

**T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HİDROJEN PEROKSİTE MARUZ KALAN SIÇANLARIN BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER ÜZERİNE NARİNGENİN VE BAZI ORGANİK
MADDELERİN ETKİLERİ**

UĞUR DARDAĞAN

KİMYA ANABİLİM DALI

2014

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİDROJEN PEROKSİTE MARUZ KALAN SIÇANLARIN BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER ÜZERİNE NARİNGENİN VE BAZI ORGANİK
MADDELERİN ETKİLERİ**

Uğur DARDAĞAN
Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı

Bu tez 25/06/2014 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından
oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA
BAŞKAN (DANIŞMAN)

Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Bayram TALİ
ÜYE

Doç. Dr. Mustafa ÖZDEN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FEFYL/2013-0005

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirislerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HİDROJEN PEROKSİTE MARUZ KALAN SIÇANLARIN BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE NARİNGENİN VE BAZI ORGANİK MADDELERİN ETKİLERİ

Uğur DARDAĞAN

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA

Yıl:2014, Sayfa sayısı:46

Jüri: Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA

Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ

Yrd. Doç. Dr. Bayram TALİ

Bu çalışmanın amacı H_2O_2 ile oluşturulan plazma, beyin ve karaciğer oksidatif stresine karşı naringenin ve bazı organik maddelerin [(Benzofuran-2-il)(3-fenil-3-metilsiklobütil)ketoksim, (Benzofuran-2-il)(3-metil-3-mezitilsiklobütil)keton tiyosemikarbazon ve 1,3-bis(2-klorbenzoil)imidazolin-2-tiyon]' un koruyucu etkileri araştırıldı. 77 adet erkek *Wistar albino* sıçanlar rastgele ayrıldı. Bu amaçla H_2O_2 , naringenin, organik sentez maddeleri ve bunların kombinasyon grupları kullanıldı. Deney sonuçlarımıza göre H_2O_2 grubu MDA düzeyleri kontrol grubuna göre arttı ($p<0.001$). H_2O_2 grubu GSH düzeyi katalaz ve GSH-Px enzim aktiviteleri kontrol grubuna göre azaldı ($p<0.05$). Genel olarak naringenin ve organik sentez maddelerin etkisiyle kombinasyonlu grupların MDA düzeyleri H_2O_2 grubuna göre azaldı ($p<0.05$). Ayrıca naringenin ve organik sentez maddelerin etkisiyle GSH düzeyleri, GSH-Px ve katalaz enzim aktiviteleri kombinasyonlu gruplarda H_2O_2 grubuna göre arttı ($p<0.05$). Karaciğer dokusu örneklerinde H_2O_2 grubu palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1n7), oleik asit (18:1n9), linoleik asit (18:2n6), total doymamış yağ asidi (Σ USFA) ve tekli doymamış yağ asidi (MUFA) düzeyleri kontrol grubuna göre azaldı ($p<0.05$). Naringenin ve organik sentez maddelerin etkisiyle kombinasyonlu gruplarda 18:2n6, Σ USFA, araşidonik asit (20:4n6), çoklu doymamış yağ asit (PUFA) düzeyleri H_2O_2 grubuna göre arttı ($p<0.05$). Deney sonuçlarımıza göre naringenin ve organik sentez maddelerinin koruyucu bir ajan olarak kullanımı, H_2O_2 ' den dolayı oluşan oksidatif stresi sıçanlarda azaltabilir.

Anahtar Kelimeler: Oksidatif Stres, Naringenin, H_2O_2 , Enzim, Yağ asitleri, Benzofuran, Sıçan.

ABSTRACT

Master THESIS

THE EFFECTS OF NARINGENIN AND SOME ORGANIC MATTERS ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RATS, EXPOSED TO HYDROGEN PEROXIDE

Uğur DARDAĞAN

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA

Year: 2014, Number of page: 46

Jury: Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA

Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ

Asst. Prof. Dr. Bayram TALİ

The aim of this study was to investigate the protective effect of naringenin and some matters [(Benzofuran-2-yl)(3-phenyl-3-methylcyclobutyl)ketoxime, (Benzofuran-2-yl)(3-methyl-3-mesitylcyclobutyl)ketone thiosemicarbazone and 1,3-bis(2-chlorobenzoyl)imidazoline-2-thione] against plasma, brain and liver oxidative stress induced by H₂O₂. Seventyseven male *Wistar albino* rats were divided randomly. For this aim, H₂O₂, naringenin, organic matters and their combination groups were used. According to experimental results, the MDA levels in the group of H₂O₂ increased when compared to the control group (p<0.001). The GSH level, catalase and GSH-Px enzyme activities in the group of H₂O₂ decreased when compared to the control group (p<0.05). Generally, by the effect of naringenin and organic matters the MDA levels in the combination groups decreased when compared to the H₂O₂ group (p<0.05). Also, naringenin and organic matters the GSH levels, GSH-Px and catalase activities in the combination groups increased when compared to the H₂O₂ group (p<0.05). In the liver tissues samples, palmitic acid (16:0), palmitoleic acid (16:1n7), oleic acid (18:1n9), linoleic acid (18:2n6), total unsaturated fatty acid (ΣUSFA) and monounsaturated fatty acid (MUFA), levels of H₂O₂ group was decreased than control group (p<0.05). By the effect of naringenin and organic matters the 18:2n6, ΣUSFA, arachidonic acid (20:4n6), polyunsaturated (PUFA) levels in the combination groups increased when compared to the H₂O₂ group (p<0.05). According to our experimental results, using of naringenin and organic matters as a protective agent can reduce the oxidative stress according due to H₂O₂ in rat.

Key Words: Oxidative stress, Naringenin, H₂O₂, Enzyme, Fatty acids, Benzofuran, Rat

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince danışmanım olarak, her zaman beni yönlendiren, bilgisini ve tecrübesini benden esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA' ya,

Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, bana her konuda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Murat GENÇ ve Yrd. Doç. Dr. Zuhall KARAGÖZ GENÇ' e,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını benden esirgemeyen arkadaşlarım Yunus ŞAHİN ve Cansu BAKIR' a,

Zor zamanlarımda bana güç vererek dostluğunu benden esirgemeyen arkadaşım Umut İbrahim OĞUZ' a,

Deneyisel çalışmaların önemli bir bölümünün gerçekleştirilmesinde destek ve yardımlarını gördüğüm FÜDAM personeline ve Sayın Zafer ŞAHİN' e

Beni yetiştiren, dualarını hiçbir zaman eksik etmeyen anneme ve babama, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ADİYAMAN, 2014

Uğur DARDAĞAN

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	2
2.2. Antioksidanlar	5
2.3. Naringenin.....	7
2.4. Kullanılan Organik Sentez Maddeleri.....	8
2.5. Enzimler	12
2.6. GSH, GSH-Px ve Katalaz Enzimleri	13
2.7. Malondialdehit (MDA).....	14
2.8. Yağ Asitleri.....	14
2.9. Çalışmanın Amacı.....	16
3. MATERYAL VE METOD	17
3.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler	17
3.2. İnceleme Materyali	17
3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar	17
3.4. Deney Hayvanları	17
3.5. Lipidlerin Ekstraksiyonu	18
3.6. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması.....	19
3.7. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi	19
3.8. Lipid Peroksidasyon Tayini	20
3.9. Doku ve Plazma Katalaz Enzim Aktivitesi Tayini	20
3.10. Doku GSH-Px Aktivitesi Tayini	21
3.11. Doku GSH Tayini	21
4. İSTATİKSEL ANALİZ	22
5. BULGULAR.....	23
6. TARTIŞMALAR	33
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	46

TABLÖLAR DİZİNİ**SAYFA**

Tablo 2.1. Serbest Radikal Kaynakları	2
Tablo 2.2. Reaktif Oksijen Türleri	3
Tablo 2.3. Bazı antioksidanların etkili olduğu hastalıklar	7
Tablo 5.1. Karaciğer dokusu biyokimyasal parametreleri	23
Tablo 5.2. Plazma dokusu biyokimyasal parametreleri	25
Tablo 5.3. Beyin biyokimyasal parametreleri	27
Tablo 5.4. Karaciğer Dokusu Önemli Yağ Asit Düzeyleri (%) (1).....	29
Tablo 5.5. Karaciğer Dokusu Önemli Yağ Asit Düzeyleri (%) (2).....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Serbest radikal hasarı	3
Şekil 2.2. Oksidatif stres durumu.....	4
Şekil 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması	6
Şekil 2.4. Naringenin molekülü	8
Şekil 2.5. Benzofuran halkası	8
Şekil 2.6. 2-{4-[(benzofuran-2-il)karbonil] piperazin-1-il}-3-propil piridin	9
Şekil 2.7. İmidazol	9
Şekil 2.8. Tiyosemikarbazonların genel yapısı	10
Şekil 2.9. Tiyosemikarbazonların tiyon ve tiyol formu	10
Şekil 2.10. N-metil-isatin- β -4-4-dietil-tiyosemikarbazon	11
Şekil 2.11. 1 <i>H</i> -indol-2,3-dion-3-tiyosemikarbazon türevi bir madde	11
Şekil 2.12. Triapin	11
Şekil 2.13. Glutatyonun yapısı.....	13
Şekil 2.14. MDA	14
Şekil 2.15. Memelilerdeki esansiyel olmayan yağ asitlerinin metabolik yolu	15
Şekil 2.16. Memelilerdeki esansiyel yağ asitlerinin metabolik yolu	16

KISALTMALAR

ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
CAT	: Katalaz
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
MDA	: Malondialdehit
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
GSSG	: Okside glutasyon
TCA	: Trikloroasetik asit
GC	: Gaz kromatografisi
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
MUFA	: Tekli doymamış yağ asitleri
ΣUSFA	: Toplam doymamış yağ asidi
ΣSFA	: Toplam doymuş yağ asidi
16:0	: Palmitik asit
16:1n7	: Palmitoleik asit
18:0	: Stearik asit
18:1n9	: Oleik asit
18:2n6	: Linoleik asit
18:3n6	: γ-linolenik asit
20:4n6	: Araşidonik asit
22:6n3	: Dekosaheksaenoik asit

1. GİRİŞ

Hidrojen peroksit (H_2O_2) potansiyel reaktif oksijen türleri kaynakları arasındadır. H_2O_2 hidroksil radikaline ($\cdot OH$) dönüşerek metabolizmada oksidatif strese neden olmaktadır. Reaktif oksijen türleri biyolojik makro moleküllerden lipidler, proteinler, DNA, hücre membranı ve enzimlere zarar vermektedir [1-3]. Toksik maddeler, sigara, organik çözücüler ve pestisitler reaktif oksijen türlerinin üretimine neden olmaktadır [4-8]. Oksidatif stres sonucunda kardiyovasküler, diyabet ve kanser gibi birçok hastalık oluşmaktadır [9-11].

Naringenin (4',5,7-trihidroksiflavanon) flavonoid türevli bir maddedir. Birçok meyve ve sebzede bulunur. Yapılan çalışmalarda naringenin antitümör, antienflamatuar, antihiperlipidemik, antiaterojenik etkileri mevcuttur [12-16]. Çalışmamızda kullandığımız organik sentez maddeleri tiyosemikarbazon, ketoksim ve tiyon türevli maddelerdir. Bu tür maddelerin birçok farmakolojik özellikleri vardır. Tiyosemikarbazonların antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitümör ve antimalaryal aktiviteleri vardır [17]. Benzofuranlı yapıların antikanser, antiviral, antioksidan ve antifungal etkileri bulunmaktadır [18]. Heterosiklik tiyonların birçok biyolojik ve kimyasal özellikleri vardır. Heterosiklik tiyonların metal komplekslerinin başta antikanserojen olmak üzere birçok farmakolojik özelliği bulunmaktadır [19]. Bu tez çalışmasında H_2O_2 ile oksidatif strese maruz kalan sıçanlarda bazı biyokimyasal parametreler üzerine naringenin, (Benzofuran-2-il) (3-fenil-3-metil siklobütil) ketoksim, (Benzofuran-2-il)(3-metil-3-mezitil siklobütil) keton tiyosemikarbazon ve 1,3 bis(2-klorbezoil) imidazol-2-tiyon'un etkilerin etkisi incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektronu bulunan atom veya moleküller serbest radikaller olarak adlandırılmaktadır [20]. Dış orbitallerinde paylaşılmamış elektronun var olması söz konusu kimyasal türün reaksiyona girme kabiliyetini arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir [21]. Hem organik hem de inorganik moleküller olabilen serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü yada nötr halde bulunabilirler [22]. Serbest radikaller canlılarda normal metabolik olayların işleyişi esnasında oluşabildiği gibi çeşitli dış faktörlerin etkisi ile de oluşabilmektedir [23]. Kısa ömürlü, kararsız ve çok aktif yapılı moleküller olan serbest radikaller tüm hücre unsurları ile etkileşebilmektedir [24]. Radikaller etkileştikleri moleküle bir elektron vererek veya bir elektron alarak o molekülün yapısında bozunma meydana getirirler. Böylece serbest radikaller radikal olmayan bir maddeyi radikale çevirmiş olurlar [22].

Tablo 2.1. Serbest Radikal Kaynakları [25]

İç kaynaklar	Dış kaynaklar
Otooksidasyon	Radyasyon
Enzimatik oksidasyon	Sigara
Geçiş elementlerin iyonları	Gazlar
Subsellüler organeller	İlaçlar, inorganik partiküller

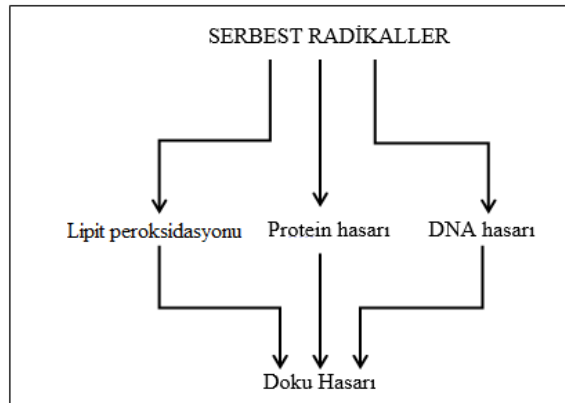
Aerobik metabolizmaya sahip olan canlıların tüm hücrelerinde meydana gelen metabolik reaksiyonlar için şart olan oksijen, aynı zamanda çok zararlı maddeler olan serbest radikallere dönüşmektedir. Aerobik organizmaların enerji üretmek için moleküler oksijeni kullanmak zorunda olmaları bu canlıları, oksijenin toksik metabolik ürünlerinden olumsuz bir şekilde etkilenmesini de kaçınılmaz kılmıştır [26]. Oksijen,

metabolik tepkimelerde son ürün olarak suya indirgenir. Oksijenin suya indirgenmesi esnasında reaktif ara ürünler meydana gelir. Bu reaktif ara ürünlerin hepsi radikal olmadığından reaktif oksijen türleri (ROT) ifadesi kullanılmaktadır [27].

