

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TUNCELİ DAĞ SARIMSAĞI'NIN (*Allium tuncelianum*) İN VİTRO
ANTIOKSİDAN KAPASİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ, RATLARDA
ANTIOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ VE
ANTİKANSER ÖZELLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

KASIM TAKIM

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA
ARALIK 2015

Tezin Başlığı: “Tunceli Dağ Sarımsağı'nin (*Allium tuncelianum*) *In Vitro* Antioksidan Kapasitesinin Ölçülmesi, Ratlarda Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi ve Antikanser Özelliğinin Belirlenmesi”

Tezi Hazırlayan: Kasım TAKIM

Sınav Tarihi: 11.12.2015

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Ana Bilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri Üyeleri

Tez Danışmanı :	Doç.Dr. Türkan KUTLU	
	İnönü Üniversitesi	
	Prof. Dr. İsmet YILMAZ	
	İnönü Üniversitesi	
	Prof. Dr. Fikret KARATAŞ	
	Fırat Üniversitesi	
	Doç. Dr. Süleyman KÖYTEPE	
	İnönü Üniversitesi	
	Yrd.Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA	
	Adıyaman Üniversitesi	

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Alaattin ESEN
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora Tezi olarak sunduğum “**Tunceli Dağ Sarımsağı'nın (*Allium tuncelianum*) *İn Vitro* Antioksidan Kapasitesinin Ölçülmesi, Ratlarda Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi ve Antikanser Özelliğinin Belirlenmesi**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığı ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Kasım TAKIM

ÖZET

Doktora Tezi

TUNCELİ DAĞ SARIMSAĞI'NIN (*Allium tuncelianum*) İN VİTRO ANTIÖKSİDAN KAPASİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ, RATLARDA ANTIÖKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ VE ANTİKANSER ÖZELLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Kasım TAKIM

İnönü Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

xiii+97 sayfa

2015

Danışman: Doç.Dr. Türkan KUTLU

Bu çalışmada, *Allium tuncelianum*'un; bazı biyokimyasal bileşiklerinin tespit edilmesi, *in vitro* antioksidan kapasitesinin ölçülmesi, ratlarda antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi ve antikanser özelliğinin belirlenmesi amaçlandı. Bu çalışmada biyokimyasal bileşiklerin belirlenmesi için; ICP-OE S ile eser element analizi, GC-MS ile uçucu yağ analizi ve GC-FID ile yağ asidi analizi yapıldı. Antioksidan kapasite; Cuprac, ABTS radikal süpürme, OH⁻ radikal süpürme, H₂O₂ süpürme kapasitesi, metal şelatlama aktivitesi, protein oksidasyonu'nun inhibisyonu ve total fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. Bu çalışmada *Allium tuncelianum* 'un antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisini belirlemek üzere *Wistar albino* tipi dişi ratlar kullanıldı. Her grupta 8 adet hayvan olmak üzere 5 grup oluşturuldu. 1. Grup kontrol grubu, 2. Grup 7,12-dimetil benz[a]ntresan (DMBA) verilen grup, 3. Grup 7,12-DMBA' ya ilaveten uygulama dozu 250 mg/ kg/gün olacak şekilde *Allium tuncelianum* verilen grup, 4. Grup 7,12-DMBA' ya ilaveten uygulama dozu 500 mg/kg/gün olacak şekilde *Allium tuncelianum* verilen grup ve 5. Grup E vitamini 200 mg/kg (haftada iki kez) verilen grup. Bu şekilde 1 ay boyunca hayvanlar beslendi ve sonra kesilip dokular alınıp deney yapıldı. Yapılan analizlerde, *Allium tuncelianum*'daki eser elementler mg/kg (ppm) olarak; K (4207), Ca (518.1), Mg (376.5), Na (119.7), Fe (15.9), Zn (9.24), Mn (2.48), Se (1.03), Cu (0.54) ve Ni (0.33) bulundu. *Allium tuncelianum* uçucu yağının ana bileşenleri diallil trisülfid; % 30.90 ve diallil disülfid; % 28.30 ve *Allium tuncelianum* yağ asidi metil esterlerinin temel bileşenleri; oleik asit (% 27.19) ve linoleik asit (% 19.46) olarak bulundu. Yapılan *in vitro* deneylerde *Allium tuncelianum*'un, standart antioksidanlara yakın bir antioksidan aktivite gösterdiği belirlendi. Yapılan *in vivo* deneylerde ise; genel olarak *Allium tuncelianum*'u alan gruplarda, böbrek ve bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesinde DMBA grubuna göre anlamlı artış oldu ($P<0.05$). Süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri genel olarak tüm dokularda anlamlı artış gösterdi ($P<0.05$). Karaciğer dokusunda glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi anlamlı azalma gösterdi ($P<0.05$). Ayrıca total glutatyon düzeylerinde 7,12-DMBA ve *Allium tuncelianum* verilen gruplarda 7,12-DMBA verilen gruba göre anlamlı artış oldu ($P<0.05$). 7,12-DMBA ve *Allium tuncelianum* verilen gruplarda, 7,12-DMBA verilen gruba göre karaciğer, böbrek ve kalp dokularında malondialdehit düzeylerinde anlamlı azalma oldu ($P<0.05$). Bu sonuçlar *Allium tuncelianum*'un dokuları, DMBA'nın oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruduğunu göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada *Allium tuncelianum* ekstraktıyla, LS174t, SW620 ve MDA-MB 231 kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif aktivite çalışması yapıldı ve *Allium tuncelianum* derişiminin artması bu hücre hatları üzerinde ortalama %10'luk bir inhibisyona neden oldu. Yani hücre proliferativesi azda olsa baskılandı. ANAHTAR SÖZCÜKLER: Antioksidan aktivite, Antiproliferatif, *Allium tuncelianum*, GC-MS, Enzim

