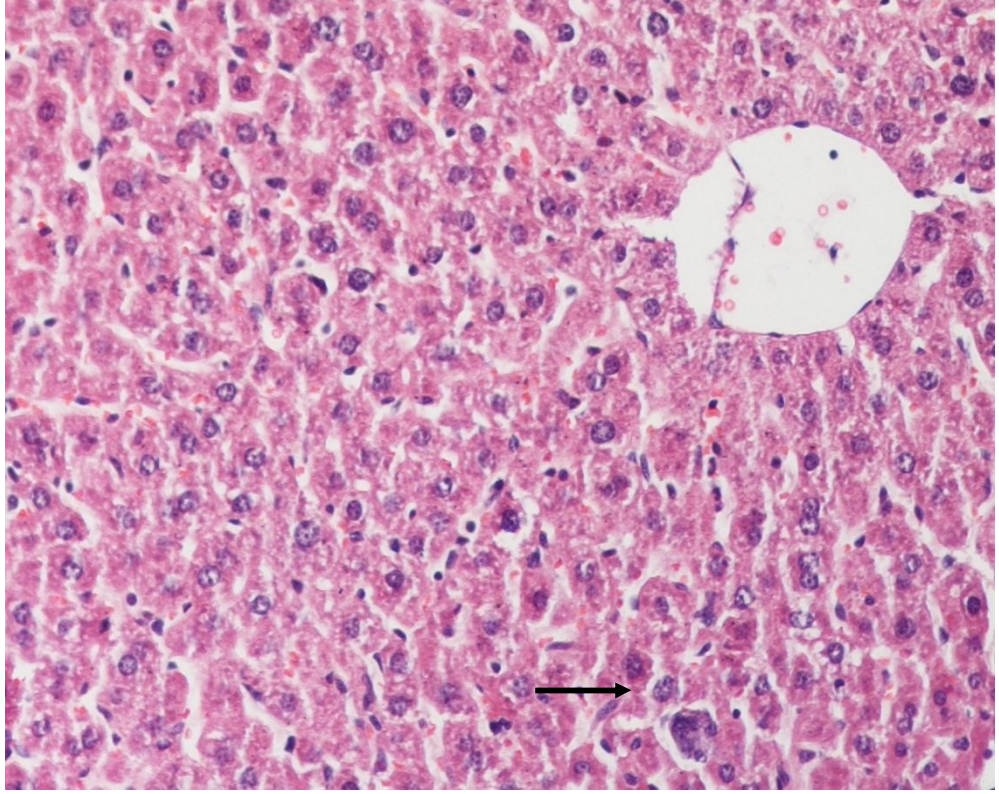
Bütün gruplardaki farelerden alınan karaciğer örneklerindeki hasar materyal ve metotta bildirilen kriterlere göre semi-kantitatif olarak derecelendirildi.

Kontrol grubunda karaciğer toksikasyonun en önemli kriteri olan diffuz, fokal parankimal ya da sentrilobüler (periasiner, zon 3) karaciğer nekrozu tespit edilemedi (Resim 3.1). Malatyon verilen gruptaki farelerin karaciğerinde parankimal, hafif-orta derecede, koagulatif yapıda nekroz belirlendi. Ayrıca vena sentralisler etrafındaki hepatositlerde vakuoler dejenerasyon ve karaciğer parankiminde rejenere olan çok çekirdekli hepatositler görüldü (Resim 3.2). Malatyon ile birlikte bitki özütü verilen gruplardaki farelerin karaciğerinde ise sınırlı bir anizositozis ile anizokaryozis görüldü (Resim 3.3).



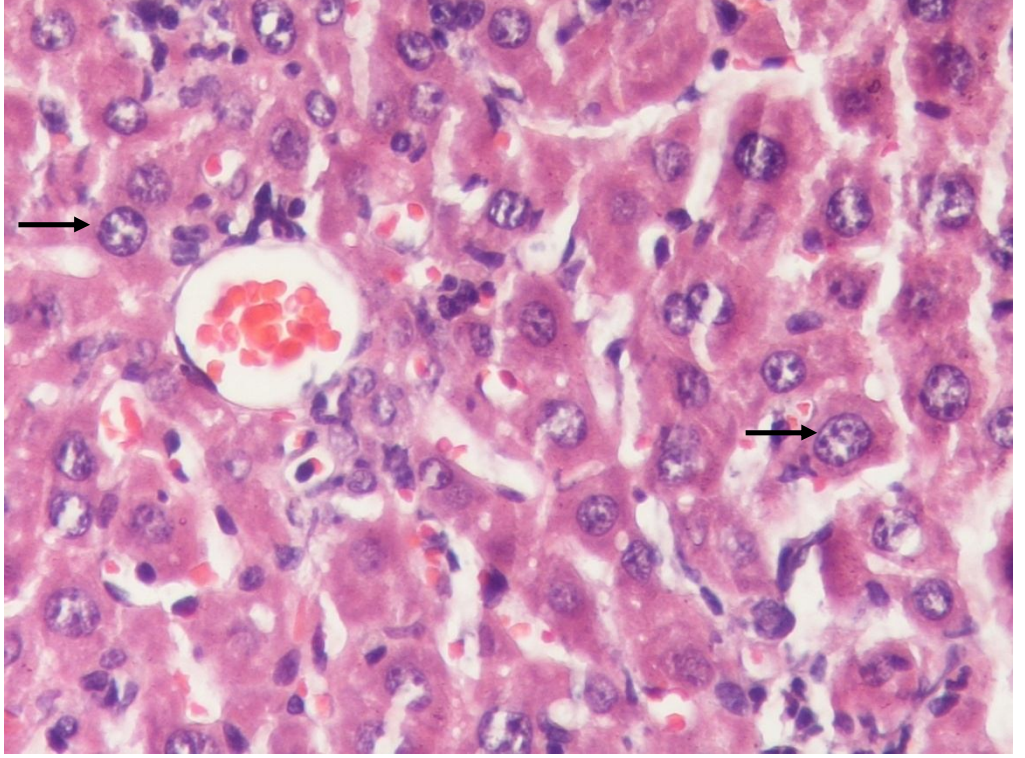
Resim 3.1: Vena Centralis Etrafında Nispeten Normal Hepatositler. (H.E. x40).





Resim 3.2: Vena Centralisler Etrafindaki Hepatositlerde Vakuoler Dejenerasyon ve Karaciğer Parankiminde Rejenere Olan Çok Çekirdekli Hepatosit (ok). (H.E. x20).





Resim 3.3: Hepatositlerde Hafif Anizositozis ve Anizokaryozis (oklar). (H.E. x40).

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tarım alanlarından daha fazla verim almak ve ürünlerin bozulmasını geciktirmek için günümüzde pestisit uygulamalarının yaygın olarak yapıldığı görülmektedir. Yanlış uygulamalara bağlı olarak insan ve hayvanlarda zaman zaman zehirlenmelere rastlanılmaktadır. Bu maddelerin yaygın bulunması kolayca suistimal edilebilmelerine de neden olmaktadır. Çevrenin ve tarım ürünlerinin pestisitlerle kontamine olduğu bilinmektedir. Bu sorun özellikle pestisitlerin yaygın olarak kullanıldığı tarım alanlarında görülmektedir. Hayvanlar pestisitleri doğrudan bitkilerden gıdaları ile alabileceği gibi, pestisitlerin paraziter mücadelede kullanılmaları nedeniyle ilaç şeklinde de alabilmektedirler. Yüksek doz veya tolerans düzeylerinin üzerinde pestisitlerin alınması zehirlenmelerin önemli nedenleri arasında sayılmaktadır (29).

Günümüzde tarımsal mücadelede kullanılan çok sayıda pestisit türü bulunmaktadır. Bunlar doğal ve yarı-sentetik olarak elde edilmektedirler. Sentetik bileşikler organik klorlu, fosforlu, karbamatlı bileşikler, piretroid ve nikotinoidler şeklinde sınıflandırılırlar. Bunlar içerisinde en fazla bilinen gruptan birini organik fosforlu insektisitler oluşturmaktadır.