Tablo 2.2. Reaktif Oksijen Türleri [28].

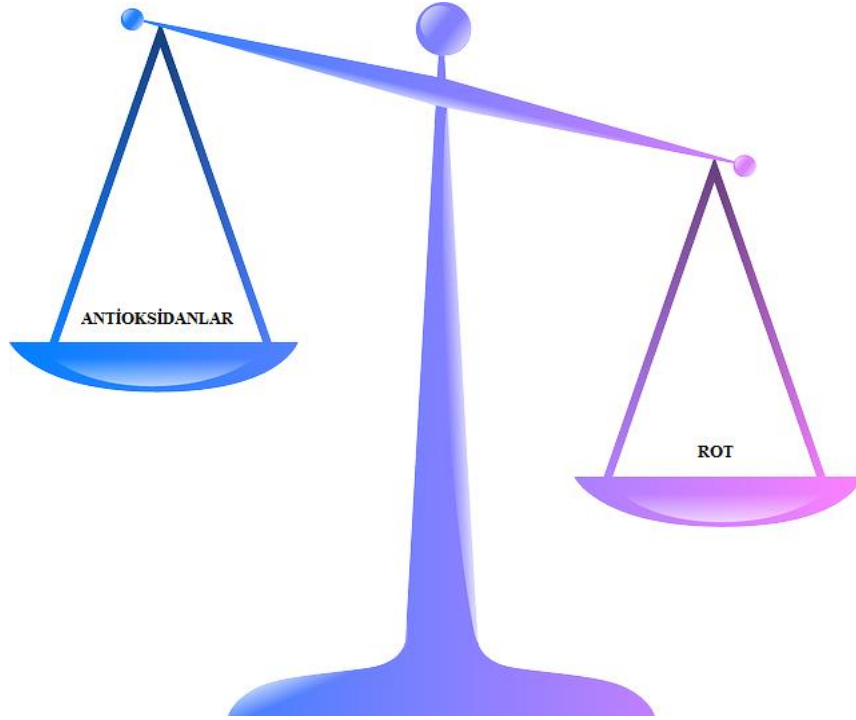
REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ	
RADİKALLER	RADİKAL OLMAYANLAR
Hidroksil ($\text{HO}^\bullet$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Peroksil ($\text{ROO}^\bullet$)	Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)
Alkoksil ($\text{RO}^\bullet$)	Ozon (O_3)
Süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$)	Hipokloröz Asit (HOCl)

Fazla miktarda serbest radikal üretimi organizmada birçok hastalığa neden olabilir [29]. Serbest radikaller canlıda lipid, protein ve nükleik asitlerin yapısına etki ederek bozunmaya sebep olurlar [30]. Reaktif oksijen türleri (ROT) parkinson, alzheimer, kalp ve damar, obezite, diyabet ve kanser gibi birçok hastalığa neden olabilmektedir [31].



Şekil 2.1. Serbest radikal hasarı [30].

Oksidatif stres kavramı, Profesör Helmut Sies tarafından "Tehlikeye yol açma durumu bulunan oksidantlar ile antioksidantlar arasındaki dengesizlik" olarak tanımlanmıştır [27]. Normal şartlarda kullanmış olduğumuz oksijenin yaklaşık %2'si reaktif oksijen türlerine dönüştürülmektedir [32]. Canlılarda meydana gelen oksidatif hasar reaktif oksijen türlerinden kaynaklanır [33]. Aerobik organizmalarda serbest radikal oluşumu ile bunların antioksidanlar tarafından uzaklaştırılması bir denge halindedir. Bu dengenin radikaller lehine bozulması durumunda oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif hasarın birikimi ile önce hücre sonra doku ve organlarda yapı ve işlev bozuklukları görülebilmektedir [34].



Şekil 2.2. Oksidatif stres durumu [31].

Dokulardaki oksidatif stresi belirleyebilmek için MDA ölçümü yapılmaktadır [35]. Yükseltgen/indirgen yapıların miktarları ve antioksidanların yükseltgenmiş ürünleri canlıda meydana gelen oksidatif stresin boyutu hakkında bize bilgi vermektedir. Oksidatif stresin artışıyla GSH ve Koenzim Q gibi antioksidanların yükseltgenmiş/indirgenmiş yapılarının miktarında artış gözlenmiştir [36].

2.2. Antioksidanlar

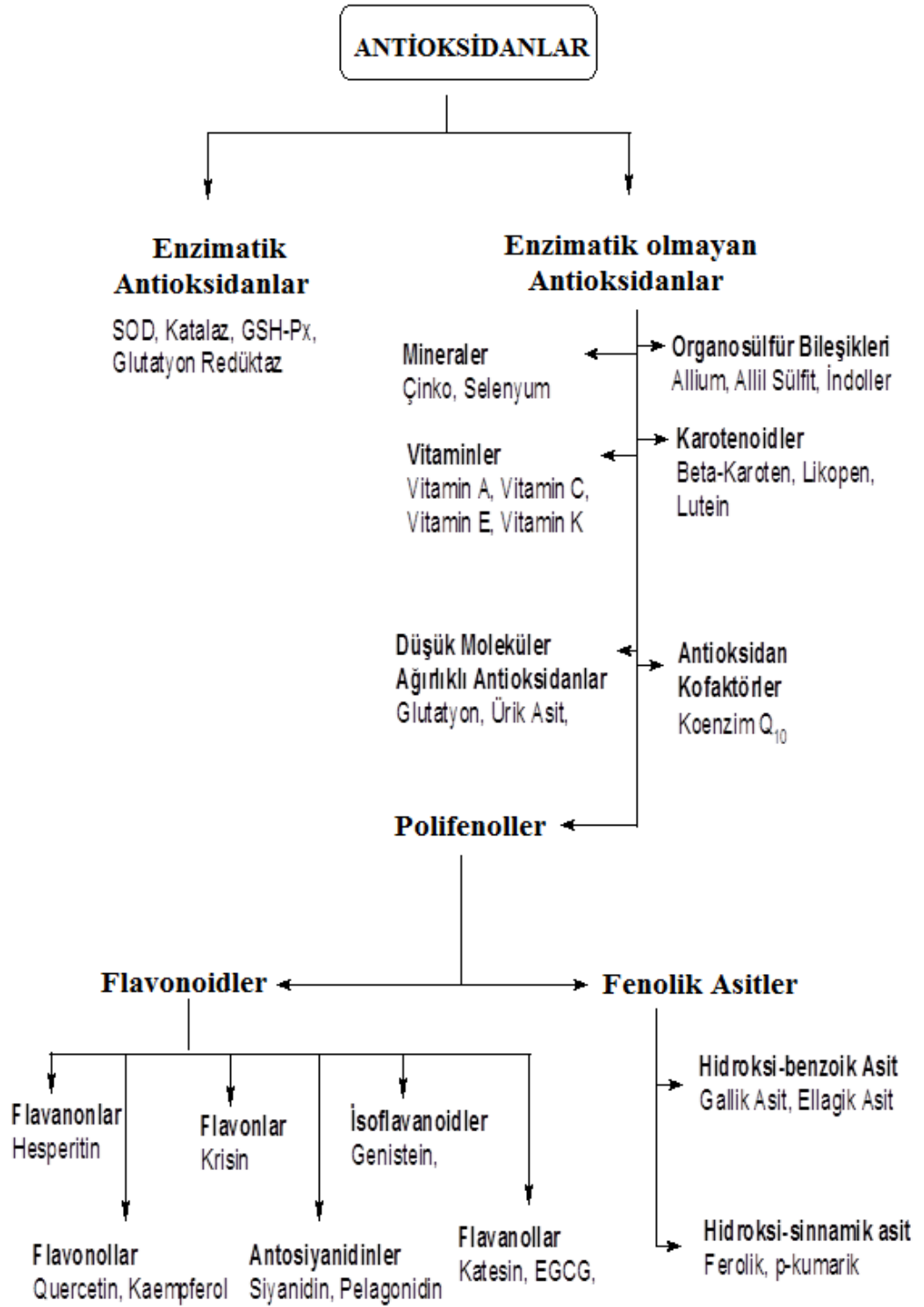
Antioksidanlar, canlı tarafından sentezlenen veya dışarıdan diyet ile alınan moleküllerdir. Antioksidanların görevi, reaktif oksijen türlerinin hücreye zarar vermesini önlemektir. Antioksidanlar enzimatik yapıda olabilecekleri gibi enzimatik olmayan yapıda da olabilirler [37].

Hücre ve dokuları reaktif oksijen türlerine karşı koruyabilmek için organizma karmaşık bir sistemle hareket etmektedir. Bu sistem iç ve dış merkezli olup birbirleriyle etkileşim içinde ve birlikte hareket eden yapılar içermektedir [38]. Serbest radikallerin vermiş oldukları zararı azaltmak için yüksek miktarda antioksidan içeren gıdalar ile beslenilmelidir [39]. Antioksidanlar reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girme, aktivitelerini engelleme, serbest radikal üreten enzimlere etki etme gibi yollarla oksidatif stresi azaltırlar [40]. Mitokondri organeli serbest radikal üretiminde önemli bir rol oynamaktadır. Bu serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için membranların her iki tarafı SOD, GSH, GSH-Px gibi bazı antioksidanlarla donatılmıştır [41]. Antioksidanlar serbest radikallere kendilerinden elektron vererek onları nötralize ederler. Antioksidanlar elektron verdikleri için serbest radikallere dönüşmezler bunun nedeni antioksidanların her iki durumda da kararlı olmasıdır [42].

Enzimatik bir antioksidan olan SOD süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)' in H_2O_2 ve O_2 ' e dönüşümünü sağlamaktadır [27].



Antioksidanların amacı, canlı hücrelerde bulunan DNA, protein, lipid ve karbonhidrat gibi oksitlenebilir maddelerin oksidasyonunu önlemek veya geciktirmektir [43]. Birçok bilimsel çalışmada fazla miktarda antioksidan içeren meyve ve sebzelerin sık tüketilmesinin kalp-damar hastalıkları, diyabet ve kanser hastalıklarının görülme sıklığını azalttığı rapor edilmiştir [44].



Şekil 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması [28].

Tablo 2.3. Bazı antioksidanların etkili olduğu hastalıklar [45].

BİLEŞİKLER	HASTALIKLAR
Katalaz (CAT)	Kanser, diyabetik retinopati
GSH-Px	Nörodejeneratif hastalıklar
Fenolik bileşikler	Kanser, diyabetik retinopati, kronik inflamasyon
Quercetin, kaempferol, genistein	Kolon kanseri

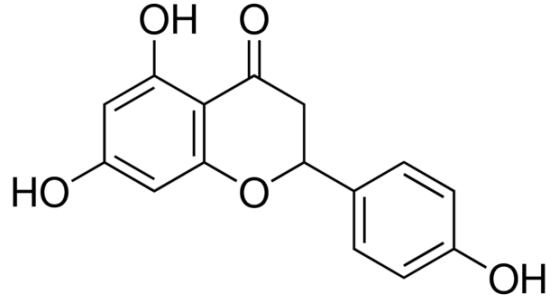
Polifenoller, günlük olarak aldığımız gıdalarda en çok miktarda bulunan antioksidan türüdür. Meyve, sebze, çay, kahve ve tahıllarda yaygın olarak bulunurlar [46].

Flavonoidler yaygın olarak bitkilerin yapraklarında, çiçek kısmında ve polenlerde bulunurlar. Flavonoidler, bitkilerin çiçek, meyve ve tohum pigmentasyonunu koruma işlevi görürler. Onları UV ışınları, kuraklık, soğuk ve patojenlere karşı savunurlar. Flavonoidler hücre yapısına zarar vermeden serbest radikalleri nötralize eder ve reaktif oksijen türlerini süpürürler [47]. Flavonoidler çok geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptir. Bunlar; antienflamatuar, antiviral, antibakteriyel, antialerjik ve antitümör gibi etkilidir [48]. Flavonoidler, hücre zarındaki lipid oksidasyonunu inhibe edebilme özelliğine sahiptirler [49].

2.3. Naringenin

Naringenin (4',5,7-trihidroksiflavanon), turunçgillerde, kakaoda domateste, greyfurtta ve çilekte, yaygın olarak bulur. Naringenin hepatoprotektif antiinflamatuvar, antitümör gibi farmakolojik özellikleri vardır. Ayrıca naringenin antioksidan, antikanserojen, antiülser, antiproliferatif, nefroprotektif ve antimutajenik aktiviteleri bulunmaktadır [50, 51]. Naringenin, Fenton reaksiyonunu inhibe ederek hidroksil radikali oluşumunu azaltabilir. Bu şekilde naringenin serbest radikalleri azalttığı kanıtlanmıştır. Bu özelliğiyle de hücre zarını korumaktadır. Naringenin ksenobiyotiklerin oluşturduğu böbrek hasarında, ortamdaki oksidanları azaltarak dokuyu koruduğu bildirilmiştir. Naringenin kadmiyuma maruz kalmış ratlarda enzim

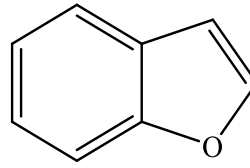
aktivitelerini arttırdığı ve antioksidan etkisiyle serbest radikallere karşı hücre ölümünü engellediği bildirilmiştir [50].



Şekil 2.4. Naringenin molekülü

2.4. Kullanılan Organik Sentez Maddeleri

Benzofuran, furanın 2,3 konumunda benzen halkası içeren heterosiklik bir organik maddedir.