aktivitesi, Yağ asiti, Eser element

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

MEASUREMENT OF IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TUNCELI RURAL GARLIC (*Allium tuncelianum*), DETERMINATION OF ITS EFFECT ON THE ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY AND ANTICANCER CHARACTERISTICS ON RATS

Kasım TAKIM

Inonu University
Institute of Natural Sciences
Department of Chemistry

xiii +97 pages

2015

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Türkan KUTLU

In this work aimed to determine the biochemical components of *Allium tuncelianum*, its *in vitro* antioxidant capacity and the effect of antioxidant enzyme activity in rats and its anticancer characteristics. The effect of *Allium tuncelianum* on antioxidant enzyme activities was also measured. In this study for the determination of phytochemical compounds; Trace element analysis by ICP-OES, GC-MS analysis of the volatile oil and fatty acid analysis was performed with GC-FID. Antioxidant capacity was determined by the ABTS radical scavenging activity, OH⁻ radical scavenging activity, H₂O₂ scavenging capacity, Cuprac, inhibition of protein oxidation, metal chelating activity and total phenolic (Folin-Ciocalteu) methods. *Wistar albino* type female rats were used for the determination of the effect of *Allium tuncelianum* on the antioxidant enzyme activities. Five groups of animals each having eight rats were made up. Group 1: Control group, Group 2: Only 7,12-Dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) applied group, Group 3: 7,12-DMBA plus 250 mg/kg/day *Allium tuncelianum* applied group, Group 4: 7,12-DMBA plus 500 mg/kg/day *Allium tuncelianum* applied group, Group 5: 7,12-DMBA plus two times a week 200 mg/kg α -tocopherol applied group. The rats were feed for one month, slaughtered afterwards and the tissues were taken for the experiments. The analysis showed that *Allium tuncelianum* had, trace elements as mg/kg; K (4207), Ca (518.1), Mg (376.5), Na (119.7), Fe (9.15), Zn (9.24), Mn (2.48), Se (1.03), Cu (0.54) and N (0.33). The major components in essential oil of *Allium tuncelianum*; diallyl threesulfide (30.90%) and diallyl disulfide (28.30%) and the basic components in fatty acid methyl ester of *Allium tuncelianum*; oleic acid (27.19%) and linoleic acid (19.46%). In our study, catalase enzyme activity levels of the groups, which have *Allium tuncelianum*, increased significantly ($P<0.05$) compared to DMBA group. Superoxide dismutase enzyme activity were significantly increased ($P<0.05$) in all tissues in general. Glutathione peroxidase activity was showed a significant decrease in the liver tissue ($P<0.05$). Glutathione levels of the 7,12-DMBA plus *Allium tuncelianum* groups, according to which have 7,12-DMBA group increased significantly ($P<0.05$) in the liver tissue. Malondialdehyde levels of the 7,12-DMBA plus *Allium tuncelianum* groups, according to which have 7,12-DMBA group reduced significantly ($P<0.05$) in the liver, kidney and heart tissues. The experiments showed that *Allium tuncelianum* had high antioxidant activity and as a result increased antioxidant enzyme activity to prevent oxidative damage. These result *Allium tuncelianum* may prevent to tissues by the lipid damage of created by 7,12-DMBA. The experiments conducted *in vitro* showed that *Allium tuncelianum* had an antioxidant activity close to standard antioxidants. Also, the extract of *Allium tuncelianum* was applied to LS 174t, SW 620 and MDA-MB 231 cancer cells to determine antiproliferative activity. *Allium tuncelianum* concentrations with increasing proliferative colon carcinoma cells averaged over a 10% inhibition.