Organik fosforlu insektisitler içerisinde malatyon, paratyon, diklorvos vs çok sayıda bileşik bulunmaktadır. Malatyon fazla kullanılan organik fosforulardandır. Mukozalardan kolay emilerek kana geçer. Vücutta biyoaktivasyona uğrar. Etki mekanizmaları otonom gangliyonlar, nöromüsküler kavşaklar ve parasempatik sinir sisteminin postganliyoner kavşaklarında transmitter madde olarak görev yapan asetilkolini yıkılmayan enzim, yani asetilkolinesteraz'ı geriye dönüşümsüz bir şekilde inhibe etmelerine bağlanmıştır. Ancak malatyonun serbest radikal oluşumunu da artırdığı belirlenmiştir. Bu durum özellikle malatyonun küçük dozlarda uzun süre alınmaları durumunda daha fazla önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Serbest radikallerin yaşlanma, tümör gibi

hastalıkların ortaya çıkmasındaki rollerinin belirlenmiş olması kronik malatiyon maruziyetinin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

Serbest radikallerin oksidatif etkilerini önleyen ilaç veya gıda maddelerinin keşfi amacıyla çok sayıda araştırmalar yapılmaktadır. Yapılan araştırmalarla polifenollerin antioksidan etkileri gösterilmiştir. Bitkiler polifenollerin doğal kaynaklarını oluşturmaktadır. Bu nedenle antioksidan bitkilerin tespiti üzerinde araştırmaların yoğunlaştığı görülmektedir. Türkiye'nin flora açısından zengin olması ülkemizde bu çalışmaların önemini ayrıca ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada, *Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus* ve *Onosma nigricaula* bitki türlerinden elde edilen metanol özütlerinin malatiyonun neden olduğu oksidatif stres üzerine etkileri araştırıldı. Araştırma *in vitro* ve *in vivo* olarak planlandı. *In vitro* araştırmada bitkilerdeki polifenolik bileşiklerin düzeyleri tespit edildi. Sonra bitkinin metanol özütleri farelere uygulanarak malatiyonun neden olduğu oksidatif parametreler üzerindeki etkileri belirlendi. Genel olarak, araştırmada kullanılan bitki özütlerinin deneysel olarak oluşturulan NO radikalini süpürdüğü gözlemlendi. Bu etkiler standart antioksidan maddeler ile karşılaştırıldığında bitki özütlerinin oldukça yüksek derecede antioksidan aktiviteye sahip olduklarını gösterdi. Ayrıca, bu antioksidan etkilerin, bitki özütünün daha yüksek konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığı belirlendi. Çalışılan bitkiler endemik bitkiler olup, yörede yetişmektedirler. Bu bitki türleri ile ilgili daha önce herhangi bir antioksidan çalışma yapılmamış olması, çalışmanın önemini ortaya koymaktadır. Ayrıca endemik bitki türlerinin önemini anlaşılmaması ve bu bitkilere sahip çıkılması açısından da araştırma sonuçları büyük önem ve dikkat çekici olarak değerlendirilmektedir.

Bitkilerin ilaç ham maddelerini taşıması ve aynı zamanda tedavideki önemlerinin anlaşılmış olması son yıllarda üzerlerinde yaygın araştırmaların yapılmasına neden olmuştur. Serbest radikallerin ciddi hastalıklara yol açması, bitkilerin antioksidan etkileri üzerine çalışmaların yoğunlaşmasına neden olmaktadır. Bu amaçla çok sayıda araştırmaların yapıldığı görülmektedir. Cadirci ve ark. (16),

sıçanların mide dokusunda etanol tarafından oluşturulan oksidatif stres üzerine *Onosma armeniacum* bitkisinden elde edilen kök özütünün etkisini araştırmışlardır. Aynı araştırmacılar mide dokusunda bazı oksidan ve antioksidan parametreler üzerine de inceleme yapmışlardır. Çalışmada kullanılan bitki özütünün 25, 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarının etanol kaynaklı mide ülserini önemli ölçüde azalttığını, ayrıca etanol uygulanan sıçanların mide dokusunda meydana gelen hasara bağlı olarak total glutatyon (tGSH) seviyesindeki azalmayı önlediğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada bitki özütünün 100 mg/kg'lık dozu, mide dokusunda glutatyon-S-transferaz (GST) düzeyini kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde arttırmıştır. Bitki özütünün 25 mg/kg'lık dozu hariç diğer bütün dozları süperoksit dismutaz (SOD) seviyesini azaltmıştır. Yine bitki özütünün tüm dozları malondialdehit (MDA) seviyesini önemli ölçüde azaltırken, 25 mg/kg'lık dozu hariç diğer bütün dozları miyeloperoksidaz (MPO) seviyesinde azalmaya neden olmuştur. Katalaz (CAT) enzimi aktivitesi üzerine çalışmada bitki özütünün önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bitki özütünün 50, 100 ve 200 mg/kg'lık dozları nitrik oksit (NO) seviyesinde önemli bir şekilde azalmaya yol açmıştır. Araştırmada bitki özütünün bazı antioksidan mekanizmalar üzerinde koruyucu ve bazı oksidan mekanizmaların inhibisyonu üzerinde ise anti-ülser etki mekanizmasına sahip olduğu kanısına varılmıştır.

*Onosma* türlerinin kökleri Türkiye'de halk arasında bronşit, tonsillit, hemoroit ve ağrıların hafifletilmesi gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Tosun ve ark. (84), Türkiyede yayılış gösteren *Onosma aucheranum*, *Onosma isauricum*, *Onosma sericeum*, *Onosma tauricum* Pallas ex Willd. var. *Brevifolium* ve *Onosma tauricum* Pallas ex Willd. var. *tauricum* türlerinden elde edilen kloroform ve etanol özütlerinin antiinflamasyon ve antinosiseptif aktivitelerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, *Onosma aucheranum*, *Onosma isauricum* ve *Onosma sericeum* türleri etkin antiinflamasyon ve antinosiseptif aktivite sergilemiştir.

Pestisitlerin memeliler ile birlikte diğer canlı türlerinin çeşitli dokularında histopatolojik ve sitopatolojik değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Pestisitlerin

en fazla zarar verdiği dokuların başında karaciğer ve böbrekler gelmektedir. Çünkü pestisitler karaciğerde metabolize edilmekte ve genel olarak böbrekler ile vücuttan atılmaktadır (41, 78, 82, 83,). Bu olumsuz etkilerin ortaya çıkmasında pestisitlerin hücre yapılarıyla direkt etkileşiminin yanında, metabolizma sonucu uğradığı değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkan toksik ara ürünlerin de bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Malatyon tarım alanında antiparaziter mücadelede kullanılan ilaçlardan biridir. Malatyon hafif sarı renkte bir sıvı olup, erime noktası 2,85 °C, kaynama noktası 156-157°C olan, suda çok az, ancak organik çözücülerde çok iyi çözünebilen bir maddedir. Başta sindirim kanalı olmak üzere deri, akciğerler ve mukozalardan hızlı ve iyi emilir, vcoda dağılır. Vücudu safra, idrar ve solunum yoluyla terk eder. Vücutta karaciğer başta olmak üzere çeşitli organlarda metabolize edilmektedir. Malatyon toksik etkisini karaciğerde metaboliti olan malaoksona dönüşerek gösterir (45).

Pestisitler hem doğal bitki türlerinde hem de tarımı yapılan ekolojik türlerde antioksidatif enzim metabolizması üzerinde önemli değişikliklere neden olurlar. Akut veya kronik toksik etkileri arasında mutajenite ve organ toksisiteleri sayılabilir. Ganguly ve ark. (31), *Lathyrus sativus* türünde mevcut antioksidan enzimlerin aktivitesi, yaprak proteinlerinin düzeyi ve somatik kromozomal davranışları üzerine organofosfatlı insektisitlerin (profenofos, metil paratyon, nimbesidin) etkisini araştırmışlardır. Çalışmada *Lathyrus sativus*'un kök hücrelerinin somatik kromozomları üzerinde yapılan denemelerde anafaz köprüsü, kromozom parçaları ve kırıkları gibi yaygın olan anomali tipleri gözlenmiştir. Bu bitki türünün yaprak proteinleri üzerinde yapılan elektroforetik çalışmalarda ise bazı önemli değişikliklerin meydana geldiği grlmştir. Organofosfatlı insektisitlerin uygulanmasına bağlı olarak bazı protein bağlarının yapısında değişiklikler gözlenmiştir. Yüksek yapılı proteinlerin sentezinde organik fosforlu insektisitlerin artışa neden olduğu belirlenmiştir. Yine non-denatüre poliakrilamid jel elektroforez modelinde *Lathyrus sativus* türünde mevcut süperoksit dismutaz, esteraz ve peroksidaz enzimlerinin farklı izoformlarının oluştuğu gözlenmiştir.