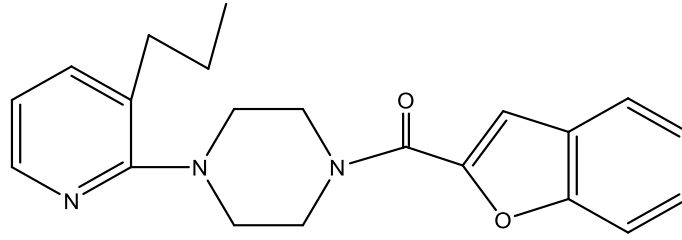
Şekil 2.5. Benzofuran halkası

Birçok doğal ürünün içinde bulunan benzofuranlar biyolojik aktiviteleri sebebiyle kimya biliminin ilgisini çekmektedir. Benzofuran halkası içeren çok sayıda doğal ürün olduğu bilinmektedir. Bunlar özellikle *Machilus glaucescens*, *Ophryosporus charua*, *Ophryosporus lorentzii*, *Krameria ramosissima* ve *Zanthoxylum ailanthoidol* gibi türlerden izole edilen ürünlerdir [52].

2-asetilbenzofuran ve 2-nitrobenzofuran gibi bazı benzofuran türevli maddeler farmakolojik olarak tanınmışlardır [53]. Benzofuran türevli maddeler farmasötik açıdan önemli moleküllerdir. Bu moleküllerin çeşitlendirilerek daha aktif yapıların üretilmesi için tıp dünyasında çalışmalar yapılmaktadır [54]. Benzofuran türevli maddelerin antikanser, antidepresan, antimikrobiyal, antiviral gibi biyolojik ve tıbbi aktivitelerinin olduğu bilinmektedir [55].

Bilim insanları yaptıkları bilimsel çalışmalarda benzofuran türevli maddelerin antitümör aktivitelerini incelemiş ve bu bileşiklerin tümör gelişimini durduğunu rapor etmişlerdir [56, 57]. Başka bir çalışmada ise benzofuran türevli bileşiklerin kan basıncını düşürücü etkisinin olduğu bildirilmiştir [58].

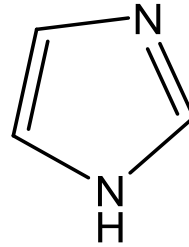
2-{4-[(benzofuran-2-il)karbonil] piperazin-1-il}-3-propil piridin bileşiği iyi bir anti-HIV aktivitesi sergilemiştir [59].



Şekil 2.6. 2-{4-[(benzofuran-2-il)karbonil] piperazin-1-il}-3-propil piridin

Benzofuran türevli maddelerin lipid peroksidasyonu sonucu oluşan oksidan maddelerle tepkimeye girerek bu oksidanları ortadan kaldırdığı ve dolayısı ile antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir [60].

İmidazol, yapısında iki azot bulunan rengi ve kokusu olmayan katı halde bulunan bir bileşiktir.

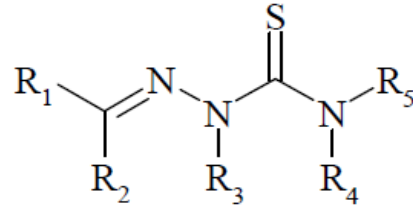


Şekil 2.7. İmidazol

İmidazol halkası doğada birçok bileşikte ve çok sayıda ilacın yapısında bulunmaktadır. İmidazol, bir aminoasit olan histidinde, adenin guanin bazlarında ve ürik asitte bulunur. Bu bileşik çok sayıda enzimin yapısında da görülmektedir ve bu enzimlerin aktif merkezinde rol alır [61]. İmidazol türevli maddelerin antiparazit, antiviral, antibakteriyel, antihipertansif, analjezik etkilerinin yanı sıra antioksidan aktivitelerinin olduğu rapor edilmiştir [62].

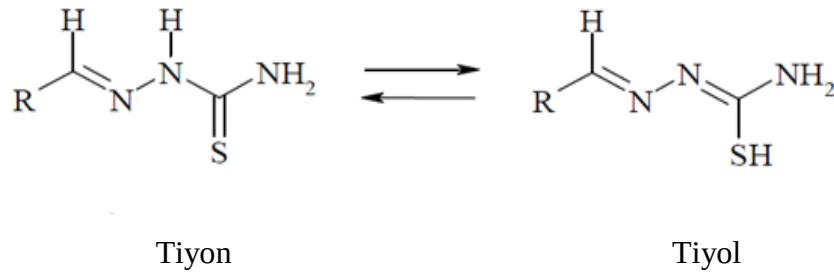
Oksimler, yapısında C=N çift bağı bulunan genellikle aldehit veya ketonların hidroksilamin hidroklorür ile tepkimesi sonucu oluşan yapılardır. Aldehitten elde edilen oksimlere aldoksim, ketondan elde edilenlere ise ketoksim adı verilir.

Tiyosemikarbazonlar, yapılarında azot, kükürt, karbon ve hidrojen atomu bulunan organik bileşiklerdir. Genel yapıları şekildeki gibidir.



Şekil 2.8. Tiyosemikarbazonların genel yapısı

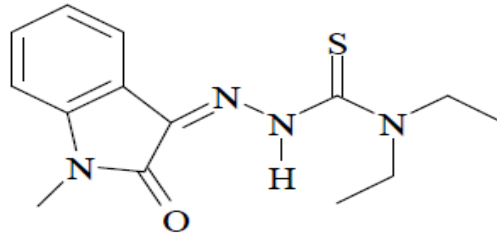
Tiyosemikarbazonlar çözelti içinde tautomerik bir denge halindedir. Bu denge tiyon ve tiyol olup şekilleri aşağıdaki gibidir [63].



Şekil 2.9. Tiyosemikarbazonların tiyon ve tiyol formu

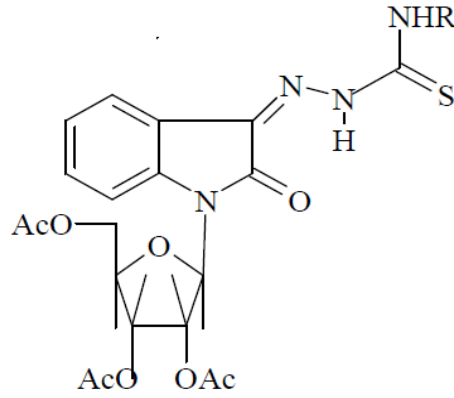
Tiyosemikarbazonlar kimyası, bu bileşik sınıfının farklı bağlanabilme özellikleri, biyolojik etkileri, yapısal çeşitliliği ve iyon duyarlılığı gibi özelliklerinden dolayı dikkat çekmektedir [64]. Tiyosemikarbazon türevli maddeler antiviral, antikanser, antitümör, antibakteriyel, antienflamatuvar ve antiamibik aktivite göstermektedir [65].

Antiviral üzerine yapılan çalışmada N-metilizatin ve N-metilalilizatin gibi tiyosemikarbazon çeşitlerinin HIV virüsüne karşı çoğalmayı azaltıcı etki gösterdiği saptanmıştır [66].



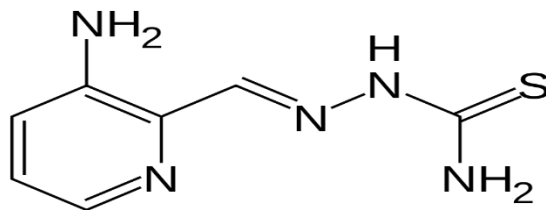
Şekil 2.10. N-metil-isatin-β-4-4-dietil-tiyosemikarbazon

1H-indol-2,3-dion-3-tiyosemikarbazon türevlerinin antibakteriyel aktivitelerini incelemişler ve bu bileşiklerin birer antibakteriyel ajan oldukları tespit edilmiştir [67].



Şekil 2.11. *1H*-indol-2,3-dion-3-tiyosemikarbazon türevi bir madde

Finch ve arkadaşlarının sentezlemiş olduğu 3-aminopiridin-2-karboksaldehit tiyosemikarbazonunun (Triapin), *in vitro* ve *in vivo* olarak antikanser aktivitesini araştırmışlar. Bu araştırma sonucunda Triapin maddesinin antineoplastik aktivite gösterdiği bildirilmiştir [68].



Şekil 2.12. Triapin

Çalışmamızda kullanılan organik sentez maddeleri şunlardır;

1. (Benzofuran-2-il)(3-fenil-3-metilsiklobütil)ketoksim,
2. (Benzofuran-2-il)(3-metil-3-metilsiklobütil)keton tiyosemikarbazon
3. 1,3-bis(2-klorbenzoil)imidazolin-2-tiyon

2.5. Enzimler

Enzimler, canlıda gerçekleşen kimyasal tepkimeleri hızlandıran ve hiçbir yan ürün olmasına imkan vermeden %100' lük bir ürün verimi sağlayan yapılardır. Canlıları oluşturan biyomoleküller çok kararlı olduklarından dolayı kendiliğinden kolayca reaksiyon vermezler. Bundan dolayı bir hücredeki hemen hemen tüm kimyasal tepkimeler enzimler yardımıyla gerçekleşmektedir [69].

Enzimler biyolojik aktiviteye sahip olmaları ve kimyasal tepkimeleri katalize etmeleri sebebiyle bilim dünyasının ilgisini çekmişlerdir. Bir dakikada 36 milyon molekülün yapısında değişiklik gerçekleştirebilirler. Artık günlük ve ekonomik hayatta da yer alan enzimler kimya endüstrisi, tıp, ve ziraat gibi alanlarda sıkça kullanılmaktadır [21].

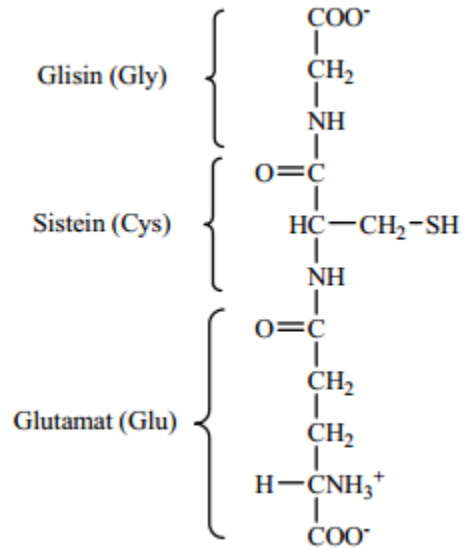
Hidrojen peroksit kendi başına çok yavaş olarak su ve oksijene dönüşmektedir. Bir mol hidrojenperoksitin kendi başına yıkılması için 18 kcal enerji gerekir. Ortama katalaz enzimi ilave edildiği zaman aktivasyon enerjisi 2 kcal gibi bir değere inmektedir. Bu örnekte görüldüğü gibi enzimler aktivasyon enerjisini düşürerek biyokimyasal reaksiyonları vücut ısısında gerçekleştirebilirler [21].

Bazı enzimlerin yapısı sadece proteinlerden oluşur. Bazılarının ise yapısında proteine ek olarak lipid, karbonhidrat, metal veya organik bileşenler bulunmaktadır. Enzimin substrata bağlanan yerine aktif merkez adı verilir. Enzimler kendi substrat moleküllerinden genellikle daha büyüktür. Enzimatik aktivite sıcaklık, pH, substrat konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu ve inhibitör faktörlerinden etkilenmektedir [70].

2.6. GSH, GSH-Px ve Katalaz Enzimleri

Aerobik tepkimeler hücreler açısından tehlikeli olabilen reaktif oksijen türlerinin (ROT) birikmesine neden olur. Canlılar bu maddeleri nötralize etmek için enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler geliştirmiştir. Enzimatik sistem CAT, SOD ve GSH-Px gibi yapılardan oluşmaktadır [71].

GSH, organizmada fazla miktarda bulunan ve protein yapısında olmayan tiyol şeklinde tripeptittir. Reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunu ve bağışıklık sistemini onarmak gibi görevleri vardır [72]. Serbest radikallerden hücreyi koruyan GSH, endojen bir antioksidandır. Hücrelerdeki serbest radikallerle reaksiyona giren GSH, GSSG' ye dönüşmektedir. Hücredeki oksidatif stres oluşumunu engelleyen GSH hücre bölümlerinden sitozol, kloroplast ve endoplazmik retikulumda görülmüştür [27]. GSH, GSH-Px enzimi için bir substrat görevi de görmektedir.

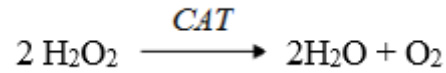


Şekil 2.13. Glutatyonun yapısı [73].

Hücrelerdeki serbest radikallerin miktarının doğrudan belirlenmesinin zor olması sebebiyle indirgenmiş glutatyon miktarının belirlenmesi antioksidanlar ve oksidatif stresin düzeyi hakkında bilgi verir [74].

Yapısında selenyum metali bulundurması sebebiyle GSH-Px metalloenzim grubunda yer alır [75]. GSH-Px, hücrelerin sitozol ve mitokondri kısımlarında bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondride SOD enzimi tarafından katalizlenen tepkimeler sonucu oluşan H_2O_2 ' yi yok etmektedir [27, 76, 77]. Hücrede H_2O_2 miktarı düşük ise GSH-Px katalaza göre daha aktiftir [78].

Katalaz yapısında Fe^{+3} iyonu bulundurur. Karaciğer ve böbrekte yüksek oranda aktivite gösterir [79]. H_2O_2 ' yi oksijen ve suya dönüştüren bir enzim olan katalaz; karaciğer, böbrek ve eritrositlerde aktiftir [80]. Bir molekül CAT (katalaz) dakikada 6 milyon molekül H_2O_2 ' i su ve oksijene parçalayabilmektedir [81].



2.7. Malondialdehit

Malondialdehit (MDA), lipidlerin oksidasyona uğraması sonucu oluşan bir bileşiktir [28]. Hücre zarının akışkan özelliği hücre zarı lipidlerinin yan zincirinde bulunan doymamış yağ asitlerinden kaynaklanır. Serbest radikaller hücre zarına etki ederek oksidatif stres meydana getirirler. Lipid oksidasyonu sonucunda oluşan MDA oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır [82].