KEY WORDS: Antioxidant activity, Antiproliferative, *Allium tuncelianum*, GC-MS, Enzyme activity, Fatty acids, Trace elements

TEŞEKKÜR

Bu çalışmamda bana emeği geçen başta danışman hocam Doç. Dr. Türkan Kutlu olmak üzere tüm İnönü Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim elemanlarına özellikle Prof. Dr. İsmet Yılmaz ve Doç. Dr. Süleyman Köytepe Hocalarıma, deney aşamasında bana çok yardımı dokunan Merve Gökşin Karaaslan ve Kadir Yılmaz'a, laboratuvarlarından ve tecrübelerinden çok fazla istifade ettiğim Prof. Dr. Burhan Ateş'e, ayrıca endemik bir tür olan *Allium tuncelianum*'un tanı ve tespitinde yardımcı olan Doç. Dr. Turan Arabacı'ya, hayvan deneylerinde yardımcı olan İnönü Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı, Deney Hayvanları Üretim Merkezi' (İNÜDEHÜM) çalışanlarına, 2013/50 nolu projeye mali desteği sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve fedakar çalışanlarına, hayatım boyunca emek ve destekleri ile beni ayakta tutan sevgili anneme, babama ve biricik eşime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	ONUR SÖZÜ	i
	ÖZET	ii
	ABSTRACT	iii
	TEŞEKKÜR	iv
	İÇİNDEKİLER	v
	SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
	ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
	TABLolar DİZİNİ	xiii
1.	GİRİŞ	1
2.	KURAMSAL TEMELLER ve UYGULAMALAR	2
2.1.	Bitkisel İlaç Kavramı ve Sarımsak	2
2.2.	Sarımsağın İçerdiği Önemli Bileşenler ve Aktiviteleri	3
2.3.	<i>Allium tuncelianumun</i>	5
2.4.	Serbest Radikaller	6
2.5.	Antioksidanlar	6
2.5.1.	Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri	7
2.5.1.1.	E vitamini	7
2.5.1.2.	Glutasyon	8
2.5.1.3.	Fenolik bileşikler ve flavonoidler	8
2.5.2.	Enzimatik antioksidan savunma sistemleri	10
2.5.2.1.	Katalaz enzimi	10
2.5.2.2.	Glutasyon peroksidaz enzimi	10
2.5.2.3.	Glutasyon redüktaz enzimi	11
2.5.2.4.	Süperoksit dismutaz enzimi	11
2.6.	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve DMBA	12
2.7.	Kanser ve Antikanser Çalışmaları	14
2.7.1.	Kanserin tanımı	14
2.7.2.	Kanserin evreleri	14
2.7.3.	Antikanser çalışmaları ve hücre kültürü	15
2.8.	Literatür Özeti	16
2.9.	Çalışmanın Amacı	20
3.	MATERYAL VE METOD	21
3.1	Materyal	21
3.1.1.	Araç ve gereçler	21
3.1.2.	Kullanılan kimyasallar	21
3.1.3.	Bitkilerin toplanması ve ekstraktların hazırlanması	22
3.2.	Metot	23