Organofosfatlı insektisitlerin, yapılan çalışmalarda deney hayvanlarının vücut ağırlıklarında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (14, 20, 39). Bu çalışmada yalnızca malatyon uygulanan grup ile malatyonun bitki özütleri ile birlikte uygulandığı gruplar, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında uygulamadan 3 hafta sonra deney hayvanlarının vücut ağırlığında ve vücut ağırlığı kazanımında bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Vücut ağırlığındaki bu düşüşün nedeninin besin maddesinin alınımına ve zehirlenmeye bağlı olarak ortaya çıkabileceği tahmin edilmektedir. Çünkü 3 hafta boyunca besin alınımının bu gruplardaki deney hayvanlarında kontrol gruplarına oranla önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Bununla beraber dokularda meydana gelen nekroz ve atrofik yapılar da vücut ve organ ağırlığında bir azalmaya sebep olabilir.

Serbest radikaller aerobik metabolizma esnasında üretilerek, canlılarda lipit peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile hücrelerin ölümüne kadar gidebilen bir dizi etkilere yol açabilmektedirler. Oksidatif strese bağlı olarak çok sayıda hastalık görülebilmektedir. Bunlar arasında alzheimer, parkinson, romatoid artrit, diabetes mellitus gibi rahatsızlıklar sayılabilir. Bu tip hastalıkların serbest radikallere bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Yine yaşlanmada da serbest radikallerin rolünün olduğu düşünülmektedir. Yaşlanmada serbest radikallerin vücutta aşırı derecede birikmesinin ya da serbest radikallerin hücrelerin tamir yeteneğini bozmasının bir rolü olduğu ileri sürülmektedir. Çok sayıda literatüre göre günlük olarak besinlerle birlikte alınan antioksidanların, serbest radikallere karşı korunmada yararlı olduğu ve insanları kanser dahil pek çok hastalığa karşı koruyabildiği bildirilmektedir. Bu tip hastalıkların antioksidanlar tarafından önlenmesi ya da önlenileceği düşünülmektedir. Antioksidanlar serbest radikal üreten reaksiyonlar üzerine etki ederler. Bu tip maddeler doğrudan reaktif oksijen türlerinin (ROT) konsantrasyonunu azaltırlar (reaksiyona girerek). Ayrıca serbest radikal üretimini başlatan ilk radikali etkisiz hale getirerek de etkili olurlar. Yine yapılan çalışmalarda geçiş metalleri ile şelatlar oluşturarak etkilerini gösterebildikleri belirlenmiştir. Sonuçta vücutta serbest radikal düzeyi azalır. Bunun sonucunda lipit peroksidasyonu ve diğer olumsuz yıkımlanmalar engellenmiş olur. Antioksidanlar enzimler olabileceği gibi enzim olmayan kimyasal maddeler de olabilir. Enzimatik ve

enzimatik olmayan antioksidanların serbest radikallerin temizlenmesinde sinerjistik bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (23).

Fenolik bileşikler hidrojen ya da elektron verme özelliklerine göre antioksidan moleküller olarak görev yapmaktadırlar (89). Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli grubunu oluşturmaktadır. Polifenolik bileşikler bitkilerin tüm kısımlarında bulunmaktadır. Bitkilerde en fazla bulunan fenolik bileşiklerin başında flavonoidler, sinnamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitler gelmektedir. Bu bileşiklerin gıdaları korudukları bilinmektedir. Gıdaların hem fiziksel hem de kimyasal olarak bozunmalarını önlemektedirler. Bunu gıdalarda bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddelerin çevre ve diğer nedenlerle oksitlenmesini engelleyerek gösterirler. Oksidasyona karşı bileşiklerinin korunması gıda maddelerinin ömrünün ve kalitesinin uzamasına neden olur (85).

*Allium* türleri çok eski zamanlardan beri gıda maddesi ve tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. Yapılan birçok araştırma sonucunda bazı *Allium* türlerinin karsinogenezis, arteriosklerozis, pulmoner rahatsızlıklar ve karaciğer nekrozisi gibi çok sayıdaki hastalığı önleyebildiği bildirilmiştir. Štajner ve ark. (75), *Allium giganteum* türünün soğan, yaprak ve sap kısımlarının antioksidatif özelliklerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada bu bitki türünün antioksidan enzim aktivitesini (süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz, glutatyon peroksidaz), malondialdehit miktarını, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile indirgenmiş glutatyon miktarını ve ayrıca bitkideki total flavonoid içeriği, klorofil a, b, vitamin C ve çözünebilen protein miktarını incelemişlerdir. En yüksek antioksidan aktivite bitkinin yaprak özütünde gözlenmiştir. Ayrıca bitki özütü serbest radikal oluşumunu azaltmıştır. Yine aynı araştırmacılar *Allium ursinum* türünün antioksidan ve radikal süpürücü aktiviteleri üzerine çalışmışlardır. Bitkinin soğan, yaprak ve sap kısımlarından elde ettikleri özütlerde en yüksek antioksidan aktiviteye yaprak özütünde rastlanılmıştır ve ayrıca bitki özütü serbest radikal oluşumunda azaltmıştır (76).

Bozin ve ark. (13), sarımsakta (*Allium sativum*) antioksidan etkiye sahip olduğu bilinen fenolik bileşikler üzerinde araştırmalar yapmışlardır. Dört farklı

deneysel modelde olgunlaşmış sarımsağın soğanı ve sarımsağın olgunlaşmamış kısımlarının sulu özütlerinin antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Antioksidan aktivite bitki özütünün lipit peroksidasyonuna etkisi ile serbest radikal süpürücü kapasitesine bağlı olarak değerlendirilmiştir. Bitkinin serbest radikal süpürücü kapasitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve hidrojen peroksit radikalleri üzerine bitki özütünün süpürücü aktivitesinin ölçülmesiyle analiz edilmiştir. Bitkinin lipit peroksidasyonuna etkisi ise özütün demir iyonu indirgeme kapasitesine bağlı olarak değerlendirilmiştir. Bitki özütü doza bağlı olarak nötralize olmuş hidrojen peroksit ve DPPH radikal oluşumunu azaltmıştır. Her iki modelde de bitki özütünün lipit peroksidasyonu üzerine güçlü inhibisyon etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, sarımsak özütünde bulunan fenolik bileşikler ve flavonoidlerin bitkiye bu antioksidan özelliği kazandırdığı kanısına varılmıştır.

Yapısında bir hidroksil grubu ihtiva eden ve aromatik halka taşıyan maddeler fenolik bileşikler olarak adlandırılmaktadır (12). Taşıdıkları hidroksil grupları birden fazlaysa polifenolik bileşikler olarak adlandırılırlar. Fenol bileşikler ya da polifenolik maddeler bitkilerde en fazla bulunan maddeler arasında yer alır. Bu bileşikler bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda günümüzde 8000'den fazla fenolik bileşiğin yapısı açıklanmıştır. Bitkisel polifenolik bileşikler ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve bu bileşiklerin çok güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları, vücutta oluşan serbest radikalleri nötralize ederek kalp-damar hastalıklarını engelledikleri ve hatta yaşlanmayı geciktirdikleri rapor edilmiştir. Polifenolik bileşiklerin, yüksek kimyasal aktiviteye sahip olmaları, ayrıca DNA, enzimler ve proteinlere bağlanabilme özelliği göstermeleri nedeniyle serbest radikallere karşı önemli bir savunma mekanizmasını oluşturdukları bilinmektedir (40).

Pastor-Cavada ve ark. (65), Güney İspanya'da yayılış gösteren 15 *Lathyrus* türü bitkilerin tohumlarında bulunan polifenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri üzerine araştırma yapmışlardır. Yapılan çalışmada genelde, doğal olarak yetişen *Lathyrus* türlerinin, tarımı yapılan türlerine göre daha yüksek oranda fenolik bileşik ihtiva ettiği belirtilmiştir. Tohum büyüklüğü ile fenolik bileşik miktarı arasında



negatif bir korelasyonun olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada küçük tohumların zarlarında daha yüksek oranda fenolik bileşiklere rastlanmıştır. *Lathyrus annuus*'un antioksidan etkisi yüksek olan fenolik bileşikler içerdiği tespit edilmiştir. Bu bitkinin taşıdığı fenolik bileşiklerin ticari öneme sahip soya, bakla ve nohut gibi besin maddelerinden elde edilen fenolik bileşiklerden iki kat daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, *Lathyrus* türlerinin, besin maddesi olarak yaygın bir şekilde tüketilen diğer türlerine göre antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler bakımından daha zengin olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca *Lathyrus* türlerinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin kaynağı olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir ve antioksidan amaçla bu türlerin tarımının yapılabilmesi öngörülmüştür.