Şekil 2.14. MDA

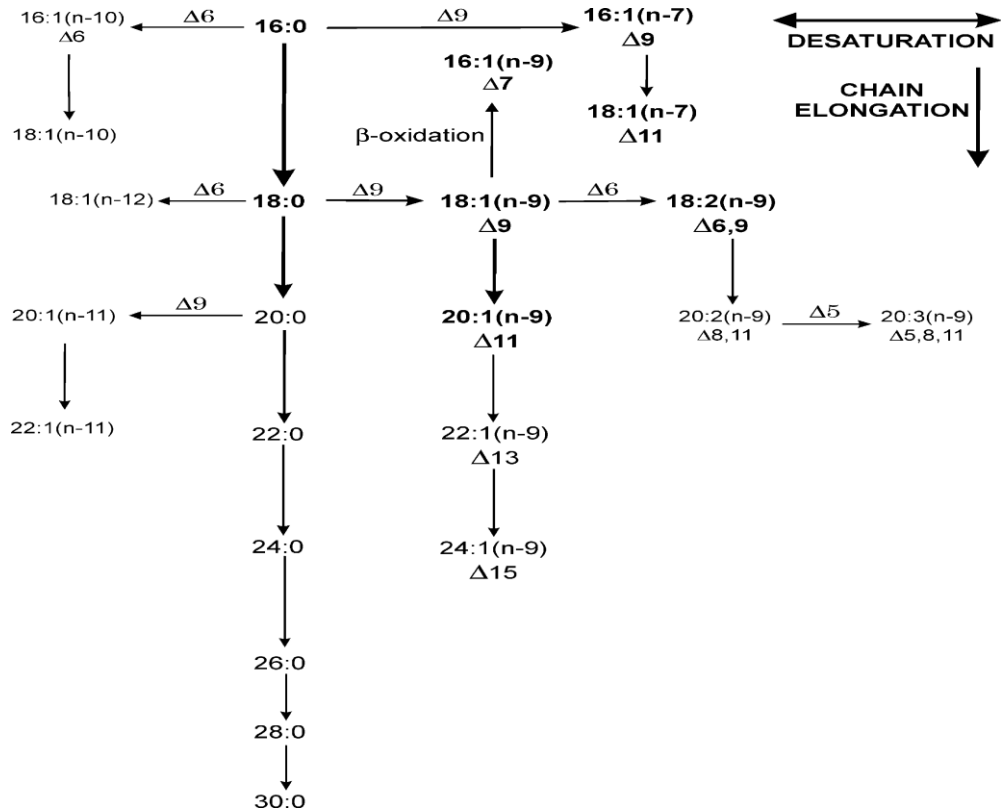
2.8. Yağ asitleri

Yağlar birim ağırlıkta en fazla enerjiyi veren organik biyomoleküllerdir [83]. Lipidler canlıların en önemli enerji kaynaklarından biridir. Canlıyı oluşturan hücrelerin

birbirini tanımasında çok önemli bir görev üstlenen lipidlerin birçok biyolojik fonksiyonu vardır. Suda çözünmeyen bu biyomoleküller karbonhidrat ve proteinlerle bağ yapabilirler [21].

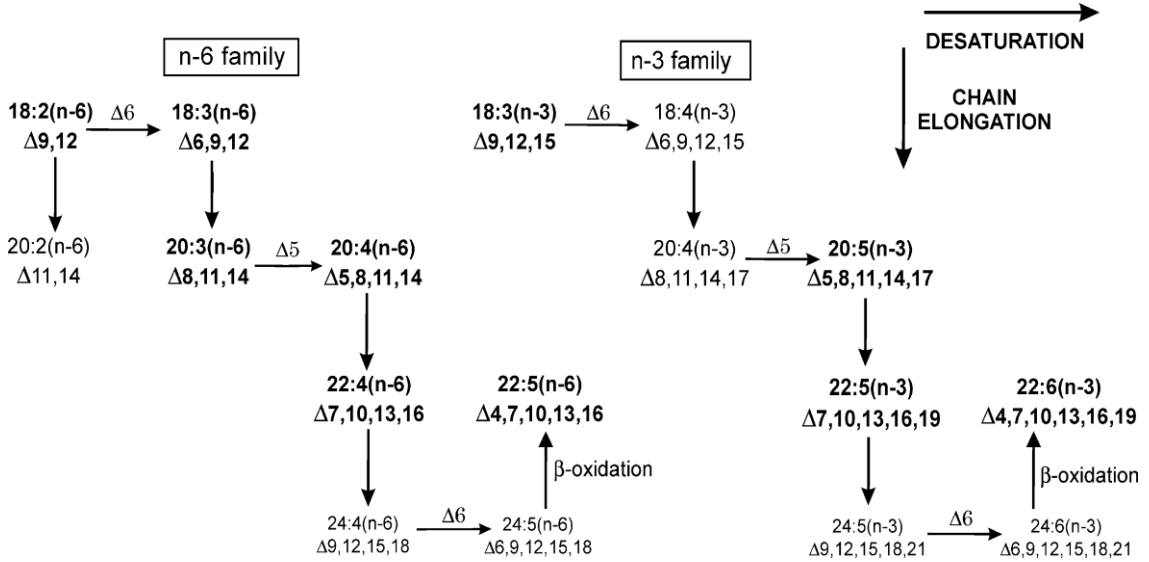
Yağ asitleri açilgliseroller, fosfolipidler, sfingolipidler ve mumlar ile etkileşerek lipidleri oluştururlar. Yağ asitlerinin bir ucunda metil grubu, uzun hidrokarbon zinciri diğer ucunda ise bir karboksil grubu bulunur. Yağ asitleri kısa sembollerle gösterilirler. Sembollerde yağ asitlerinin karbon sayısı, çift bağın sayısı ve konfigürasyonu bulunur. Örneğin; 16 karbon içeren palmitik asit 16:0 şeklinde ifade edilir. 18 karbon atomu ve çift bağ bulunan oleik asit ise 18:1n9 şeklinde gösterilmektedir [21].

GS-MS ile insan plazma ve dokularında 60 tane yağ asidi tespit edilmiştir. Memeli canlılarda düz zincirli ve çift karbon numaralı doymamış yağ asitleri sentezi yapılmaktadır. Tekli doymamış yağ asitleri $\Delta 9$ pozisyonunda çift bağ içeren yağ asitleridir. Bu mekanizma sonucu oluşan yağ asitleri 16:1n7 ve 18:1n9'dur [84].



Şekil 2.15. Memelilerdeki esansiyel olmayan yağ asitlerinin metabolik yolu

18:1n9 yağ asitlerinin desaturasyonu ($\Delta 6$, $\Delta 5$) ve zincir uzama reaksiyonları ile 20:3n9 yağ asidi üretilir. Bu yağ asitlerinin insan vücudunda üretimi olmayıp dışarıdan alınması gerekmektedir [84].



Şekil 2.16. Memelilerdeki esansiyel yağ asitlerinin metabolik yolu

Kronik yüksek plazma yağ asit düzeyleri kanser, diyabet ve obezite gibi hastalıklara yol açmaktadır [85].

2.9. Çalışmanın Amacı

Sıçanlarda H_2O_2 ile oluşturulacak oksidatif strese karşı flavonoid türevli antioksidan, antikanser vb. özellikleri olan naringenin ve organik sentez maddelerinin {(Benzofuran-2-il)(3-fenil-3-metilsiklobütil)ketoksim, (Benzofuran-2-il)(3-metil-3-mezitilsiklobütil)keton tiyosemikarbazon ve 1,3-bis(2-klorbenzoil)imidazolin-2-tiyon}} rat beyin, karaciğer organlarında ve plazmada antioksidan etkisi araştırılacaktır. Ayrıca bu organik sentez maddelerin biyokimyasal etkinliği naringenin ile karşılaştırılması yapılacaktır. Bu amaçla katalaz, glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri gibi antioksidan enzimler, glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri ile doymuş ve doymamış yağ asitleri seviyelerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler

Fizyolojik su, 5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit, Tris-EDTA tamponu, redükte GSH, EDTA-Na₂, fosfat tamponu, H₂O₂, trikloroasetik asit (TCA), tiyobarbiturik asit, hidroklorik asit, sülfirik asit, potasyumbikarbonat, etil alkol, izopropanol, n-hekzan, metanol, asetonitril.

3.2. İnceleme Materyali

Ağırlıkları birbirine çok yakın olan *Wistar albino* cinsi ratların plazma, karaciğer ve beyin dokuları incelendi.

3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar

- ✓ Santrifüj
- ✓ Homojenizatör
- ✓ Gaz kromatografisi (SHIMADZU)
- ✓ UV spektrofotometre (PERKIN ELMER PRECISELY LAMBDA 25UV/VIS)
- ✓ Vorteks
- ✓ Otomatik pipetler
- ✓ Derin dondurucu (-50 °C)
- ✓ Santrifüj ve deney tüpleri

3.4. Deney Hayvanları

Çalışmada erkek *Wistar albino* türü ratlar kullanıldı. Deney hayvanları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)' nden temin edilerek bu birimin bünyesinde deneysel uygulamalar gerçekleştirildi. Ratlar havalandırma sisteminin bulunduğu bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve günlük temizliği yapılan kafeslerde beslendi. Ratlara paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu verildi. Özel çelik kaplarda pelet yem verilerek beslenmeleri sağlandı.

Deneysel çalışmalara başlamadan evvel ön çalışma yapıldı. Hayvanların bulundukları ortam 22-25°C arasında sabit tutuldu. Ratlar 12 saat ışık altında 12 saat ise

karanlıkta takip edildi. Çalışmada ortalama ağırlıkları 200-250 g olan toplam 77 adet *Wistar albino* türü erkek rat kullanıldı. Ratlar 11 gruba ayrıldı. Bu gruplar ve gruplara verilen madde konsantrasyonu aşağıda verilmiştir:

1. Kontrol grubu (K)
2. Naringenin Grubu (N)
3. H₂O₂ grubu (H)
4. (Benzofuran-2-il)(3-fenil-3-metilsiklobütil)ketoksim (A)
5. (Benzofuran-2-il)(3-metil-3-mezitilsiklobütil)keton tiyosemikarbazon (T)
6. 1,3-bis(2-klorbenzoil)imidazolin-2-tiyon (B)
7. N + H grubu
8. A + H grubu
9. T + H grubu
10. B + H grubu
11. Kontrol grubu (KY)

Organik sentez maddeleri DMSO'da çözüldü. Naringenin ise mısır özü yağında çözülerek verildi. Bu sebepten dolayı iki kontrol grubu oluşturulmak zorunda kalınmıştır. Gruplar arası karşılaştırılmaların daha sıhhatli yapılması için kontrol grubu KY'ye mısır özü yağı verildi. Diğer kontrol grubuna ise organik sentez maddesi çözücüsü olan DMSO verildi. Naringenin 50 mg/kg mısır özü yağında oral gastrik olarak, H₂O₂ 12 mg/kg distile suda, A 12 mg/kg, B 12mg/kg ve C 12 mg/kg düzeyinde DMSO da çözülerek sıçanlara intraperitoneal yolla verildi. 30 günlük süre sonunda sıçanlar dekapite edilerek organlar (beyin, karaciğer vb. dokular ve plazma) cerrahi işlemlerle çıkarılarak analize kadar -50 °C'de bekletildi.

3.5. Lipidlerin Ekstraksiyonu

Doku örneklerinden 0,5 g alınarak, Hara ve Radin metoduyla, 3:2 (v/v) hekzan izopropanol karışımın kullanılarak yapıldı [86]. Bunun için; 0.5 g doku örneği 3:2 (v/v) oranında 6 ml hekzan-izopropanol karışımı içinde 30 sn süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon kabı 2 ml parçalama çözeltisi ile yıkandı. Santrifüj tüplerine alınıp 4500 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edilen doku örneklerinden süpernatant kısım alınarak ağız kapaklı deney tüplerine konuldu.

3.6. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Lipitler içinde bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizinin yapılabilmesi için polar olmayan uçucu ve kararlı yapıya sahip olan metil esterleri gibi türevlerine dönüştürülmesi gerekir [87].

Metil esteri hazırlamak için hekzan/izopropanol fazı içindeki lipit ekstraktı 30 ml'lik sızdırma yapmayan deney tüplerine alındı. Üzerine % 2'lik metanolik sülfirik asitten 5 ml ilave edildi, vorteks ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 50 °C lik etüvde 15 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. Tüpler etüvden çıkarıldı oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 ml % 5 lik sodyum klorür ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 ml hekzan ile ekstrakte edildi ve hekzan fazı pipetle alınarak, 5 ml % 2' lik KHCO_3 ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat beklendi. Daha sonra metil esterlerini içeren karışım, 45 °C de ve azot akımı altında çözücüsü uçuruldu, 1 ml hekzan ile çözülerek 2 ml'lik ağzı kapaklı otosampler vialleri içine alınarak gaz kromatografisinde analiz edildi.

3.7. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Lipit ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC 2025 gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 60 m uzunluğunda, 0,20 mm iç çapında ve 25 mikron film kalınlığına sahip teknokroma kapiller TRCN 100 kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 80-240 °C, enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 250 °C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 80 °C'den 140 °C'ye kadar 3°C/dk ayarlandı. 1 dakika beklendi. 140°C dan 240 °C ye 3°C/dk ile ısıtıldı. 5 dakika bekletilerek sonlandırıldı. Toplam süresi 61 dakika olacak şekilde metot oluşturuldu. Taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek, her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlendi. Bu işlemden sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı. Örneklerin yağ asit analizleri, ÜSKİM (Üniversite Sanayi Kamu İşbirliği Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi/Kahramanmaraş-Türkiye) tarafından yapıldı.

Sonuçlar toplam yağ asitleri içinde her bir yağ asidi için % miktar olarak belirlendi. Hesaplamalar GC Solution 2.3 programı kullanılarak yapıldı.