3.2.1.	<i>Allium tuncelianum</i> 'da biyoaktif bileşen analizi	23
3.2.1.1.	<i>Allium tuncelianum</i> 'da ICP-OES ile eser element analizi	23
3.2.1.2.	<i>Allium tuncelianum</i> 'dan uçucu yağ eldesi ve bileşenlerinin GC-MS ile analizi	24
3.2.1.3.	<i>Allium tuncelianum</i> yağ asidi metil esterlerinin GC-FID analizi	24
3.2.1.4.	<i>Allium tuncelianum</i> sulu etanol (% 50) ekstraktının GC-MS ile analizi	25
3.2.2.	<i>In vitro</i> antioksidan aktivite ölçümleri	26
3.2.2.1.	Toplam fenolik bileşik tayin yöntemi	26
3.2.2.2.	Bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemi	27
3.2.2.3.	ABTS radikal süpürme yöntemi	27
3.2.2.4.	OH [•] Radikal Temizleme Yöntemi	29
3.2.2.5.	H ₂ O ₂ süpürme aktivite tayin yöntemi	29
3.2.2.6.	Metal şelatlama aktivite tayin yöntemi	30
3.2.2.7.	Protein oksidasyonunun inhibisyonu tayin yöntemi	30
3.2.3.	MTT yöntemi ile antiproliferatif aktivite ölçümü	31
3.2.3.1.	LS174T, MDA-MB 231 ve SW-620 hücre hatları kullanılarak antiproliferatif aktivite ölçümü	31
3.2.4.	Hayvan deneyleri	33
3.2.4.1.	Hayvanların temini ve grupların oluşturulması	33
3.2.4.2.	Hayvanların beslenmesi ve ekstraktların uygulanması	34
3.2.4.3.	Hayvanların kesimi ve gerekli dokuların alınması	35
3.2.4.4.	Dokuların homojenizasyonu	35
3.2.5.	Antioksidan enzim aktivitesi analizleri	36
3.2.5.1.	Katalaz enzim aktivitesi analiz yöntemi	36
3.2.5.2.	Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi analiz yöntemi	36
3.2.5.3.	Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi analiz yöntemi	37
3.2.6.	Total glutasyon ölçümü	38
3.2.7.	Protein tayini	38
3.2.8.	Lipid peroksidasyon ölçümü	38
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	40
4.1.	<i>Allium tuncelianum</i> 'da Biyoaktif Bileşen Analizi	40
4.1.1.	<i>Allium tuncelianum</i> 'da ICP-OES ile eser element analizi sonuçları	40
4.1.2.	<i>Allium tuncelianum</i> 'dan uçucu yağ eldesi ve bileşenlerinin GC-MS sonuçları	40