Fenolik bileşikler bitki, sebze ve meyvelerin önemli bileşenlerinden olup hidroliz ya da oksidasyonla kolaylıkla bozunabilmektedirler ve aynı zamanda çeşitli moleküllerle kovalent bağlı ürünler ya da kovalent yapıda olmayan kompleksler oluşturabilmektedirler (18). Prakash ve ark. (68), *Allium cepa*'nın 4 farklı türünün total fenolik içeriği ile antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktiviteleri üzerine araştırma yapmışlardır. Bu *Allium* türlerinin reaktif oksijen türleri tarafından meydana getirilen DNA hasarına karşı koruyucu olabileceği, ayrıca antioksidan özelliği ve serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olmaları ile fenolik bileşiklerin zengin bir kaynağını oluşturduğu öngörülmüştür.

*Allium* türleri polifenolik grubu bileşiklerden flavonoidlerin önemli kaynaklarından birisidir. Tepe ve ark. (80), Türkiyede endemik olan beş *Allium* (*A. nevsehirensense*, *A. sivasicum*, *A. dictyoprosum*, *A. scrodoprosum*, *A. atroviolaceum*) türünün metanol özütünü antioksidan aktiviteleri açısından *in vitro* olarak incelemişlerdir. Bitki özütlerine olası antioksidan aktiviteleri açısından DPPH radikal süpürme kapasite testi ve  $\beta$ -karoten/linoleik asit analiz testi uygulanmıştır. *Allium* türlerinin metanol özütleri polar yapıda antioksidan aktivite gösterirken, non-polar yapıda herhangi bir aktivite sergilememiştir. Polar yapıda en fazla antioksidan aktiviteyi *Allium atroviolaceum* türü göstermiştir.  $\beta$ -karoten/linoleik asit modelinde ise linoleik asit oksidasyonunun inhibisyon oranı diğer türlerine göre en fazla *Allium*

*atroviolaceum* ve *Allium dictyoprosom*'da görülmüştür. Bu çalışmada da antioksidan maddeler arasında bulunan polifenolik bileşikler *Allium* türünde diğer bitkilerden daha yüksek bulunmuştur (62,85 µg/mg).

Malatyon organofosfatlı bir insektisit türü olup, tarımda, veteriner hekimlik ve halk sağlığı alanında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, bilinçsiz kullanılmasının çeşitli sorunlara yol açtığı bilinmektedir. Geniş tarım alanları ile yerleşim bölgelerine yakın yerlere fazla miktarlarda uygulanan malatyon, ciddi çevre kirliliğine ve zehirlenmelere neden olabilmektedir. Yaygın kullanılması sağlık açısından potansiyel bir risk taşımaktadır (6). Pestisit kalıntılarında toprak, su kaynakları, sebzeler, tahıl ürünleri ve diğer gıda ürünlerinde rastlanmaktadır (38). Benzer şekilde malatyon kalıntılarında da rastlanılmaktadır. Bu kalıntıların tüketilmesi çeşitli sağlık sorunları doğurabilir. Oksidatif strese neden olabilir.

Yapılan çok sayıda çalışmada malatyonun akut olarak maruz kalınması durumunda ve kronik olarak zehirlenme sonrasında hiperglisemia dahil pek çok metabolik hastalığın ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, serbest radikallerin aşırı üretilmesi ve oksidatif stres üzerine malatyonun etkisi birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Larsam ve ark. (52), yetişkin ratlarda glukoz homeostasisi üzerine organofosfatlı bir insektisit türü olan malatyonun akut uygulanma sonrası 24 saatlik kinetik etkisini araştırmışlardır. Ratlara malatyonun düşük dozu oral yolla verilmiş ve kan glukoz seviyesi ölçülmüştür. Ayrıca, karaciğer ve pankreasta hepatik glikojen düzeyi, pankreatik asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzim aktiviteleri ile birlikte TBARs (Tiyobarbitürik asit reaktif yapılar) düzeyi tespit edilmiştir. Düşük doz malatyon verilen ratlarda kan glukoz seviyesi artmış, uygulamadan 6-12 saat sonrasında glikojen depolanmaya başlamıştır. Kolinesteraz enzim aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Karaciğer ve pankreasta TBARs düzeyi artış göstermiştir. Bu sonuçlar, pankreasın hiperglisemiye bağlı endokrin fonksiyonlarındaki bir azalma ve karaciğer tarafından glikojenolizis ve glukoneojenezisin uyarılması ile açıklanabilmektedir.

Uzun ve Kalender (87), erkek ratlarda malatyonun neden olduğu nefrotoksik etki üzerine vitamin C ve E'nin koruyucu etkisi üzerine araştırma yapmışlardır. Vitamin C (200 mg/kg gün)+vitamin E (200 mg/kg gün), malatyon (27 mg/kg gün), vitamin C (200 mg/kg gün)+vitamin E (200 mg/kg gün)+malatyon (27 mg/kg gün) erkek ratlara gavaj yoluyla verilmiştir. Uygulamadan 4 hafta sonra ratların besin tüketimi hesaplanmış, vücut ve böbrek ağırlıkları tartılmış, ışık mikroskopuyla böbrekte histopatolojik değişiklikler incelenmiş, kandaki üre, ürik asit ve kreatinin düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Dört hafta sonra malatyon uygulanan grup ve vitamin C+vitamin E+malatyon uygulanan grubun besin tüketiminde, vücut ve böbrek ağırlıklarında azalma gözlenmiştir. Ayrıca ratların böbreklerinde mononükleer hücre infiltrasyonu, glomerular atrofi ve bazal laminada ayrılma tespit edilmiştir. Deney gruplarının kanlarında üre, ürik asit ve kreatin seviyesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, vitamin C ve vitamin E'nin, malatyonun neden olduğu nefrotoksik etki üzerine koruyucu etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

John ve ark. (38), rat eritrositlerinde dimetoat ve malatyon tarafından meydana getirilen oksidatif strese karşı vitamin E'nin koruyucu etkisi üzerine araştırma yapmışlardır. Dimetoat ve malatyonun düşük dozu (% 0,01 LD<sub>50</sub>) ratlara uygulanmadan önce vitamin E oral olarak haftada iki kez olmak üzere 6 hafta süreyle 250 mg/kg dozda verilmiştir. Dimetoat ve malatyon uygulanan ratların eritrositlerinde lipit peroksidasyonu artış gösterirken, vitamin E verilen ratların eritrositlerinde bir azalma meydana gelmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında dimetoat ve malatyon uygulanan ratların eritrositlerinde total-SH içeriği, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ile oksidatif streste bir artış olduğu gözlenmiştir. Bu araştırmada Vitamin E'nin organik fosfat indüklü oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin olduğu görülmüştür. Eritrositlerdeki glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi, organik fosfat zehirlenmesi olan ratlarda inhibe olmuştur. Sonuç olarak vitamin E'nin eritrositlerde antioksidan savunma sistemini düzenlediği ve lipit peroksidasyonunda meydana gelen azalmaya bağlı olarak organik fosfat indüklü oksidatif strese karşı koruyucu bir role sahip olduğu söylenebilir.