3.8. Lipid Peroksidasyon Tayini

Lipid peroksidasyon miktarı, tiyobarbiturik asit reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre ölçüldü [88]. MDA miktarı, lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak belirtilmektedir. Örnek numuneden bir hacim ve stok çözeltiden iki hacim (0,25 N HCl içerisinde % 0,375 tiyobarbiturik asit ve % 15 trikloroasetik asit) santrifüj tüpünde karıştırıldı. Çözelti 15 dakika kaynar suda ısıtıldı ve daha sonra soğutuldu. Çökelti 2500 rpm’de 10 dakika santrifüjlenerek ayırım gerçekleşti. Sonra 532 nm’ de test örnekleri okundu. Lipit peroksidasyon miktarı nmol/gr olarak belirtilmektedir. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

3.9. Doku ve Plazma Katalaz Enzim Aktivitesi Tayini

Katalaz enzim aktivitesi Aebi tarafından önerilen [89], Lartillot ve arkadaşları tarafından geliştirilen metoda göre yapıldı [90]. Enzimatik aktivite tayini, H₂O₂’ in 240 nm’ deki absorbansının enzim ile etkileşmesinden sonra zamanla azalmasına bağlı olarak yapıldı. H₂O₂ için molar ekstinksiyon katsayısı 0,0396 cm²/μmol’ dur. Yöntemde 50 mmol/L test edilecek enzim çözeltisi üzerine 2,5 ml substrat çözeltisi eklenir ve 37 °C’ de 2 dakika bekletilir. Reaksiyonu durdurmak için ortama 0,5 ml 1M HCl çözeltisi ilave edilir. 240 nm’ deki absorbansı ölçülür. Kör olarak 2,5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH=6,8) ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözelti kullanılır. H₂O₂’nin başlangıçtaki absorbansını belirlemek için 2,5 ml substrat ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülür. Proteinin neden olacağı absorbansı belirlemek için 20 μL enzim çözeltisi, 2,5 ml fosfat tamponu ve 0,5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülür. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

3.10. Doku ve Plazma GSH-Px Enzim Aktivitesi Tayini

GSH-Px enzim aktivitesi ölçümü Lawrence ve Burk metoduna göre yapıldı [91]. Reaksiyon karışımı 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH=7,6), 1 mM EDTA, 1 mM sodyum azide, 0,2 mM redükte NADPH, 1 EU/ml GSSG, 1 mM GSH, 0,2 mM H₂O₂ içermektedir. Enzim kaynağından 0,1 ml alınarak 0,8 ml yukarıdaki karışımdan ilave edildi. Bu ilave karışıma 0,1 mL peroksit solüsyonu ilave edilerek reaksiyon başlatılmadan önce 25 °C’ de inkübe edildi. 5 dakika içerisinde 340 nm’ de absorbensları ölçüldü. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi. Protein miktarı da Lowry metoduna göre ölçüldü [92]. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

3.11. Doku ve Plazma GSH Tayini

Örnek GSH miktarı Sedlak ve Lindsay metodu kullanılarak 412 nm’ de ölçüm yapıldı [93]. Örnekler % 50 TCA ile çöktürüldü ve 5 dakika 1000xg’ de santrifüj yapıldı. Çöktürülen örneğin üst fazından 0,5 ml alınarak 2 ml Tris-EDTA tamponu (0,2 M, pH=8,9) ve 0,1 ml 0,01 M 5,5’-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit eklendi. Bu karışım oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve spektrofotometrede 412 nm’ de absorbensları ölçüldü. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

SPSS 10,0 programı ile istatistiksel değerlendirme yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar LSD testinin uygulanması ile bulundu. Standart sapma olarak standart error alındı.

5. BULGULAR

Tablo 5.1. Karaciğer dokusu biyokimyasal parametreleri

Gruplar	MDA (nmol/gr)	GSH (µmol/gr)	GSH-Px (U/mg protein)	KATALAZ (IU/ml)
K	63,30±1,80	171,05±3,76	19,71±1,25	687,14±28,96
KY	70,34±2,79	178,91±4,24 ^a	20,02±0,95	649,85±13,97
H	117,51±2,15 ^c	151,71±5,49 ^c	7,92±0,41 ^c	508,85±16,48 ^c
A	76,02±3,32 ^z	179,28±6,50 ^{bz}	26,35±1,26 ^{cz}	697,71±17,93 ^z
B	80,04±3,86 ^a	165,80±5,45 ^z	30,02±1,52 ^{cz}	695,85±14,73 ^z
T	74,61±3,57 ^z	172,15±3,35 ^z	29,05±1,02 ^{cz}	671,28±12,80 ^z
N	75,02±2,19 ^z	175,05±3,58 ^z	28,28±0,94 ^{cz}	715,57±15,17 ^z
HA	76,56±2,90 ^z	180,05±3,98 ^{bz}	17,50±0,90 ^z	637,28±32,36 ^z
HB	63,41±2,17 ^z	164,07±6,62 ^{az}	21,14±0,98 ^z	708,02±9,69 ^z
HT	77,88±3,10 ^{az}	170,58±9,86 ^z	29,07±1,56 ^{cz}	769,57±14,08 ^{bz}
HN	82,81±2,68 ^z	173,82±4,31 ^z	30,28±1,40 ^{cz}	623,57±24,16 ^{az}

K grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

H grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Karaciğer MDA düzeyleri incelendiğinde; K grubu MDA düzeyi ile A, T, N, HA, HB ve HN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H grubu MDA düzeyi K grubuna göre oldukça yüksek çıktığı saptandı ($p<0.001$). Ayrıca B grubu MDA düzeyi K grubuna göre yüksek çıktığı gözlemlendi ($p<0.05$). Tüm organik sentez maddelerin kombinasyonlu gruplarının MDA düzeyleri H grubuna göre düşük çıktığı tespit edildi ($p<0.001$).

Karaciğer dokusu GSH düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubuna göre H grubu GSH düzeyinin azaldığı saptandı ($p<0.001$). A grubunun GSH düzeyi K grubuna göre yüksek çıktığı gözlemlendi ($p<0.01$). H grubu GSH düzeyine göre tüm kombinasyonlu grupların GSH düzeylerinin arttığı tespit edildi ($p<0.001$).

Karaciğer dokusu GSH-Px enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; A, B, T ve N grupları GSH-Px enzim aktivite düzeyleri K grubuna göre yüksek çıktığı saptanırken ($p<0.001$), H grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyi K grubuna göre azaldığı tespit edildi ($p<0.001$). Tüm kombinasyonlu grupların GSH-Px enzim aktivite düzeyleri K ve H gruplarına göre yüksek çıktığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Karaciğer dokusu katalaz enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu katalaz enzim aktivite düzeyine göre H grubunun oldukça düşük çıktığı gözlemlendi ($p<0.001$). H grubu katalaz enzim aktivite düzeyi A, B, T, N ve tüm kombinasyonlu grupların katalaz enzim aktivitelerinden düşük çıktığı tespit edildi ($p<0.001$).

Tablo 5.2. Plazma dokusu biyokimyasal parametreleri

Gruplar	MDA (nmol/gr)	GSH (μmol/gr)	GSH-Px (U/mg protein)	KATALAZ (IU/ml)
K	4,77 $\pm$ 0,31	116,50 $\pm$ 2,58	6,37 $\pm$ 0,30	200,54 $\pm$ 7,26
KY	4,88 $\pm$ 0,41	122,37 $\pm$ 3,57	7,41 $\pm$ 0,85	198,88 $\pm$ 10,96
H	6,88 $\pm$ 0,26 ^c	108,37 $\pm$ 2,98 ^a	4,79 $\pm$ 0,35 ^a	113,47 $\pm$ 5,42 ^c
A	3,84 $\pm$ 0,13 ^{az}	131,02 $\pm$ 3,18 ^{cz}	5,75 $\pm$ 0,43	295,65 $\pm$ 13,49 ^{cz}
B	4,46 $\pm$ 0,25 ^z	122,35 $\pm$ 1,79 ^z	5,70 $\pm$ 0,46	585,22 $\pm$ 42,21 ^{cz}
T	6,48 $\pm$ 0,25 ^c	127,44 $\pm$ 2,10 ^{bz}	6,31 $\pm$ 0,42 ^x	310,88 $\pm$ 6,02 ^{cz}
N	5,16 $\pm$ 0,31 ^z	124,29 $\pm$ 2,94 ^z	12,02 $\pm$ 0,59 ^{cz}	207,54 $\pm$ 16,43 ^z
HA	4,70 $\pm$ 0,12 ^z	118,48 $\pm$ 2,07 ^x	5,01 $\pm$ 0,46	307,22 $\pm$ 21,96 ^{cz}
HB	5,58 $\pm$ 0,35 ^{az}	129,30 $\pm$ 3,31 ^{cz}	5,75 $\pm$ 0,61	216,87 $\pm$ 5,32 ^z
HT	6,87 $\pm$ 0,22 ^c	130,82 $\pm$ 2,35 ^{cz}	5,48 $\pm$ 0,33	245,41 $\pm$ 15,80 ^z
HN	4,34 $\pm$ 0,19 ^z	125,94 $\pm$ 3,56 ^{az}	7,14 $\pm$ 0,69 ^y	242,58 $\pm$ 5,91 ^z

K grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

H grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Plazma MDA düzeyleri incelendiğinde; H grubu MDA düzeyinin K grubuna göre yüksek çıktığı saptandı ($p<0.001$). A grubu MDA düzeyi K grubuna göre az çıktığı tespit edildi ($p<0.05$). K grubu MDA düzeyi ile KY, B, N, HA ve HN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). H grubu MDA düzeyine göre HA, HB ve HN gruplarının düzeylerinde azalma olduğu saptandı ($p<0.001$).

Plazma GSH düzeyleri incelendiğinde; H grubu GSH düzeyi K grubuna göre az çıktığı tespit edildi ($p<0.05$). K grubu GSH düzeyine göre A, T, HB, HT ve HN gruplarında artış olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$). H grubu GSH düzeyine göre HA, HB, HT ve HN grupları düzeylerinin yüksek çıktığı tespit edildi ($p<0.05$, $p<0.001$).

Plazma GSH-Px enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; H grubu GSH-Px enzim aktivitesi K grubuna göre azaldığı saptandı ($p<0.05$). K grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyi ile A, B, T, HA, HB ve HT grupları arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). H grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyine göre HN grubunda artış olduğu saptandı ($p<0.01$).

Plazma katalaz enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu katalaz enzim aktivite düzeylerine göre H grubunun katalaz enzim aktivitesinin azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). K grubu katalaz enzim aktivitesine göre A, B ve T gruplarında artışlar saptandı ($p<0.001$). H grubu katalaz enzim aktivitesine göre HA, HB, HT ve HN gruplarında yüksek çıktığı tespit edildi ($p<0.001$).

Tablo 5.3. Beyin biyokimyasal parametreleri

Gruplar	MDA (nmol/gr)	GSH (µmol/gr)	GSH-PX (U/mg protein)	KATALAZ (IU/ml)
K	179,85±4,46	580,80±7,31	30,28±1,71	89,71±1,44
KY	182,75±4,21	606,72±6,53 ^a	27,42±1,13	91,05±3,25
H	311,19±12,21 ^c	526,15±8,77 ^c	22,57±1,28 ^b	76,42±2,75 ^c
A	176,64±5,84 ^z	551,67±4,05 ^{by}	33,14±1,89 ^z	86,28±2,44 ^y
B	192,02±4,94 ^z	563,04±9,07 ^z	34,28±1,97 ^z	92,71±2,59 ^z
T	169,71±4,45 ^z	592,14±7,27 ^z	32,71±2,69 ^z	90,28±2,26 ^z
N	173,57±4,94 ^z	585,85±9,31 ^z	28,85±1,72 ^y	93,01±2,34 ^z
HA	198,28±5,51 ^{az}	614,42±6,17 ^{cz}	32,42±1,63 ^z	90,85±4,44 ^z
HB	156,14±9,01 ^{bz}	555,28±8,44 ^{by}	28,85±1,85 ^x	88,85±2,72 ^y
HT	193,42±5,35 ^z	618,14±7,86 ^{cz}	32,71±2,14 ^z	92,14±2,66 ^z
HN	180,57±4,64 ^z	610,28±6,88 ^{bz}	25,02±1,49 ^a	94,85±1,84 ^z

K grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

H grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Beyin dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde; H grubu MDA düzeyi K grubuna göre yüksek çıktığı tespit edildi ($p<0.001$). K grubuyla tüm bireysel grupların MDA düzeylerinde istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). H grubu MDA düzeyine göre HA, HB, HT ve HN gruplarında azalmalar gözlemlendi ($p<0.001$).

Beyin dokusu GSH düzeyleri incelendiğinde; K grubu GSH düzeyine göre H grubunda azalma olduğu saptandı ($p<0.01$). K grubu GSH düzeyi ile B, T ve N grupları arasında istatistiksel fark gözlenmezken ($p>0.05$), A grubunda azalma gözlemlendi ($p<0.01$). H grubunun GSH düzeyine göre HA, HB, HT ve HN gruplarının yüksek çıktığı tespit edildi ($p<0.01$, $p<0.001$).

Beyin dokusu GSH-Px enzim aktiviteleri incelendiğinde H grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyi K grubuna göre azaldığı tespit edildi ($p<0.01$). Tüm bireysel grupların GSH-Px enzim aktiviteleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). HA, HB ve HT grupları GSH-Px enzim aktiviteleri H grubuna göre yüksek çıktığı saptandı ($p<0.05$, $p<0.001$).

Beyin dokusunun katalaz enzim aktivitesi incelendiğinde K grubu katalaz enzim aktivite düzeylerine göre H grubunda azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). K grubu katalaz enzim aktivitesine göre B, T, N, HA, HT ve HN gruplarında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H grubu katalaz enzim aktivitesine göre tüm grupların katalaz enzim aktivitesi düzeylerinin yüksek çıktığı saptandı ($p<0.01$, $p<0.001$).