4.1.3.	<i>Allium tuncelianum</i> yağ asidi metil esterlerinin GC-FID analizi	42
4.1.4.	<i>Allium tuncelianum</i> sulu etanol ekstraktının etanol çözgenindeki GC-MS tayin sonuçları	43
4.1.5.	<i>Allium tuncelianum</i> sulu etanol ekstraktının metanol çözgenindeki GC-MS tayini sonuçları	45
4.2.	<i>İn vitro</i> Antioksidan Aktivite Sonuçları	46
4.2.1.	Toplam fenolik bileşik tayin Sonuçları	46
4.2.2.	CUPRAC yöntemi ile antioksidan kapasite sonuçları	47
4.2.3.	ABTS radikal giderme aktivitesi tayini sonuçları	48
4.2.4.	OH ⁻ radikal süpürme aktivitesi tayini sonuçları	49
4.2.5.	H ₂ O ₂ süpürme kapasitesi tayini sonuçları	50
4.2.6.	Metal şelatlama aktivitesi tayin sonuçları	51
4.2.7.	Protein oksidasyonunun inhibisyonu tayin sonuçları	52
4.3.	MTT yöntemi ile antiproliferatif aktivite sonuçları	53
4.3.1.	LS174T hücre hattı kullanılarak antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları	53
4.3.2.	SW 620 hücre hattı antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları	54
4.3.3.	MDA-MB 231 hücre hattı antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları	55
4.4.	Hayvan Deneyleri Sonuçları	56
4.4.1.	Katalaz enzim aktivite sonuçları	56
4.4.1.1.	Karaciğer dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	56
4.4.1.2.	Böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	57
4.4.1.3.	Bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	57
4.4.1.4.	Kalp dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	58
4.4.2.	Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	59
4.4.2.1.	Karaciğer dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	59
4.4.2.2.	Böbrek dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	60
4.4.2.3.	Bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	61
4.4.2.4.	Kalp dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	62
4.4.3.	Glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları	63
4.4.3.1.	Karaciğer dokusu glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları	63
4.4.4.	Total glutatyon düzeyi sonuçları	64

4.4.4.1.	Karaciğer dokusu total glutatyon düzeyi sonuçları	64
4.4.4.2.	Böbrek dokusu total glutatyon düzeyi sonuçları	65
4.4.4.3.	Bağırsak dokusu total glutatyon düzeyi sonuçları	65
4.4.4.4.	Kalp dokusu total glutatyon düzeyi sonuçları	66
4.4.5.	Lipit peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit düzeyi testleri	67
4.4.5.1.	Karaciğer dokusu malondialdehit düzeyi sonuçları	67
4.4.5.2.	Böbrek dokusu malondialdehit düzeyi sonuçları	68
4.4.5.3.	Bağırsak dokusu malondialdehit düzeyi sonuçları	69
4.4.5.4.	Kalp dokusu malondialdehit düzeyi sonuçları	70
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	73
6.	KAYNAKÇA	86
7.	ÖZGEÇMİŞ	95

SİMGELER VE KISALTMALAR

DMBA:	7,12-Dimetilbenz[a]ntrasen (Ratlarda oksidatif hasar oluşturan madde)
PAH:	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
CAT:	Katalaz
DAS:	Diallil sülfid
DADS:	Diallil disülfid
DATS:	Diallil trisülfid
AMS:	Allil metil sülfid
GLA:	gama-Linolenik Asit
ALA:	alfa-Linolenik Asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
GPx:	Glutasyon peroksidaz
GSH:	Redükte Glutasyon
GSHs:	Glutasyon S-transferazlar
MDA:	Malondialdehit
SOD:	Süperoksit dismutaz
CAT:	Katalaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
TBARS :	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler
MTT:	3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromür)
FBS:	Feta bovin serum
RPMI-1640:	Hücre kültürü için besi yeri
PBS:	Fosfat tampon çözeltisi (Phosphate buffer saline)
BHT:	Bütil hidroksitoluen (Butylated hydroxytoluene)
Troloks:	6-Hidroksil-2,5,7,8-tetrametil kroman-2-karboksilik asit
HeLa :	Human epitel karsinoma tümör hücre serisi
SL174t:	Kolon karsinoma tümör hücre serisi
SW620:	Kolon karsinoma tümör hücre serisi
MDA-MB 231:	Meme karsinoma tümör hücre serisi
NCI-N87	Mide-bağırsak karsinoma tümör hücre serisi
SK-OV3	Yumurtalık karsinoma tümör hücre serisi
MDA-MB-453	Meme karsinoma tümör hücre serisi
SK-Br3	Meme karsinoma tümör hücre serisi
BT-474	Meme karsinoma tümör hücre serisi
NAT	N-asetil transferaz
TBA:	Tiyobarbiturik asit
TCA:	Trikloroasetik asit
DNA:	Deoksiribonükleik asit
AFLP:	Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizimi
cpDNA:	Kloroplast DNA'sı
ITS:	Tür ayrımı yapmak için kullanılan ve rRNA kodlayan DNA'da bir bölgenin adı
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon spektroskopisi
TCA	Trikloroasetik asit
GAE:	Gallik asit eşdeğeri
OH [•] :	Hidroksi radikali
O ₂ [•] :	Singlet oksijen