Alp ve ark. (5), akut malatiyon toksikasyonuna maruz kalan ratların akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşan malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH) ve nitrik oksit (NO) aktiviteleri üzerine kafeik asit fenil ester (CAPE) ve elajik asitin (EA) etkilerini incelemişlerdir. Akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında redükte GSH, MDA ve NO düzeyleri spektrofotometrik yöntemle kolorometrik olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu ile CAPE ve EA grupları redükte GSH, MDA ve NO aktiviteleri açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı, malatiyonun karaciğer dokusunda MDA düzeyini önemli derecede arttırdığı, CAPE'nin malatiyonun toksik etkisini engelleyerek MDA seviyesini anlamlı şekilde azalttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, malatiyonun akciğer, karaciğer ve böbrek dokusunda redükte GSH düzeyini azalttığını, buna karşın CAPE ve EA'nın ise redükte GSH düzeyini arttırdığını tespit etmişlerdir. Malatiyonun neden olduğu şiddetli doku hasarına bağlı olarak NO düzeyinin önemli derecede arttığı, fakat CAPE ve EA'nın NO düzeyini azalttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, CAPE ve EA'nın birbirine benzer şekilde etki gösterdiği ve akut malatiyon zehirlenmesinin neden olduğu oksidatif stres ve doku hasarına karşı koruyucu amaçla kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Ahmed ve ark. (2), ratlarda malatiyon tarafından meydana getirilen oksidatif stres üzerine zencefil (*Zingiber officinales* Rosc)'in etkisini araştırmışlardır. Subkronik olarak malatiyona maruz bırakılan ratlarda lipit peroksidasyonu, glutatyon ve buna bağlı enzimler ile serbest oksijen radikallerini süpüren enzimler üzerine değerlendirme yapmışlardır. Dört hafta süreyle 20 ppm düzeyinde malatiyon uygulanan ratların serumlarında malondialdehit (MDA) seviyesi, eritrositlerinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesi ile yine serumlarında glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktivitesinde bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca kanda glutatyon (GSH) seviyesinde bir azalma gözlenmiştir. Ratlara günlük olarak besin ile birlikte verilen zencefilin (*Zingiber officinales* Rosc) lipit peroksidasyonunu ve oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, organofosfat indüklü zehirlenmelerde serbest radikal oluşumunun arttığı, zencefilin ise buna karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle zencefilin tıbbi öneme

sahip bir bitki türü olduğu ve bu bitkiden elde edilen ürünlerin de faydalı olabileceği belirtilmiştir.

Kalender ve ark. (42), ratlarda malatyon indüklü hepatotoksisite üzerine vitamin C ve E'nin etkisini incelemiştir. Ratlara dört hafta süreyle günlük olarak 27 mg/kg dozda malatyon ve 200 mg/kg dozda vitamin C + vitamin E oral gavaj yoluyla verilmiştir. Dördüncü haftanın sonunda hem malatyon verilen grubun hem de malatyon + vitamin uygulanan grubun beyaz kan hücreleri ve trombosit miktarı kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmıştır. Bu iki grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, serumda total kolesterol düzeyi, alkalik fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim düzeyinin oldukça yüksek olduğu, ayrıca trigliserit ve düşük densiteye sahip lipoprotein (VLDL) düzeyinde önemli ölçüde azalma olduğu görülmüştür. Malatyon uygulanan gruptaki ratların serum total protein ve albümin seviyesinde de önemli ölçüde düşüş olduğu görülmüş, ancak malatyon + vitamin uygulanan gruptaki ratların bu parametreler bakımından kontrol grubundan farklı olmadığı tespit edilmiştir. Işık mikroskobu analizi ile hem malatyon verilen grubun hem de malatyon + vitamin verilen grubun karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiş ve malatyon verilen gruptaki ratlarda bazı patolojik bozukluklara rastlanmıştır. Sonuç olarak, vitamin C ve E'nin malatyonun neden olduğu hepatotoksisiteyi azaltabildiği, ancak koruyucu etkilerinin sınırlı olduğu belirtilmiştir.

Dere ve ark. (27), malatyonun farelerde karaciğer, böbrek ve ince bağırsak alkalik fosfataz enzim aktivitesi üzerine etkisini incelemiştir. Farelere intraperitoneal yolla 40 mg/kg dozda malatyon verilmiştir. Malatyon uygulamasını takiben 0, 4, 8, 16 ve 24. saat sonunda hayvanlar, servikal dislokasyon yoluyla öldürülüp, dokuları alınmıştır. İncelenen dokularda malatyonun böbrek alkalik fosfataz enzim aktivitesini artırıp, karaciğer ve ince bağırsak alkalik fosfataz enzim aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir.

Kayhan ve ark. (46), wistar albino sıçanların böbrek dokusunda endosulfan ve malatyonun neden olduğu doku hasarını histopatolojik yöntemlerle araştırmışlardır. Deneş gruplarına; düşük doz endosulfan (30 ml/gün), yüksek doz endosulfan (50 ml/gün), düşük doz malatyon (30 ml/gün) ve yüksek doz malatyon (50 ml/gün) 15 gün süreyle intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Endosulfan ve malatyonun kronik etkisini görebilmek için tüm sıçanlar servikal dislokasyon yoluyla öldürülmüş ve histolojik çalışmalar için uygun teknikler kullanılarak böbrek dokuları alınmıştır. Endosulfan ve malatyonun farklı dozları böbrek dokusunda belirgin bazı yapısal değişikliklere neden olmuştur ve tübüler dilatasyon, tübüler epitelde dejenerasyonlar ve böbrek korteksinin kortikal ve medulla kısımlarında kanamalar gözlenmiştir. Sonuç olarak; böbrek dokusunda doza bağlı olarak doku hasarının oluştugu tespit edilmiştir.

Possamai ve ark. (67), sıçanlarda akut ve subkronik malatyon zehirlenmesi sonrasında meydana gelen oksidatif stres üzerine inceleme yapmışlardır. Sıçanlara intraperitoneal yolla 25, 50, 100 ve 150 mg/kg dozda malatyon uygulanmış ve sonra deneş hayvanlarının farklı dokularında meydana gelen oksidatif hasar tespit edilmiştir. Oksidatif stres, tiyobarbitürik asit reaktif yapısının (TBARS) düzeyine bağlı olarak gelişen lipit peroksidasyonu, karbonil grubunun düzeyine bağlı olarak gelişen protein oksidasyonu ve süperoksit radikali ile hidrojen peroksit radikalini süpüren süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesine bağlı olarak meydana gelmiştir. Çalışma sonunda elde edilen verilere göre oksidatif hasara en duyarlı yapıların akut malatyon uygulama sonrası böbrek, akciğer ve diyafram, subkronik malatyon uygulama sonrasında ise karaciğer, serum ve kas dokusunun oluğu tespit edilmiştir. Mevcut bulgular oksidatif stres ve özellikle lipoperoksidasyonun organik fosfatlı insektisit zehirlenmesinden kaynaklandığını desteklemiştir.

Sonuç olarak, *Allium czelegauricum*, *Lathyrus karsianus* ve *Onosma nigricaula* bitki türlerinin yapraklarından elde edilen metanol özütünün *in vitro* deneş ortamlarında çeşitli serbest radikal süpürücü sistemlerle yapılan denemeleriyle elde edilen veriler, bu bitkilerin anlamlı şekilde serbest radikal süpürücü ve

antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklanmış olabilir. *In vitro* olarak antioksidan aktivitesi tespit edilen bitki özütlerinin *in vivo* deney ortamında malatyon verilen farelerde antioksidan ve oksidan parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Malatyon farelerin plazma ve karaciğer dokusunda total oksidan kapasitede artışa yol açmıştır ve buna bağlı olarak da oksidatif stresi artırdığı tespit edilmiştir. Bu artışın dokularda oluşan serbest radikal miktarındaki artışa bağlı olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda malatyon deney hayvanlarının vücut ağırlıklarında azalmaya neden olmuştur. Yine malatyon verilen farelerin karaciğer ağırlıklarında bir artışın olduğu gözlenmiştir. Bu malatyonun neden olduğu oksidatif stresten kaynaklanabilir. Bitki özütleri ise bu oksidatif stresi azaltmışlardır. Ayrıca, ışık mikroskobu analizi ile hem malatyon verilen grubun hem de malatyon + vitamin verilen grubun karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiş ve malatyon verilen gruptaki farelerde bazı patolojik bozukluklara rastlanmıştır. Malatyon verilen deney hayvanlarının plazma ve karaciğer dokularının total antioksidan kapasitelerinde bir artış gözlenmiştir. Bu durum bitki özütlerinin serbest radikallerin neden olduğu oksidatif etkiye karşı antioksidatif bir etki gösterdiği anlamına gelmektedir. Bu nedenle denenen bitkilerin tıbbi yönden önemlerinin daha iyi anlaşılabilmesi için farmakognozi, farmakodinami, farmakokinetik ve farmasötik kimya alanında çeşitli çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

## 5. ÖZET

Pestisitlerin yaygın ve bilinçsiz kullanılması canlılar üzerinde zararlı etkilere neden olmaktadır. Bu zararlı etkilerin önlenmesi ve tedavisi için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bitkilerde bulunan bazı maddelerin antioksidan etkili olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada Liliaceae familyasına ait *Allium czelghauricum*, Fabaceae familyasına ait *Lathyrus karsianus* ve Boraginaceae familyasına ait *Onosma nigricaula* bitki türlerinden elde edilen metanol özütlerinin antioksidan özelliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bitki ekstraktlarının nitrik oksit (NO) süpürücü aktivitesi ve bitkilerdeki toplam polifenolik madde miktarı *in vitro* olarak çalışıldı. Bitki ekstraktlarının malatyon verilen farelerde meydana gelen oksidan parametreler üzerine olan antioksidan etkileri *in vivo* olarak incelendi.