Tablo 5.4. Karaciğer Dokusu Önemli Yağ Asit Düzeyleri (%) (1)

Yağ Asitleri	K	KY	H	N	A	B
14:0	0,98±0,06	0,96±0,04	0,44±0,04 ^c	0,33±0,03 ^c	0,63±0,03 ^{cz}	0,58±0,003 ^{cx}
15:0	0,96±0,02	0,85±0,01	0,86±0,08	0,72±0,08 ^b	0,58±0,02 ^{cy}	0,73±0,07 ^b
16:0	18,22±0,22	17,99±0,19	17,45±0,21 ^b	17,74±0,22 ^a	18,98±0,17 ^{bz}	17,58±0,15 ^b
17:0	1,89±0,09	1,61±0,06	1,55±0,22	1,67±0,09	1,45±0,13	1,92±0,04
18:0	15,59±0,36	16,66±0,37	18,35±0,19 ^c	17,92±0,40 ^c	16,49±0,21 ^z	17,12±0,26 ^{bx}
20:0	0,38±0,04	0,45±0,10	0,61±0,06 ^b	0,32±0,04 ^z	0,40±0,01 ^x	0,47±0,03
ΣSFA	38,02±0,25	38,52±0,19	39,26±0,21 ^a	38,70±0,23	38,53±0,15	38,40±0,20
16:1n7	1,43±0,04	1,73±0,01	1,01±0,03 ^c	0,96±0,05 ^c	1,58±0,03 ^{bz}	1,2±0,02 ^{bz}
18:1n9	11,36±0,30	12,15±0,40	10,08±0,54 ^a	8,75±0,39 ^{cx}	11,96±0,61 ^y	11,19±0,27
20:1	0,14±0,01	0,16±0,01	0,15±0,01	0,13±0,01	0,17±0,01	0,14±0,005
MUFA	12,93±0,11	14,04±0,09 ^{cz}	11,24±0,13 ^c	9,84±0,10 ^{cz}	13,71±0,13 ^{cz}	12,53±0,08 ^z
18:2n6	15,04±0,30	16,11±0,35	12,82±0,29 ^c	14,73±0,63 ^y	13,28±0,54 ^b	14,46±0,37 ^x
18:3n6	0,14±0,01	0,21±0,08 ^a	0,18±0,01	0,23±0,02 ^a	0,21±0,009 ^a	0,19±0,02 ^a
20:3n6	1,26±0,02	1,30±0,03	1,38±0,06	1,39±0,02	0,98±0,01 ^{bz}	1,15±0,06 ^x
20:4n6	22,02±0,14	22,46±0,29	22,86±0,19 ^a	22,97±0,27 ^a	21,93±0,18	22,63±0,16
22:6n3	4,20±0,11	4,36±0,07	4,85±0,14 ^b	4,59±0,07 ^{ax}	4,93±0,12 ^b	4,25±0,18 ^y
PUFA	42,66±0,20	44,44±0,19 ^c	42,09±0,21	43,91±0,25 ^{ax}	41,33±0,37 ^a	42,68±0,32
ΣUSFA	55,59±0,35	58,48±0,28 ^c	53,33±0,25 ^a	53,75±0,37 ^a	55,04±0,28 ^x	55,21±0,24 ^x

K grubuna göre karşılaştırma a:p<0.05 b:p<0.01 c:p<0.001

H grubuna göre karşılaştırma x:p<0.05 y:p<0.01 z:p<0.001

Tablo 5.5. Karaciğer Dokusu Önemli Yağ Asit Düzeyleri (%) (2)

Yağ Asitleri	K	T	HN	HA	HB	HT
14:0	0,98±0,06	0,50±0,04	0,76±0,04 ^{cz}	0,42±0,04 ^c	0,42±0,02 ^c	0,30±0,02 ^{cx}
15:0	0,96±0,02	0,65±0,05 ^{cx}	0,95±0,02	0,58±0,02 ^{cy}	0,70±0,11 ^b	0,45±0,01 ^{cz}
16:0	18,22±0,22	15,97±0,61 ^{cx}	17,30±0,35	17,80±0,50	17,23±0,58	18,17±0,29
17:0	1,89±0,09	1,57±0,14	1,96±0,14	1,49±0,05	1,79±0,17	1,19±0,04
18:0	15,59±0,36	16,46±0,11 ^z	15,18±0,12 ^z	18,36±0,22 ^c	17,42±0,61 ^c	18,69±0,24 ^c
20:0	0,38±0,04	0,58±0,04 ^a	0,39±0,01 ^y	0,41±0,04	0,35±0,05 ^y	0,46±0,09
ΣSFA	38,02±0,25	35,73±0,21 ^{cz}	36,54±0,23 ^{bz}	39,06±0,30 ^b	37,91±0,28 ^x	39,26±0,35 ^c
16:1n7	1,43±0,04	0,97±0,01 ^c	1,59±0,04 ^{bz}	0,94±0,03 ^c	0,97±0,03 ^c	0,93±0,02 ^c
18:1n9	11,36±0,30	10,02±0,15 ^a	13,0±0,09 ^{bz}	8,26±0,66 ^{cy}	9,89±0,38 ^a	8,54±0,32 ^{cx}
20:1	0,14±0,01	0,16±0,01	0,14±0,02	0,14±0,01	0,15±0,02	0,12±0,009
MUFA	12,93±0,11	11,15±0,13 ^c	14,73±0,15 ^{cz}	9,34±0,08 ^{cz}	11,01±0,12 ^c	9,59±0,17 ^{cz}
18:2n6	15,04±0,30	13,44±0,35 ^a	13,99±0,65	14,37±0,42 ^x	14,19±0,32 ^x	15,16±0,31 ^z
18:3n6	0,14±0,01	0,17±0,003	0,21±0,02	0,25±0,04	0,33±0,06	0,15±0,003
20:3n6	1,26±0,02	1,27±0,03	1,19±0,03	1,11±0,02 ^x	1,08±0,04 ^y	0,82±0,03 ^{cz}
20:4n6	22,02±0,14	25,45±0,24 ^{cz}	23,10±0,18 ^a	24,43±0,38 ^{cy}	23,27±0,14 ^a	24,44±0,22 ^{cy}
22:6n3	4,20±0,11	4,99±0,22 ^b	4,36±0,14 ^y	5,19±0,10 ^c	4,70±0,15 ^a	5,44±0,14 ^{cx}
PUFA	42,66±0,20	45,32±0,35 ^{cz}	42,85±0,32	45,35±0,29 ^{cz}	43,57±0,25 ^{ax}	46,01±0,27 ^{cz}
ΣUSFA	55,59±0,35	56,47±0,37 ^z	57,58±0,28 ^{bz}	54,69±0,32 ^x	54,58±0,34 ^x	55,6±0,23 ^y

K grubuna göre karşılaştırma a:p<0.05 b:p<0.01 c:p<0.001

H grubuna göre karşılaştırma x:p<0.05 y:p<0.01 z:p<0.001

Karaciğer dokusu yağ asit düzeyleri incelendiğinde; K grubuna göre H grubunun 16:0, 16:1n7, 18:1n9, 18:2n6, Σ USFA ve MUFA yağ asit düzeyleri azalırken ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$), 18:0 22:6n3 ve Σ SFA düzeyleri arttı ($p<0.05$, $p<0.001$). K grubuna göre N grubunun 16:0, 16:1n7, 18:1n9, MUFA ve Σ USFA yağ asit düzeyleri azalırken ($p<0.05$, $p<0.001$) 18:0, 18:3n6, 22:6n3, PUFA yağ asit düzeylerinde artışlar gözlemlendi ($p<0.05$, $p<0.001$). Sentez maddelerinde A maddesi 22:6n3, 18:3n6, 16:1n7 ve MUFA düzeylerinde K grubuna göre yüksek çıktığı saptanırken ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$), PUFA, 20:3n6, 18:2n6 seviyelerinin azaldığı tespit edildi ($p<0.05$, $p<0.01$). K grubu yağ asitleri ile B grubu yağ asitleri arasında önemli farklılıklar genel olarak gözlemlenmedi ($p>0.05$). Fakat K grubu yağ asit düzeylerine göre T grubu yağ asitleri arasında önemli istatistiksel farklar gözlemlendi. K grubuna göre T grubunda 16:0, Σ SFA, 16:1n7, 18:1n9, MUFA, 18:2n6 yağ asit düzeyleri azalırken 20:4n6, 22:6n3, PUFA düzeylerinde önemli artışlar tespit edildi ($p<0.01$, $p<0.001$). T grubu Σ USFA düzeylerinde ise nispi bir artış gözlemlendi ($p>0.05$).

Çalışmamızda en ilginç bulgular ise kombinasyonlu gruplarda gözlemlendi. Naringenin verilen HN grubunda Σ USFA, MUFA, 20:4n6, 18:2n6, 16:1n7, 18:1n9 düzeyleri H grubuna göre artışlar tespit edilirken, 22:6n3 ve Σ SFA düzeylerinin azaldığı saptandı ($p<0.001$). Ayrıca organik sentez maddelerinden A, B, T maddelerinin kombinasyonlu gruplarında Σ USFA, PUFA, MUFA, 18:2n6 düzeyleri H grubuna göre yüksek çıktığı gözlemlendi ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$).

Karaciğer dokusu yağ asit düzeyleri incelendiğinde; KY grubu ile H, N ve HN gruplarının 16:0 yağ asitleri düzeylerinde istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H ve N grubu 18:0 yağ asit düzeyi KY grubuna göre artarken ($p<0.001$), HN grubu yağ asit düzeyi KY' ye göre azalmıştır ($p<0.05$). HN grubu Σ SFA düzeyi KY, N ve H gruplarına göre azaldığı saptandı ($p<0.001$). KY ve HN grupları 16:1n7, 18:1n9 ve MUFA yağ asitleri düzeylerinde anlamsal fark gözlemlenmezken ($p>0.05$), HN grubu bu yağ asitleri düzeyi H ve N gruplarına göre yüksek çıktığı saptandı ($p<0.001$). KY grubu 18:2n6 yağ asidi düzeyine göre H grubunda azalma gözlemlenirken ($p<0.001$), HN grubu 18:2n6 yağ asit düzeyinde H grubuna göre arttığı saptandı ($p<0.01$). H grubu PUFA düzeyi KY grubuna göre azalırken ($p<0.01$), HN grubu PUFA düzeyi H grubuna göre arttığı saptandı ($p<0.05$). En önemli sonuçlarımızdan Σ USFA düzeyi KY grubuna göre

H grubunda önemli düzeyde azaldığı tespit edilirken, HN grubu bu yağ asidi düzeyini H grubuna göre artırdığı saptandı ($p<0.001$).

6. TARTIŞMALAR

Bu çalışmada H_2O_2 ile oksidatif stres oluşturulmuş sıçanların üzerine flavonoid türevli maddelerden naringenin ile organik sentez maddelerin {(Benzofuran-2-il)(3-fenil-3-metilsiklobütil)ketoksim, (Benzofuran-2-il)(3-metil-3-mezitilsiklobütil)keton tiyosemikarbazon ve 1,3-bis(2-klorbenzoil)imidazolin-2-tiyon}, bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri incelendi. Sıçanlarda plazma, karaciğer, beyin dokularındaki MDA, GSH, GSH-Px, katalaz ve karaciğer dokusu yağ asit düzeyleri araştırıldı.

İncelenen tüm dokularda H_2O_2 grubu MDA düzeyi kontrol grubuna göre yüksek çıktığı gözlemlendi. H_2O_2 'nin radikal etki göstererek oksidatif stresi arttırdığını düşünmekteyiz. H_2O_2 verilen rat karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında MDA düzeyinin oldukça yüksek çıktığı rapor edildi [94]. Ayrıca H_2O_2 'in hücrelerde DNA, hücre zarı lipidleri, proteinler ve enzimler üzerinde olumsuz etkileri belirtildi [95]. Doğal bir antioksidan olan naringenin, kombinasyonlu grupta H_2O_2 'nin oluşturduğu yüksek oksidatif stres durumunu azalttığı görüldü. Naringenin arsenik verilen rat karaciğerlerinde yüksek MDA ve ROT düzeylerini azaltarak antioksidan etki gösterdiği bildirildi [96]. Ayrıca kadminyum ile oksidatif stres oluşturulan ratlarda naringenin lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirildi [50]. Naringenin ile yapılan birçok çalışmada bu maddenin antitümör [12], antienflamatuvar [13], hepatoprotektif [14], antihiperlipidemik [15] ve antiatherojenik [16] etkileri belirtildi. Karaciğer dokusunda ratlara uygulanan tüm organik sentez maddelerinin kombinasyonlu gruplarında H_2O_2 'nin oluşturduğu yüksek MDA düzeyini azalttığı gözlemlendi. Plazmada A ve B maddelerinin beyin dokusunda tüm organik sentez maddelerin kombinasyonlu gruplarında H_2O_2 'nin oluşturduğu yüksek MDA düzeyini azalttığı tespit edildi. Organik sentez maddelerinden T maddesi tiyosemikarbazon, A maddesi ise oksim ve benzofuran yapılarını teşkil etmektedir. Bu alanda yapılan önemli çalışmalardan biri bütan-2-3-diyon tiyosemikarbazon oksim ile yapılan antioksidan çalışmasıdır. Çalışmada bu maddenin in vitro şartlarda H_2O_2 , nitrik oksit (NO), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), hidroksi radikaline karşı etkinliği incelendi. Çalışma sonucunda serbest radikallere karşı bu maddenin antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtildi. Ayrıca karaciğer ve böbrek dokularında oluşan lipid peroksidasyonunu engellediği açıklandı [97]. Tüm dokuların

GSH düzeyleri incelendiğinde; H_2O_2 grubu GSH düzeyinin kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi. Genel olarak tüm dokuların A, B, T, N ve kombinasyonlu grupların GSH düzeyleri H_2O_2 grubuna göre yüksek çıktığı gözlemlendi. GSH-Px ve katalaz enzim aktiviteleri düzeyleri incelendiğinde; tüm dokularda H_2O_2 'nin bu enzim aktivitelerini azalttığı ve uygulanan naringenin ve organik sentez maddelerinin bu enzim aktivitelerini genel olarak arttırdığı gözlemlendi. H_2O_2 uygulanan rat karaciğer, böbrek, akciğer ve beyin dokularında GSH-Px ve katalaz enzim aktivitelerinde azalmalar olduğu rapor edildi [94]. Naringenin uygulanan rat dokularında GSH, SOD, katalaz ve GSH-Px enzim aktivitelerini önemli düzeyde arttırdığı bildirildi [98]. Katalaz ve GSH-Px serbest radikallerin oluşturduğu hücrel hasarlara karşı en önemli antioksidan enzimlerdir [99]. Katalaz ve GSH-Px enzim aktiviteleri H_2O_2 'yi suya dönüştürürler [78].