FeCl ₃	Demir(III)klörür
Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
Fe	Demir
K	Potasyum
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
Na	Sodyum
Ni	Nikel
Se	Selenyum
Zn	Çinko
Cd	Kadmiyum
Co	Kobalt
Cr	Krom
Pb	Kurşun
kg:	Kilogram
L:	Litre
M:	Molar
mg:	Miligram
mL:	Mililitre
µL:	Mikrolitre
µmol:	Mikromol
mmol:	Milimol
vs:	Versus (Karşılaştırma)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Allin metabolizması	4
Şekil 2.2.	Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirleme önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı	9
Şekil 2.3.	Ökaryotik canlı hücrelerinden oksijen, azot serbest radikalleri ile diğer reaktif türlerin uzaklaştırılması reaksiyonları	12
Şekil 2.4.	Kanser oluşum süreci	15
Şekil 2.5.	MTT ‘nin formazana indirgenmesi.	16
Şekil 3.1.	Örnek bir troloks standart grafiği	28
Şekil 3.2.	Hücre Kültürü labaratuvarından bir görünüm	33
Şekil 4.1.	<i>A. tuncelianum</i> uçucu yağ bileşenleri GC-MS tayini kromatogramı	41
Şekil 4.2.	<i>A. tuncelianum</i> yağ asidi metil esterlerinin GC-FID tayini kromatogramı	42
Şekil 4.3.	<i>A. tuncelianum</i> sulu etanol ekstraktının etanol çözgenindeki GC-MS tayini kromatogramı	44
Şekil 4.4.	<i>A. tuncelianum</i> sulu etanol ekstraktının metanol çözgenindeki GC-MS tayini kromatogramı	45
Şekil 4.5.	Toplam fenolik bileşik tayini için gallik asit standart grafiği	46
Şekil 4.6.	Cuprac yöntemi ile toplam antioksidan kapasite tayini için troloks standart grafiği.	47
Şekil 4.7.	<i>A.tuncelianum</i> , α -tokoferol, BHT ve askorbik asit, ABTS radikal süpürme gücü grafiği.	48
Şekil 4.8.	<i>A.tunceliaum</i> , α -tokoferol, BHT ve askorbik asit, $OH^{\cdot}$ radikal süpürme gücü grafiği.	49
Şekil 4.9.	<i>A.tuncelianum</i> , α -tokoferol, BHT ve askorbik asit, H_2O_2 süpürme kapasitesi grafiği.	50
Şekil 4.10.	<i>A. tuncelianum</i> , askorbik asit, BHT ve EDTA, metal şelatlama kapasitesi grafiği.	51
Şekil 4.11.	<i>A. tuncelianum</i> , α -tokoferol ve BHT protein oksidasyonunun inhibisyonu grafiği.	52
Şekil 4.12.	LS174T hücre hattı <i>A. tuncelianum</i> ekstreleri için antiproliferatif aktivite grafiği.	53
Şekil 4.13.	SW 620 hücre hattı, <i>A. tuncelianum</i> ekstreleri için antiproliferatif aktivite grafiği.	54
Şekil 4.14.	MDA-MB 231 hücre hattı, <i>A. tuncelianum</i> ekstreleri için antiproliferatif aktivite grafiği.	55