Bitki özütlerinin NO radikalini doza bağlı olarak çalışılan konsantrasyonlarda istatistiksel yönden anlamlı şekilde inhibe ettiği görüldü. Bitki özütlerinin önemli miktarda polifenolik bileşikleri içerdiği tespit edildi. *In vitro* çalışmada bitkilerin metanol özütlerinin antioksidan özelliklerinin olduğu ortaya kondu.

Deney hayvanları herbirinde 10 adet fare olmak üzere toplam 10 gruba ayrıldı. Hayvanlar *ad libitum* olarak su ve fare yemiyle beslendi. Birinci grup kontrol grubu olarak tutuldu ve herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci gruptaki hayvanlara 0,2 ml/kg dozda serum fizyolojik, üçüncü gruptakilere ise yine aynı dozda mısır yağı intraperitoneal olarak verildi. Dördüncü grup (100 mg/kg malatyon), beşinci grup (100 mg/kg *Allium czelghauricum*), altıncı grup (100 mg/kg *Lathyrus karsianus*), yedinci grup (100 mg/kg *Onosma nigricaula*), sekizinci grup (100 mg/kg malatyon + 100 mg/kg *Allium czelghauricum*), dokuzuncu grup (100 mg/kg malatyon + 100 mg/kg *Lathyrus karsianus*) ve onuncu gruptaki (100 mg/kg malatyon + 100 mg/kg *Onosma nigricaula*) hayvanlara belirlenen miktarlardaki maddeler günlük olarak intraperitoneal yolla enjekte edildi. Uygulamaya 21 gün süreyle devam edildi. Uygulamadan sonra farelerin serum ve karaciğerinde total oksidan ve total antioksidan kapasiteleri, vücut ve karaciğer ağırlıkları ile karaciğerde histopatolojik



değişiklikler araştırıldı. Malatyon verilen farelerin vücut ağırlıklarında azalma meydana gelirken, karaciğer ağırlıklarında artış gözlemlendi. Ayrıca histopatolojik incelemelerde malatyon verilen farelerin karaciğerinde patolojik değişimlere rastlandı. Malatyon uygulanan farelerin serum ve karaciğerinde total oksidan kapasiteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksek bulunurken, total antioksidan kapasitelerinde düşüş gözlemlendi. Malatyon+*Allium czelghauricum*, malatyon+*Lathyrus karsianus* ve malatyon+*Onosma nigricaule* muamele edilen farelerin serum ve karaciğerinde total oksidan kapasiteleri malatyon grubuna göre düşüş gösterirken, total antioksidan kapasitelerinde bir artışın olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, malatyonun neden olduğu oksidan etkiye karşı bitki özütlerinin antioksidan etki gösterdiği belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Malatyon, *Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus*, *Onosma nigricaule*, Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidan Kapasite.

## 6. SUMMARY

Extensive and unconscious usage of pesticides cause harmful effects on organisms. There are various studies to reduce and treat these harmful effects. A group of plant products are known to have antioxidant potential. In this study, we aimed to reveal antioxidant features of methanol extracts of *Allium czelghauricum*, a member of Liliaceae family, *Lathyrus karsianus*, a member of Fabaceae family, and *Onosma nigricaula*, a member of Boraginaceae family. Nitric oxide (NO) scavenging activity of plant extracts and total polyphenolic compound were studied *in vitro*. Of plant extracts antioxidant effects on mice to which malathion was given were investigated *in vivo*.

It is observed that plant extracts significantly inhibit the dose dependent concentrations of NO radical. A high amount of polyphenolic compounds were detected in plant extracts. This *in vitro* study, it was revealed that methanol extracts of plants have antioxidant effects.

Experimental animals were separated into ten groups, each consisting of ten mice. Animals were fed with water and mouse grain as *ad libitum*. First group was considered as control with no application. A dose of 0,2 ml/kg serum physiological was given to the animals in the second group and to those of third group, same amount of oil was given as intraperitoneal. Animals of, the fourth group (100 mg/kg malathion), the fifth group (100 mg/kg *Allium czelghauricum*), the sixth group (100 mg/kg *Lathyrus karsianus*), the seventh group (100 mg/kg *Onosma nigricaula*), the eighth group (100 mg/kg malathion + 100 mg/kg *Allium czelghauricum*), the ninth group (100 mg/kg malathion + 100 mg/kg *Lathyrus karsianus*), and those in tenth group (100 mg/kg malathion + 100 mg/kg *Onosma nigricaula*) were injected with determined amount. The application continued for 21 days. Afterwards, total oxidant in the mice serum, total antioxidant capacity of the liver, body weight, and histopathological changes of liver were investigated. While applied malathion mice weighed lighter, an increase in their liver was observed. Moreover, in

histopathological analysis, pathological changes in livers of applied malathion mice were detected. Total oxidant capacity of serum and liver was significantly higher compared with control group; however, a decrease was observed in total antioxidant capacity. While those mice to which malathion + *Allium czelghauricum*, malathion + *Lathyrus karsianus*, and malathion+*Onosma nigricaula* were given have a decrease in total oxidant capacity of serum and liver compared with malathion group, increase in total antioxidant capacity was detected. Thus, the antioxidant effects of plant extracts against the effects of malathion was observed.

**Key Words:** Malathion, *Allium czelghauricum*, *Lathyrus karsianus*, *Onosma nigricaula*, Total Antioxidant Capacity, Total Oxidant Capacity.

## 7. KAYNAKLAR

1. Ahmad, B., Ali, N., Bashir, S., Choudhary, M.I., Azam, S. and Khan, I.: Parasiticidal, antifungal and antibacterial activities of *Onosma griffithii* Vatke. Afr. J. Biotechnol. 8(19): 5084-5087. 2009.
2. Ahmed, R.S., Seth, V.S., Pasha, T., and Banerjee, B.D.: Influence of Dietary Ginger (*Zingiber officinales* Rosc) on Oxidative Stress Induced by Malatiyon in Rats. Food Chem. Toxicol. 38: 443-450. 2000.
3. Akçin, Ö.E.: Endemik *Onosma bornmuelleri* Hausskn.'nın Morfolojisi, Anatomisi ve Ekolojisi Üzerine Bir Araştırma. Ekoloji. 13(51):13-19. 2004.
4. Akkuş, İ.: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınevi. Sağlık Dizisi 5. Konya. 1995.
5. Alp, H., Aytekin, İ., Atakişi, O. ve Ögün, M.: Ratlarda Akut Malatiyon Toksisitesinin Neden Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenil Ester ve Elajik Asit'in Etkileri. A. Ü. Vet. Bil. Derg. 6(2): 117-124. 2011.
6. Al-Saleh, I.A.: Pesticides a review article. J. Environ. Toxicol. Oncol. 151-161. 1994.
7. Badami, S., Gupta, M.K. and Suresh, B.: Antioxidant activity of the ethanolic extract of *Striga orobanchioides*. J. Ethnopharmacol. 85: 227-230. 2003.
8. Başaran, U., Acar, Z., Aşçı, Ö.Ö., Mut, H. ve Ayan, İ.: Mürdümük (*Lathyrus Sp.*) Türlerinin Önemi, Tarımda Kullanım Olanakları ve Zararlı Madde İçerikleri. J. Fac. Agric. 22(1):139-148. 2007.

9. Binzet R. ve Orcan N.: A new species of *Onosma* L. (Boraginaceae) From Southern Turkey. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*. 17(1):8-10. 2007.
10. Binzet, R.: Doğu Akdeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren *Onosma* L. (Boraginaceae) Türlerinin Morfolojik Ve Palinolojik Özelliklerinin Nümerik Taksonomisi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 2007.
11. Block, G., Patterson, B. and Subar, A.: Fruit, vegetables, and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutr. Cancer*. 18: 1–29. 1992.
12. Boyraz, N. ve Sürel, B.: Bitki Hastalıklarına Dayanıklılıkta Fenoliklerin Rollerini. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*. 18(34): 56–69. 2004.
13. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A. and Igić, R.: Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chem*. 111: 925–929. 2008.
14. Breckenridge, C., Pesant, M., Durham, H.D. and Ecobichon, D.J.: A 30-day toxicity study of inhaled fenitrothion in the albino rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 62: 32-43. 1982.
15. Buratti, F.M., D’Aniello, A., Volpe, M.T., Meneguz, A., and Testai, E.: Malatiyon bioaktivasyon in the human liver: the contribution of different cytochrome p450 isoforms. *Drug Metab. Dispos*. 33: 295-302. 2005.
16. Cadirci, E., Suleyman, H., Aksoy, H., Halici, Z., Ozgen, U., Koc, A. and Ozturk, N.: Effects of *Onosma armeniacum* root extract on ethanol-induced oxidative stress in stomach tissue of rats. *Chem. Biol. Interact*. 170: 40-48. 2007.