Hidrojen peroksit oksitleyici bir tür olarak demir, bakır gibi metal iyonlarıyla reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur. H_2O_2 proteinlerin hem gurubunda bulunan demir ile reaksiyona girdiğinde reaktif demirler oluşur ve radikal tepkimeler başlar. H_2O_2 süperoksit radikali ile tepkimeye girerek en zararlı radikal olan hidroksil radikalini oluşturur. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir. Bu reaksiyon katalizörlü olursa tepkime çok hızlıdır. Ferri demir (Fe^{+3}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Oluşan ferro demir Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 'den hidroksil radikali üretilir [21].

Tiyosemikarbazon oksimlerle yapılan bir çalışmada fare karaciğer, böbrek ve beyin doku homejenatlarında bu tür organik maddelerin Fe^{+2} ile etkileşim kapasitesinin yüksek olduğu bulundu. Bunun sebebi olarakta bu tür maddelerin elektron-donör merkezlerinde bulunan oksijen, kükürt ve azot atomları ile reaksiyonları ve bağlanmaları olduğu açıklanmıştır. Bu çalışmanın sonucu olarakta bu tür maddelerin antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu belirtilmiştir [97]. Çalışmamızda kullanılan tiyosemikarbazon, benzofuran, ketoksim ve imidazol türevli maddeler olup bu yapıların bünyesinde oksijen azot ve kükürt atomları bulunmaktadır. Çalışmada tüm doku örneklerinde organik sentez maddelerimizin lipid peroksidasyonunu azaltması ve enzim aktivitelerini arttırması maddelerimizin antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğunu göstermektedir. Benzofuran türevli maddelerin antikanser, antimikrobiyal [55], antitümör [56,57], anti-HIV [59] ve antioksidan [60] aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. İmidazol türevli maddelerin antihipertansif, antiviral, antibakteriyel ve antioksidan

aktiviteleri bildirilmiştir [62]. Tiyosemikarbazon türevli maddelerin antiviral, antikanser, antitümör, antibakteriyel, antienflamatuvar ve antiamibik etkilerinin olduğu rapor edilmiştir [65].

Sonuçlarımıza göre karaciğer dokusu üzerine H_2O_2 'nin yağ asit metabolizmasına olumsuz yönde etki ettiğini düşünmekteyiz. H_2O_2 'nin 16:0, 16:1n7, 18:1n9, MUFA, 18:2n6 ve Σ USFA yağ asitlerini azalttığını tespit ettik. H_2O_2 'nin tekli ve çoklu doymamış yağ asit düzeylerini kontrol grubuna göre azaltmasını bu metabolik yollarda aktif olan enzim sistemini olumsuz yönde etkilediğini düşünmekteyiz.

Steroil CoA desaturaz enzimi, palmitik asit (16:0) ve stearik asiti (18:0) substrat olarak kullanır [100, 101]. Palmitoleik (16:1n7) ve oleik asit (18:1n9) gibi yağ asitlerini bu enzim sentezler. Palmitoleik asit ve oleik asitin H_2O_2 grubunda azalması bu enzimin aktivitesinin azalması sonucunda gerçekleştiğini düşünmekteyiz. Sonuçlarımızda en önemli olan değişim 18:2n6 yağ asidi düzeyinin H_2O_2 grubunda azalmasıdır. 18:2n6 yağ asidinden araşidonik asit (20:4n6) sentezi $\Delta 6$ ve $\Delta 5$ desaturaz enzimleriyle gerçekleşmektedir. H_2O_2 'nin kontrol grubuna göre 18:2n6 düzeyini azaltıp, 20:4n6 yağ asidi düzeyini artırması bu enzimleri aktive edebileceğini düşündürmektedir. Araşidonik asitin beyin gelişimi, kalp fonksiyonları ve dengenin sağlanması gibi önemli görevleri olduğu belirtilmiştir [102]. Ancak bazı araştırmalarda ise araşidonik asitin aşırı artması hücre içinde Ca^{+2} iyonlarının artmasına neden olacağı için hücrede sitotoksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [103]. Karaciğer dokusunda Σ USFA ve MUFA düzeylerinin H_2O_2 grubunda azalması genel olarak bu maddenin doymamış yağ asitlerine oksidatif stres etkisinin olduğunu düşünmekteyiz.

Karaciğer dokusu yağ verilen kontrol grubu (KY) H, N ve HN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi. Ayrıca KY grubu 18:0 yağ asidi düzeyine göre H ve N gruplarında artışlar gözlenirken HN grubunda azalma tespit edildi. HN grubu 16:1n7, 18:1n9 ve MUFA düzeylerinin KY grubuyla istatistiksel fark olmadığı gözlenirken, H ve N gruplarına göre HN grubunun bu yağ asit düzeylerinin yüksek çıktığı saptandı. HN grubunun 16:1n7 ve 18:1n9 yağ asit düzeylerinin H grubuna göre yüksek düzeyde çıkması naringenin etkisiyle kombinasyonlu grupta yağ asidi sentezinde görev yapan desaturaz enziminin aktivitesinin artmasını göstermektedir. En önemli sonuçlarımızdan biride 18:2n6 yağ asidi düzeyinin H grubundaki azalmasıdır. H_2O_2 'nin oksidatif stres etkisiyle bu yağ asidi düzeyindeki azalmayı kombinasyonlu gruptaki artışı naringenin

etkisiyle olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca önemli bulgularımızdan biride Σ USFA düzeyinin antioksidan bir madde olan naringenin H_2O_2 ' ye karşı pozitif yöndeki etkisini açıkça göstermiştir. Genel olarak incelediğimizde H_2O_2 ' nin çoklu doymamış yağ asidi düzeylerinin toplamı olan Σ USFA düzeyini azalttığı ancak organik sentez maddelerinin H grubuna göre gerek bireysel gruplarında gerekse kombinasyonlu gruplarında arttığını görmekteyiz. Ayrıca benzer durumu 18:2n6 yağ asidi düzeylerindede paralel durum gözlenmiştir. Bu alanda yapılan önemli bir çalışmada, H_2O_2 verilen kobayların Σ SFA, 18:2n6 ve PUFA düzeylerini önemli düzeyde azalttığı vitamin E, lipoik asit ve linalolün düzeltici yönde etki ettiği belirtildi [104]. Lipidlerin özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif hasarlarda birinci derecede etkilendiği rapor edilmiştir [105].

Sonuç olarak H_2O_2 verilerek oluşturulan oksidatif stres sonucunda yüksek MDA düzeyinin naringenin ve uygulanan organik sentez maddelerinin azalttığı görülmüştür. Ayrıca hücre antioksidan sisteminde önemli rolleri olan GSH, GSH-Px ve katalaz enzim aktiviteleri üzerine H_2O_2 ' nin olumsuz etkilerini naringenin ve organik sentez maddelerinin azaltıcı yönde etkilediği tespit edildi. Doğal bir antioksidan olan naringenin gibi uygulanan organik sentez maddelerinin benzer etki göstermesi bu maddeler içerisinde bulunan aktif azot oksijen ve kükürt gruplarının biyokimyasal özelliklerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Oksidatif strese karşı naringenin ve bu organik maddelerin lipid peroksidasyon ve antioksidan sistem üzerine gösterdiği pozitif etkiyi yağ asitleri üzerindede genel olarak göstermiştir.

Bu çalışmada kullanılan organik sentez maddelerinin ileriki çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1] Bedard, K., Krause, K.H., (2007). The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology, *Physical review*, 87: 245–313.
- [2] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed, Oxford 7 Clarendon Press.
- [3] Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J., (2004). Role of Oxygen Radicals in DNA Damage and Cancer Incidence, *Molecular And Cellular Biochemistry*, 266: 37– 56.
- [4] Davies, K. J. A., (1995). Oxidative Stress: The Paradox of Aerobic Life, *Biochemistry Society Symposium*, 61: 1–31.
- [5] Halliwell, B., Gutteridge, J.M., (1989). *Free radicals in biology and medicine*, Clarendon Press, Oxford.
- [6] Robinson, E.E., Maxwell, S.R., Thorpe, G.H., (1997). An Investigation of Antioxidant Activity of Black Tea Using Enhanced Chemiluminescence, *Free Radical Research*, 26 (3): 291–302.
- [7] Özkaya, A., Çelik, S., Yüce, A., Şahin, Z., Yılmaz, Ö., (2010). The Effects of Ellagic Acid on Some Biochemical Parameters in the Liver of Rats Against Oxidative Stress Induced by Aluminum, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (2): 263-268.
- [8] Çiftçi, H., Özkaya, A., Dayangaç, A., Ölçücü, A., Çelik, S., Şahin, Z., Ateş, S., (2009). Effect of Lipoic Acid on the Some Elements in Brain Tissue of DMBA-Induced Guinea Pigs, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (4): 569-573.
- [9] Gutteridge, J.M.C., (1993). Free Radicals in Diseases Processes: A Compilation of Cause and Consequence, *Free Radical Research Communications*, 19: 141– 158.
- [10] Kehrer, J., (1993). Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease, *Critical Reviews in Toxicology*, 23(1): 21 – 48.
- [11] Storz, P., (2005). Reactive Oxygen Species in Tumor Progression, *Frontiers in Bioscience*, 10:1881–1896.
- [12] Kanno, S., Tomizawa, A., Hiura, T., Osanai, Y., Shouji, A., Ujibe, M., Ohtake, T., Kimura, K., Ishikawa, M., (2005). Inhibitory Effects of Naringenin on Tumor Growth in Human Cancer Cell Lines and Sarcoma S-180-Implanted Mice, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28: 527-530.

- [13] Hirai, S., Kim, Y.I., Goto, T., Kang, M.S., Yoshimura, M., Obata, A., Yu, R., Kawada, T., (2007). Inhibitory Effect of Naringenin Chalcone on Inflammatory Changes in the Interaction Between Adipocytes and Macrophages, *Life Sciences*, 81: 1272-1279.
- [14] Renugadevi, J., Milton, P.S., (2010). Cadmium-Induced Hepatotoxicity in Rats and The Protective Effect of Naringenin, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62: 171-181.
- [15] Santos, K.F.R., Oliveria, T.T., Nagem, T.J., Pinto, A.S., Oliveria, M.G.A., (1999). Hypolipidemic Effects of Naringenin, Rutin, Nicotinic Acid and their Association, *Pharmacological Research*, 40: 493-496.
- [16] Lee, C.H., Jeong, T.S., Choi, Y.K., Hyun, B.H., Oh, G.T., Kim, E.H., Kim, J.R., Han, J.I., Bok, S.H., (2001). Anti-Atherogenic Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, Associated with Hepatic ACAT and Aortic VCAM-1 and MCP-1 in High Cholesterol-Fed Rabbits, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 284: 681–688.
- [17] Yukun, Q., Xing, R., Liu, S., Li, K., Meng, X., Li, R., Cui, J., Li, B., Li, P., (2012). Novel thiosemicarbazone chitosan derivatives: Preparation, characterization, and antifungal activity, *Carbohydrate Polymers*, 87:2664-2670.
- [18] Kao, C.L., Chern, J.W., (2001). A convenient synthesis of naturally occurring benzofuran aianthoidol, *Tetrahedron Letters*, 42: 1111-1113.
- [19] Kazak, C., Yılmaz, V.T., Servi, S., Koca, M., Heinemann, F.W., (2005). 1,3-Dibenzoylimidazolidine-2-thione and 1,3-dibenzoyl-3,4,5,6-tetrahydro-pyrimidine-2(1H)-thione, *Acta Crystallographica Section C*, 61: 348-350.
- [20] Kumar, V., Sharma, M., Lemos, M., Shriram, V., (2013). Efficacy of *Helicteres isora* L. against free radicals, lipid peroxidation, protein oxidation and DNA damage, *Journal of Pharmacy Research*, (6): 620-625.
- [21] Gözükar, E.M., (2011). *Biyokimya*, 5. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, Hadımköy-İstanbul.
- [22] Ünal, M., Yöntem, M., (2011). *Biyokimya*, Aybil Yayınevi, Konya.
- [23] Galano, A., Tan, X.D., Reiter, R.J., (2011). Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination, *Journal of Pineal Research*, (51): 1-16.
- [24] Altan, N., Dinçel, A.S., Koca, C., (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, *Turkish Journal of Biochemistry*, 31 (2) 51-56.
- [25] Akça, H., (2011). Çocukluk çağı demir eksikliği anemisinde total oksidatif stres ve total antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi, Uzmanlık tezi, Fatih Üniversitesi, Ankara.

- [26] Keleştemur, G. T., Özdemir, Y., (2011). Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif stres, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1): 69-73.
- [27] Lushchak, V., Semchyshyn, H.M., (2012). *Oxidative Stress–Molecular Mechanisms and Biological Effects*, Published by InTech, Rijeka, Hırvatistan.
- [28] Özkaya, A., (2007). Oksidatif strese maruz kalan ratların bazı biyokimyasal parametrelerine hesperetin ve ellagik asidin etkisi, Doktora tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- [29] Young, I. S., Woodside, J. V., (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal Of Clinical Pathology*, 54(3): 176-186.
- [30] Gönenç, A., Hacışevki, A., Tavil, Y., Çengel, A., Torun, M., (2013). Oxidative stress in patients with essential hypertension: A comparison of dippers and non-dippers, *European journal of internal medicine*, (24): 139-144.
- [31] Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B., (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?, *Free Radical Biology & Medicine*, 49: 1603–1616.
- [32] Rains, L.J., Jain, K.S., (2011). Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes, *Free Radical Biology & Medicine*, 50: 567–575.
- [33] Huang, Y.L., Sheu, J.Y., Lin, T.H., (1999). Association Between Oxidative Stress and Changes of Trace Elements in Patients with Breast Cancer, *Clinical Biochemistry*, 32(2): 131-136.
- [34] Clarkson, P.M., Thompson, H.S., (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?, *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2): 637-646.
- [35] Freinbichler, W., Colivicchi, M.A., Stefanini, C., Bianchi, L., Ballini, C., Misini, B., Weinberger, P., Linert, W., Varešlija, D., Tipton, K.F., Della Corte, L., (2011). Highly reactive oxygen species: detection, formation, and possible functions, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(12): 2067-2079.
- [36] Niki, E., (2010). Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo, *Free Radical Biology & Medicine*, 49(4): 503-515.
- [37] Karageçili, H., (2012). Kök hücre transplantasyonu hastalarında serum demir parametreleri ile paraoksonaz, arilesteraz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisinin incelenmesi, Doktora tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- [38] Percival M., (1998). Antioxidants, *Clinical Nutrition Insights*, 98(10): 1-4.
- [39] Alam, N.M., Bristi, J.N., Rafiquzzaman, M., (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143–152.