Şekil 4.15.	Rat karaciğer dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.	56
Şekil 4.16.	Rat böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.	57
Şekil 4.17.	Rat bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.	58
Şekil 4.18.	Rat kalp dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.	59
Şekil 4.19.	Rat karaciğer dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.	60
Şekil 4.20.	Rat böbrek dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.	61
Şekil 4.21.	Rat bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.	61
Şekil 4.22.	Rat kalp dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.	62
Şekil 4.23.	Rat karaciğer dokusu glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi grafiği.	63
Şekil 4.24.	Rat karaciğer dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.	64
Şekil 4.25.	Rat böbrek dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.	65
Şekil 4.26.	Rat bağırsak dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.	66
Şekil 4.27.	Rat kalp dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.	67
Şekil 4.28.	Rat karaciğer dokusu malondialdehit düzeyleri grafiği.	68
Şekil 4.29.	Rat böbrek dokusu malondialdehit düzeyleri grafiği.	69
Şekil 4.30.	Rat bağırsak dokusu malondialdehit düzeyleri grafiği.	70
Şekil 4.31.	Rat kalp dokusu malondialdehit düzeyleri grafiği.	70

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1.	Deney hayvanları besin içeriği	35
Tablo 4.1.	<i>A. tuncelianum</i> eser element analizi sonuçları	40
Tablo 4.2.	<i>A. tuncelianum</i> uçucu yağ bileşenleri GC-MS tayini sonuçları	41
Tablo 4.3.	<i>A. tuncelianum</i> yağ asidi metil esterlerinin GC-FID tayini sonuçları	43
Tablo 4.4.	<i>A. tuncelianum</i> sulu etanol ekstraktının GC-MS tayini sonuçları	44
Tablo 4.5.	<i>A. tuncelianum</i> sulu etanol ekstraktının metanol çözgenindeki GC-MS tayin sonuçları	45
Tablo 4.6.	Rat karaciğer dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	56
Tablo 4.7.	Rat böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	57
Tablo 4.8.	Rat bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	57
Tablo 4.9.	Rat kalp dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları	58
Tablo 4.10.	Rat karaciğer dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	59
Tablo 4.11.	Rat böbrek dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	60
Tablo 4.12.	Rat bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	61
Tablo 4.13.	Rat kalp dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları	62
Tablo 4.14.	Rat karaciğer dokusu glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları	63
Tablo 4.15.	Rat karaciğer dokusu total glutatyon düzeyleri	64
Tablo 4.16.	Rat böbrek dokusu total glutatyon düzeyleri	65
Tablo 4.17.	Rat bağırsak dokusu total glutatyon düzeyleri	65
Tablo 4.18.	Rat kalp dokusu total glutatyon düzeyleri	66
Tablo 4.19.	Rat karaciğer dokusu malondialdehit düzeyleri	67
Tablo 4.20.	Rat böbrek dokusu malondialdehit düzeyleri	68
Tablo 4.21.	Rat bağırsak dokusu malondialdehit düzeyleri	69
Tablo 4.22.	Rat kalp dokusu malondialdehit düzeyleri	70
Tablo 4.23.	Rat karaciğer doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri	71
Tablo 4.24.	Rat böbrek doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri	71

Tablo 4.25.	Rat bağırsak doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri	72
Tablo 4.26.	Rat kalp doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri	72