17. Chew, Y.L., Chan, E.W.L., Tan, P.L., Lim, Y.Y., Stanslas, J.S. and Goh, J.K.: Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. *BMC Complement. Altern. Med.* 11(12):1-10. 2011.
18. Cheynier, V., Fulerand, H., Guyot, S., Oszmianski, J., and Moutounet, M.: Reactions of enzymically generated quinones relation to browning in grape musts and wines, (Enzymatic browning and its prevention. Editors :Lee, C.Y. and Whitaker, J.R). ACS. Washington. DC. 1995.
19. Chipault, J.R., Mizuno, G.R., Hawkins, J.M. and Lundberg, W.O.: The antioxidant properties of natural spices. *Food Res.* 17: 46-55. 1952.
20. Chung, M.K., Kim, J.C. and Han, S.S.: Developmental toxicity of flupyrzofos, a new organophosphate insecticide, in rats. *Food Chem. Toxicol.* 40: 723-729. 2002.
21. Cowan, M.M.: Plants products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 564-582. 1999.
22. Cuppett, S.L. and Hall, C.A.: Antioxidant activity of the Labiatae. *Adv. Food Nutr. Res.* 42: 245-271. 1998.
23. Çaylak, E.: Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi.* 9(1): 73-83. 2011.
24. Davis PH (ed).: *Flora of Turkey and the East Aegean Islands.* Vol: 6. Edinburgh University Press. Edinburgh. 1978.
25. Davis PH (ed).: *Flora of Turkey and the East Aegean Islands.* Vol: 3. Edinburgh University Press. Edinburgh. 1978.

26. Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A.: Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. s. 629-648. Ankara. 2005.
27. Dere, E., Bakır, S. ve Atalay, A.: Malatyon’un Fare Karaciğer, Böbrek ve İnce Bağırsak Alkalen Fosfataz Aktivitesi Üzerine Etkisi. Turk. J. Zool. 23: 709-713. 1999.
28. Dinçel, A., Demli, F., Uzun, R. ve Alatan, F.: Pestisit Zehirlenme Şüphesi ile Gıda Toksikolojisi Laboratuvarına Gönderilen Numunelerin GC-MS ile Analizi. Türk Hij. Deney Biyol. Derg. 65(1): 7-15. Ankara. 2008.
29. Doğan, A.: Toksikoloji. 2012.
30. Erel O.: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin. Biochem. 37: 277-285. 2004.
31. Ganguly, S., Bhattacharya, S., Mandi, S. and Tarafdar, J.: Biological detection and analysis of toxicity of organophosphate- and azadirachtin-based insecticides in *Lathyrus sativus* L. Ecotoxicology. 19(1): 85-95. 2010.
32. Godevac, D., Zdunic, G., Savikin, K., Vajs, V. and Menkovic, N.: Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro. Fitoterapia. 79: 185–187. 2008.
33. Gren, L.C., Wagner, D.A., Giogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.K. and Tannenbaum, S. R.: Analysis of nitrate, nitrite and <sup>15</sup>N nitrate in biological fluids. Anal. Biochem. 126: 131-138. 1982.

34. Gunes, F. and Aytug, B.: Pollen Morphology of the Genus *Lathyrus* (Fabaceae) Section *Pratensis* in Turkey. Int. J. Agric. Biol. 12: 96-100. 2010.
35. Haynes, K.F.: Sublethal Effects of Neurotoxic Insecticides on Insect Behavior. Ann. Rev. Entomol. 33: 149-68. 1988.
36. İlçım, A., Dığrak, M. ve Bağcı, E.: Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. Turk. J. Biol. 22: 119-125. 1998.
37. Ishaaya, I.: Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York. 2000.
38. John, S., Kale, M., Rathore, N. and Bhatnagar, D.: Protective Effect of Vitamin E in Dimethoate and Malatıyon İnduced Oxidative Stress in Rat Erythrocytes. J. Nutr. Biochem. 12: 500-504. 2001.
39. Joshi, S.C., Mathur, R., Gajraj, A. and Sharma, T.: Influence of methyl parathion on reproductive parameters in male rats. Environ. Toxicol. Pharmacol. 14: 91-98. 2003.
40. Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut A., TüremiŞ, N., Kargı, S.P. ve Cabaroğlu, T.: Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri. II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu. Konya. 2006.
41. Kalender, S., Kalender, Y., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Durak, D. and Acikgoz, F.: Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: The protective effect of vitamin E. Toxicology. 3: 227-235. 2004.
42. Kalender, S., Uzun, F.G., Durak, D., Demir, F. ve Kalender, Y.: Malatıyon-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. Food Chem. Toxicol. 48: 633-638. 2010.



43. Karaca, Z., Yaşar, A., Vural, E. ve Vural, C.: Erciyes Dağı'nda (Kayseri) Doğal Olarak Yetişen Bazı Geofit Bitkilerin (Liliaceae, Iridaceae) Polen Morfolojisi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 23 (1-2): 37- 46. 2007.
44. Kaya, S., Pirinçci, İ. ve Bilgili, A.: Çevre Bilimi ve Çevre Toksikolojisi. Birinci Baskı. Medisan Yayın Serisi: 36. Ankara. 1998.
45. Kaya, S., Pirinçci, İ. ve Bilgili, A.: Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. İkinci Baskı. Medisan Yayınevi. Ankara. 2002.
46. Kayhan, F.E.B., Koç, N.D., Contuk, G., Muşlu, M.N. ve Sesal, N.C.: Sıçan Böbrek Dokusunda Endosulfan ve Malatyon'un Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler. Journal of Arts and Science. 12: 43-52. 2009.
47. Kılınç, K.: Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. Biyokimya Dergisi. X: 60-89. 1985.
48. Kozacı, N.: Organofosfat Zehirlenmelerinde Pralidoksimin Farklı Doz Uygulama Şekillerinin Etkinliği ve Yan Etkilerinin Klinik Karşılaştırılması. Ç.Ü. Acil Tıp AD. Uzm. Tezi. 2006.
49. Kumar, R.S., Sivakumar, T., Sunderam, R.S., Gupta, M., Mazumdar, U.K., Gomathi, P., Rajeshwar, Y., Saravanan, S., Kumar, M.S., Muruges, K. and Kumar, K.: Antioxidant and antimicrobial activities of *Bauhinia racemosa* L. Stem bark. Braz. J. Med. Biol. Res. 38: 1015-1024. 2005.
50. Kundakovica, T., Fokialakis, N., Dobric, S., Pratsinis, H., Kletsas, D., Kovacevic, N. and Chinou, I.: Evaluation of the anti-inflammatory and cytotoxic activities of naphthazarine derivatives from *Onosma leptantha*. Phytomedicine, 13: 290-294. 2006.

51. Kyung, K.H.: Antimicrobial properties of *allium* species. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23: 1-6. 2011.
52. Larsam, M.M., Annabi, A.B., Rezg, R., Elj, N., Slimen, S., Kamoun, A., El-Fazza, S., Gharbi, N.: Effect of short-time malatiyon administration on glucose homeostasis in Wistar rat. *Pestic. Biochem. Phys.* 92: 114-119. 2008.
53. Luna, L. G.: Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. Third ed. Mc Graw-Hill Book Comp. London. 1968.
54. Mahmoudabadi, A.Z. and Nasery, M.K.G.: Antifungal activity of shallot, *Allium ascalonicum* Linn. (Liliaceae), in vitro. *J. Med. Plants. Res.* 3(5): 450-453. 2009.
55. National Research Council: Tropical Legumes: Resources for the future. New York: Books for Business. 2002.
56. Naz, S., Ahmad, S., Rasool, S.A., Sayeed, S.A., and Siddiqi, R.: Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Onosma hispidum*. *Microbiol. Res.* 161: 43-48. 2006.
57. Ozgen, U., Coskun, M., Kazaz, C., Secen, H.: Naphthoquinones from the roots of *Onosma argentatum*, *Turk. J. Chem.*, 28: 451–454, 2004.
58. Ozgen, U., Miloglu, F.D. and Bulut, G.: Quantitative determination of shikonin derivatives with UV-Vis spectrophotometric methods in roots of *Onosma nigricaula*. *Rev. Anal. Chem.* 30(2): 59-63. 2011.
59. Ören, P.: Malatiyon'un *Oreochromis Niloticus*'ta Oksidatif Stres Kaynaklı Endokrin Bozucu Etkileri. Ç.Ü. Fen Bil. Ens. Biyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi. 2009.