- [40] Lü, J., Lin, P., Yao, Q., Chen, C., (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4): 840-860.
- [41] Limón-Pacheco, J., Gonsébat, M.E., (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress, *Mutation Research*, 674: 137-147.
- [42] Kaur, C., Kapoor, H.C., (2001). Antioxidants in Fruits and Vegetables- The Millennium's Health, *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 703-725.
- [43] Barber, D., Harris, S., (1994). Oxygen Free Radicals and Antioxidants, *American Pharmacy*, 34: 26-35.
- [44] Abdel-Hameed, E.S.E., Nagaty, M.A., Salman, M.S., Bazaid, S.A., (2014). Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA, *Food Chemistry* 160: 31-38.
- [45] Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U., (2008). Indian Medicinal Herbs as Sources of Antioxidants, *Food Research International*, 41: 1-15.
- [46] D'Archivio, M., Filesì, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R., (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Ann Ist Super Sanita*, 43(4): 348-361.
- [47] Olsen, K.M., Hehn, A., Jugdé, H., Slimestad, R., Larbat, R., Bourgaud, F., Lillo, C., (2010). Identification and characterisation of CYP75A31, a new flavonoid 3'5'-hydroxylase, isolated from *Solanum lycopersicum*, *BMC Plant Biology*, 21: 1-12.
- [48] Leopoldini, M., Russo, N., Toscano, M., (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants'', *Food Chemistry*, 125(2): 288-306.
- [49] Yi, L.T., Li, C.F., Zhan, X., Cui, C.C., Xiao, F., Zhou, L.P., Xie, Y., (2010). Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the flavonoid naringenin in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 34: 1223-1228.
- [50] Renugadevi, J., Prabu S.M., (2009). Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats, *Toxicology*, 256: 128-134.
- [51] Ekambaram, G., Rajendran, P., Magesh, V., Sakthisekaran, D., (2008). Naringenin reduces tumor size and weight lost in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in rats, *Nutrition Research*, 28(2): 106-112.

- [52] Koca, M., Servi, S., Kirilmis, C., Ahmedzade, M., Kazaz, C., Özbek, B., Ötük, G., (2005). Synthesis and antimicrobial activity of some novel derivatives of benzofuran: part 1. Synthesis and antimicrobial activity of (benzofuran-2-yl)(3-phenyl-3-methylcyclobutyl) ketoxime derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40: 1351–1358.
- [53] Rangaswamy, J., Kumar, H.V., Harini, S.T., Naik, N., (2013). Functionalized 3-(benzofuran-2-yl)-5-(4-methoxyphenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole scaffolds: A new class of antimicrobials and antioxidants, *Arabian Journal of Chemistry*,
- [54] Ugale, V., Patel, H., Patel, B., Bari, S., (2012). Benzofurano-isatins: Search for antimicrobial agents, *Arabian Journal of Chemistry*,
- [55] Xie, Y.S., Kumar, D., Bodduri, V.D.V., Tarani, P.S., Zhao, B.X., Miao, J.Y., Jang, K., Shin, D.S., (2014). Microwave-assisted parallel synthesis of benzofuran-2-carboxamide derivatives bearing anti-inflammatory, analgesic and antipyretic agents, *Tetrahedron Letters*, 55: 2796–2800.
- [56] Baraldi P.G., Romagnoli, R., Pavani, M.G., (2002). Benzoyl and cinnamoyl nitrogen mustard derivatives of benzoheterocyclic analogues of the tallimustine: Synthesis and antitumour activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10: 1611-1618.
- [57] Hayakawa, I., Shioya, R., Agatsuma, T., (2004). Thienopyridine and benzofuran derivatives as potent anti-tumor agents possessing different structure-activity relationships, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14: 3411-3414.
- [58] Ohno, M., Miyamoto, M., Hoshi, K., (2005). Development of dual-acting benzofurans for thromboxane A(2) receptor antagonist and prostacyclin receptor agonist: Synthesis, structureactivity relationship, and evaluation of benzofuran derivatives, *Journal of Medicinal Chemistry*, 48: 5279-5294.
- [59] Parekh, S., Bhavsar, D., Savant, M., Thakrar, S., Bavishi, A., Parmar, M., Vala, H., Radadiya, A., Pandya, N., Serly, J., Molnár, J., Shah, A., (2011). Synthesis of some novel benzofuran-2-yl(4,5-dihydro-3,5-substituted diphenylpyrazol-1-yl) methanones and studies on the antiproliferative effects and reversal of multidrug resistance of human MDR1-gene transfected Mouse lymphoma cells in vitro, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46: 1942-1948.
- [60] Grisar, J.M., Bolkenius, F.N., Petty, M.A., (1995). 2,3-Dihydro-1-benzofuran-5-ols as analogs of a-tocopherol that inhibit in-vitro and ex-vivo lipid autoxidation and protect mice against centralnervous-system trauma, *Journal of Medicinal Chemistry*, 38: 453-458.
- [61] İkizoğlu, N., (2012). İmidazol ve Oksindolün Çeşitli Metal Bileşikleri ile Reaksiyonları, Oluşan Komplekslerin Yapılarının Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli.

- [62] Sarı, İ., (2009). Benzofuran ve Benzimidazol İhtiva Eden Bileşiğin Ratlardaki (Wistar) Bazı Kan Parametrelerine Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- [63] Pal, I., Basuli, F., Bhattacharya, S. (2002). Thiosemicarbazone complexes of the platinum metals. A story of variable coordination models, *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Chemical Sciences*, 114: 255-268.
- [64] Kizilcikli, I., Ulkuseven, B., Dasdemir, Y., Akkurt, B., (2004). Zn(II) and Pd(II) complexes of thiosemicarbazone-S-alkyl esters derived from 2/3-formylpyridine, *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 34: 653-665.
- [65] Prathima, B., Rao, Y.S., Reddy, S.A., Reddy, Y.P., Reddy, A.V., (2010). Copper(II) and nickel(II) complexes of benzyloxybenzaldehyde-4-phenyl-3-thiosemicarbazone: Synthesis, characterization and biological activity, *Spectrochimica Acta Part A-Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 77: 248-252.
- [66] Teitz, Y., Ronen, D., Vansover, A., Stematsky, T., Riggs, J.L., (1994). Inhibition of Human-Immunodeficiency-Virus N-Methylisatin-Beta'/4'-Diethylthiosemicarbazone and N-allylisatin-beta-4':4'-diallylthiosemicarbazone, *Antiviral Research*, 24: 305-314.
- [67] Kassab, S.E., Hegazy, G.H., Eid, N.M., Amin, K.M., El-Gendy, A.A., (2010). Synthesis of 1H-Indole-2,3-Dione-3-Thiosemicarbazone Ribonucleosides as Antibacterial Agents, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 29: 72-80.
- [68] Finch, R.A., Liu, M.C., Cory, A.H., Cory, J.G., Sartorelli, A.C., (1999). Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone; 3-AP), an inhibitor of ribonucleotide reductase with antineoplastic activity, *Advances in Enzyme Regulation*, 39: 3-12.
- [69] Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., (2000). *Biyokimya*, 2. Baskı, Aktif Yayınevi, Erzurum.
- [70] Altınel, B., (2008). Ekmek üretiminde kullanılan enzimler ve ürün kalitesine etkilerinin belirlenmesi, Doktora tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- [71] Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F.K., Margis-Pinheiro, M., (2008). Glutathione peroxidase family – an evolutionary overview, *The FEBS Journal*, 275(15): 3959-3970.
- [72] Parcell, S., (2002). Sulfur in Human Nutrition and Applications in Medicine, *Alternative Medicine Review*, 7(1): 22-44.
- [73] Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., Milzani, A., (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease, *Clinical Chemistry*, 52(4): 601-623.
- [74] Aktaş, M., Değirmenci, U., Ercan, S., Tamer, L., Atik, U., (2005). Redükte glutatyon ölçümünde HPLC ve spektrofotometrik yöntemlerin karşılaştırılması, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 3(3): 95-99.

- [75] Bolzan, A.D., Bianchi, M.S., Bianchi, N.O., (1997). Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking, *Clinical Biochemistry*, 30(6): 449-454.
- [76] Akkuş, İ., (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Konya.
- [77] Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., Reiter, R.J., (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin, *Journal of Pineal Research*, 36(1): 1-9.
- [78] Bartosz, G., (2014). Food Oxidants and Antioxidants Chemical, Biological, and Functional Properties, International Standard Book Number-13: 978-1-4398-8242-9, CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- [79] Schallreuter, K.U., Moore, J., Wood, J.M., Beazley, W.D., Gaze, D.C., Tobin, D.J., Marshall, H.S., Panske, A., Panzig, E., Hibberts, N.A., (1999). In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H₂O₂) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-activated pseudocatalase, *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 4(1): 91-96.
- [80] Guemori, L., Arthur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cunny, G., Siest, G., (1991). Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clinical Chemistry*, 37: 1932-1937.
- [81] Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160(1): 1-40.
- [82] De Zwart, L.L., Meerman, J.H.N., Commandeur, J.N.M., Vermeulen, N.P.E., (1999). Biomarkers of Free Radical Damage Applications in Experimental Animals and in Humans, *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 202-226.
- [83] Elsherbiny, M.E., Emara, M., Godbout, R., (2013). Interaction of brain fatty acid-binding protein with the polyunsaturated fatty acid environment as a potential determinant of poor prognosis in malignant glioma, *Progress in Lipid Research*, 52: 562-570.
- [84] Tvřizicka E., Vecka M., Stankova B., Zak A., (2002). Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionization detection Quantitative aspects, *Analytica Chimica Acta*, 465: 337-50.
- [85] Barnett, J.P., Blindauer, C.A., Kassar, O., Khazaipoul, S., Martin, E.M., Sadler, P.J., Stewart, A.J., (2013). Allosteric modulation of zinc speciation by fatty acids, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830: 5456-5464.
- [86] Hara, A., Radin, N.S., (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Analytical Biochemistry*, (901); 420-426.

- [87] Christie, W.W., (1989). Gas Chromatography and Lipids, The Oily Press, Scotland.
- [88] Placer, Z.A., Cushman, L.L., Johnson, B.C., (1966). Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems, *Analytical Biochemistry*, 16(2): 359–364.
- [89] Aebi, H., (1974). Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU (ed.). Academic Press: New York, 673-677.
- [90] Lartillot, S., Kedziora, P., Athias, A., (1988). Purification and Characterization of a New Fungal Catalase, *Preparative Biochemistry*, 18(3): 241-246.
- [91] Lawrence, R.A., Burk, R.F., (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71(4): 952-958.
- [92] Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., (1951). Protein measurement with folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- [93] Sedlak, J., Lindsay, R.H., (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Analytical Biochemistry*, 25(1):192-205.
- [94] Ganie, S.A., Haq, E., Hamid, A., Masood, A., Zargar, M.A., (2011). Long dose exposure of hydrogen peroxide (H₂O₂) in albino rats and effect of Podophyllum hexandrum on oxidative stress, *European Review For Medical and Pharmacological Sciences*, 15: 906-915.
- [95] Ward, J.F., Blakely, W.F., Joner, E.I., (1985). Mammalian-Cells are not Killed by DNA Single-Strand Breaks Caused by Hydroxyl Radicals From Hydrogen-Peroxide, *Radiation Research*, 103: 383-392.
- [96] Jain, A., Yadav, A., Bozhkov, A.I., Padalko, V.I., Flora, S.J.S., (2011). Therapeutic efficacy of silymarin and naringenin in reducing arsenic-induced hepatic damage in young rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 607-614.
- [97] Puntel, G.O., Carvalho, N.R.D., Gubert, P., Palma, A.S., Corte, C.L.D., Ávila, D.S., Pereira, M.E., Carratu, V.S., Bresolin, L., Rocha, J.B.T.D., Soares, F.A.A., (2009). Butane-2,3-dionethiosemicarbazone: An oxime with antioxidant properties, *Chemico-Biological Interactions*, 177: 153-160.
- [98] Wang, J.C., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z.Q., Liu, Z.P., Liu, X.Z., (2012). Protective Effect of Naringenin Against Lead-Induced Oxidative Stress in Rats, *Biological Trace Element Research*, 146: 354-359.
- [99] Boots, A.W., Haenen, G.R.M.M., Bast, A., (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical, *European Journal of Pharmacology*, 585: 325-337.

- [100] Nitambi, J., Miyazaki, M., 2004, Regulation of stearyl-CoA desaturases and role in metabolism, *Progress in lipid research*, 43; 91-104. 46.
- [101] Cheul Kim Y., Nitambi, M., 1999, Regulation of stearyl-CoA Desaturases Genes; Role in cellular Metabolism and Preipocyte Differentiation, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 266: 1-4.
- [102] Soldati, L., Lombardi, C., Adamo, D., Terranegra, A., Bianchin, C., Bianchi, G., Verzoli, G., 2002, Arachidonic acid increases intracellular calcium in erythrocytes, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 293, 974-978.
- [103] Pompeia, C., Lima, T., Curi, R., 2003, cytotoxicity: can arachidonic acid be a physiological mediator of cell death?, *Cell Biochemistry and function*, *Cell Biochem Func.*, 21:97-104.
- [104] Çelik, S., Özkaya, A., (2002). Effects of Intraperitoneally Administered Lipoic Acids in Guinea Pig Brain with Oxidative Stress Induced by H₂O₂, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 547-552.
- [105] Doillet, C., Chancerelle, Y., Chruz, C., Maroncles, C., Kergonou, J.F., Renaud, S., Ciacatti, M., (1993). High dosage vitamin E effect on oxidative status and serum lipids distribution in streptozotocin-induced diabetic rat, *Biochemical Medicine and Metabolic Biology*, 50: 265-276.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Uğur DARDAĞAN

Doğum Yeri : Maden/ELAZIĞ

Doğum Tarihi : 11.10.1988

Medeni Hali : Bekâr

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Balakgazi Lisesi/2005 (Elazığ/Merkez)

Lisans : Dicle Üniversitesi/2012