60. Özdemir, C., Altan, Y., Aktas, K. ve Baran, P.: Morphological and anatomical investigations on endemic *Allium armenum* BOISS. & KOTSCHY and *Allium djimilense* BOISS. EX REGEL (*Alliaceae*) species of East Anatolia. *Thaiszia - J. Bot. Košice*. 18: 1-8. 2008.
61. Özgen, U., Houghton, P.J, Ogundipe, Y. and Coşkun, M.: Antioxidant and Antimicrobial activities of *Onosma argentatum* and *Rubia peregrina*. *Fitoterapia*. 74: 682-685. 2003.
62. Özhatay, N., Byfield, A. ve Atay, S.: Türkiye'nin 122 Önemli Bitki Alanı. Mas Matbaacılık A.Ş. İstanbul. 2005.
63. Özhatay, N., Kültür, Ş., Aksoy, N.: Check list of additional taxa to the supplement flora of Turkey. *Turk. J. Bot.* 18: 497-514. 1994.
64. Pârvu, M., Pârvu, A.E., Rosca-Casian, O., Vlase, L. and Groza, G.: Antifungal activity of *Allium obliquum*. *J. Med. Plants Res.* 4(2): 138-141. 2009.
65. Pastor-Cavada, E, Juan, R, Pastor, J.E., Alaiz, M. and Vioque, J.: Antioxidant activity of seed polyphenols in fifteen wild *Lathyrus* species from South Spain. *LWT - Food Sci. Technol.* 42: 705–709. 2009.
66. Pinela, J., Barros, L., Carvalho, A.M., and Ferreira, I.C.F.R.: Influence of the drying method in the antioxidant potential and chemical composition of four shrubby flowering plants from the tribe Genisteae (Fabaceae). *Food Chem. Toxicol.* 49: 2983–2989. 2011.
67. Possamai, F.P., Fortunato, J.J., Feier, G., Agostinho, F.R., Quevedo, J., Wilhelm Filho, D. and Dal-Pizzol, F.: Oxidative stress after acute and sub-chronic malatyon intoxication in Wistar rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 23: 198-204. 2007.

68. Prakash, D., Singh, B.N. and Upadhyay, G.: Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*). Food Chem. 102: 1389-1393. 2007.
69. Rajeshwar, Y., Gupta, M. and Mazumder, U.K.: Antitumor Activity and in vivo Antioxidant Status of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) Seeds against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice. Iran J. Pharmacol. Ther. 4: 46-53. 2005.
70. Rosado-Vallado, M., Brito-Loeza, W., Mena-Rejon, G.J., Quintero-Marmol, E. and Flores-Guido, J.S.: Antimicrobial activity of Fabaceae species used in Yucatan traditional medicine. Fitoterapia. 71: 570-573. 2000.
71. Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E.: Tohumlu Bitkiler Sistematigi. 8. Baskı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116. Ege Üniversitesi Basımevi. Bornova-İzmir. 2008.
72. Seen, H.A.: Experimental data for the revision of the genus *Lathyrus*. Amer. J. Bot. 25: 67-78. 1938.
73. Sharma, V., Sharma, A. and Kansal, L.: The effect of oral administration of *Allium sativum* extracts on lead nitrate induced toxicity in male mice. Food Chem. Toxicol. 48: 928-936. 2010.
74. Slinkard, K. and Singleton, V.L.: Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Vitic. 28: 49-55. 1977.
75. Štajner, D., Milić-Demarino, N., Čanadanović-Brunet, J., Štajner, M., and Popović, B.M.: Screening for antioxidant properties of *Allium giganteum*. Fitoterapia. 77: 268-270. 2006.

76. Štajner, D., Popović, B.M., Čanadanović-Brunet, J. and Štajner, M.: Antioxidant and scavenger activities of *Allium ursinum*. *Fitoterapia*. 79: 303–305. 2008.
77. Starzyska-Janiszewska, A., Stodolak, B. and Jamroz, M.: Antioxidant properties of extracts from fermented and cooked seeds of Polish cultivars of *Lathyrus sativus*. *Food Chem*. 109: 285–292. 2008.
78. Sulak, O., Altuntaş, I., Karahan, N., Yıldırım, B., Aktürk, O., Yılmaz, H.Y. and Delibaş, N.: Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamins E and C. *Pestic. Biochem. Phys.* 83: 21-28. 2005.
79. Tanker, N., Koyuncu, M. ve Coşkun, M.: *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. Ders Kitapları No: 78. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara. 1998.
80. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A. and Sokmen, A.: In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chem*. 92: 89-92. 2005.
81. Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S.: *Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri*. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 26(2): 154-169. Kayseri. 2010.
82. Tos-Luty, S., Haratym-Maj., Latuszynska, J., Obuchowska-Przebirowska, D. and Tokarska-Rodak, M.: Oral toxicity of deltamethrin and fenvalerate in swiss mice. *Ann. Agric. Environ. Med.* 8: 245-254. 2001.
83. Tos-Luty, S., Obuchowska-Przebirowska, D., Latuszynska, J., Tokarska-Rodak, M. and Haratym-Maj, A.: Dermal and oral toxicity of malatyon in rats. *Ann. Agric. Environ. Med.* 10: 101-106. 2003.

84. Tosun, A., Akkol, E.K., Bahadır, O., and Yeşilada, E.: Evaluation of antiinflammatory and antinociceptive activities of some *Onosma L.* species growing in Turkey. J. Ethnopharmacol. 120(3): 378-831. 2008.
85. Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C, Duman, H. ve Kırimer, N.: Bazı *Sideritis* Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı. Bildiriler. ISBN 975-94077-2-8. 2002.
86. Türkmen, Z.: Doğu Karadeniz Bölgesi *Onosma L.* (Boraginaceae) Taksonlarının Morfolojik ve Palinolojik Yönden İncelenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Trabzon. 2006.
87. Uzun, F.G. ve Kalender, Y.: Protective Effect of Vitamins C and E on Malatyon-Induced Nephrotoxicity in Male Rats. G.U. J. Sci. 24(2): 193-201. 2011.
88. Vinayaka, K.S., Swarnalatha, S.P., Preethi, H.R., Surabhi, K.S., Prashith Kekuda, T.R. and Sudharshan, S.J.: Studies on In vitro Antioxidant, Antibacterial and Insecticidal Activity of Methanolic Extract of *Abrus pulchellus* Wall (Fabaceae). Afr. J. Basic. Appl. Sci. 1 (5-6): 110-116. 2009.
89. Viswanath, V., Urooj, A. and Malleshi, N.G.: Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of finger millet polyphenols (*Eleusine coracana*). Food Chem. 114(1): 340-346. 2009.
90. Vural, N.: Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:53. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara. 2005.
91. Yarsan, E., Tanyuksel, M., Celik, S. ve Aydın, A.: Effects of Aldicarb and Malatyon on Lipid Peroxidation. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63: 575-581. 1999.

92. Yavuz, O. ve Şanlı, Y.: Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisitler, Pestisit Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri. I. Seminer. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı. Ankara. 1999.
93. Yıldırım, Ş.: The chorology of the Turkish species of Boraginaceae family. *Ot Sistemik Botanik Dergisi*. 7(2): 257-272. 2000.
94. Yiğit, N., Öktem, A.B. ve Aksu, P.: Gıdalarda Pestisit Kalıntı Analizlerinde Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC)'nin Kullanımı. Türkiye 10. Gıda Kongresi. Erzurum. 2008.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Kars'ta 1981 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kars'ta tamamladı. 2000 yılında girdiği Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2004 yılında Biyolog olarak mezun oldu. Aynı yıl içerisinde Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve 2007 yılında Bilim Uzmanı olarak mezun oldu. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda 2007 yılında Doktora eğitimine başladı.