1. Giriş

Sarımsak (*Allium sativum* L.), Liliaceae familyasına ait bir bitki türüdür ve yaklaşık 3000 yıldır pek çok uygarlık tarafından hastalıkların tedavisinde, kullanılmaktadır [1]. Sarımsağın anavatanının Orta Asya olduğu tahmin edilmektedir [2]. Uzun süre saklanabilme ve kolay taşınabilme gibi özellikle ile antik çağlardan beri kültüre alınmış olan sarımsak yemeklerde aroma verici olarak kullanılmasının yanında birçok hastalığın tedavisinde halen kullanılan bir halk ilacıdır. Sarımsağın kullanımı ile ilgili en eski veri Sümerler tarafından M.Ö 2600- 2100 yılında yazılan taş tabletlerde bulunmaktadır. Bir başka tarihi bilgi ise M.Ö. 1550 yılında Antik Mısırda bulunan Ebers Tıp Yazmalarında bulunmuştur. İçeriğinde yaklaşık 800 tıbbi reçete bulunan bu yazmada kalp hastalıkları, baş ağrısı, yılan sokmaları, yaralar ve tümörler gibi birçok hastalığın tedavisinde sarımsak ile ilgili 22 formül bulunmaktadır [3].

Antik Yunanistan'da olimpiyat oyunlarında atletlerin sarımsağı performans artırıcı olarak tükettiği [4], eski Hindistan'da ise sarımsağın yüzyıllar boyunca yara ve ülser tedavisinde antiseptik losyon olarak kullanıldığı bilinmektedir [5]. Çin İmparatorluğunda ise sarımsak ve soğan çayı, ateş, baş ağrısı, kolera ve dizanteri için tavsiye edilmiştir. Mısır'da Firavun döneminde özellikle piramitlerin yapımı sırasında işçilere ve kölelere hastalıklardan korunmaları, sağlıklı ve diri kalmaları için bol miktarda yedirdikleri kayıtlarda yer almaktadır [6]. İkinci dünya savaşı sırasında sarımsak kangreni önlemek için antiseptik olarak kullanılmıştır [5].

Türkiye *Allium* türleri yönünden zengin bir ülkedir. Dünyada 750 kadar *Allium* türü bulunmakta, bunların yaklaşık 170 tanesine Türkiye’de rastlanmaktadır. Ülkemizdeki *Allium* türlerinin yaklaşık % 40’ının endemik olduğu belirtilmektedir [7].

Allium tuncelianum’un orijinal olarak *Allium macrochaetum* Boiss and Haussk subsp. *tuncelianum* Kollmann adlandırılmıştır [8]. Tunceli ilinde ve özellikle Munzur Dağları eteklerinde yer alan Ovacık ve Pülümür ilçelerinde yaygın olarak bulunan endemik bir bitki türüdür [9]. Bölgede yapılan incelemelerde bitkinin Munzur Dağı’nın Erzincan yönüne bakan yamaçlarında da bulunduğu belirlenmiştir [10]. Ülkemizde birçok endemik bitki türü doğadan toplanarak kullanılmaktadır. Bilinçsiz ve aşırı miktarda yapılan doğal sökümler sonucu bu bitkilerin büyük bir çoğunluğunun nesli tükenme tehlikesinde yer almaktadır. *A. tuncelianum*’da kimyasal

yapısının kültür sarımsağı olan *Allium sativum*'a benzer olması nedeniyle yöre halkı tarafından dağlardan toplanarak kaya sarımsağı, Tunceli sarımsağı ve Ovacık sarımsağı adı altında satışı yapılmakta ve ticari ürün olarak kullanılmaktadır. Bitki endemik olması ve “Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı” nda zarar görebilir olması nedeniyle korunması gereken bitkiler içinde değerlendirilmektedir. Bu yüzden Tunceli Tarım İl Müdürlüğü'nce Koruma altına alınmıştır [11].

Sarımsağın antioksidan etkisi hayvanlar ve insanlarla yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar ile gösterilmiştir [12]. *In vitro* çalışmalar sarımsağın doza bağlı olarak serbest radikalleri yakalayabildiğini göstermektedir [13]. Sarımsakta çok sayıda değişik fitokimyasal bileşikler vardır. Sarımsağın antioksidatif özellikleri kükürtlü bileşiklerden ve içerdiği flavonoidlerden kaynaklanmaktadır. Sarımsağın karsinojenleri p450 enzim sistemini uyararak veya kükürtlü bileşiklerle bağlayarak da detoksifiye edebileceği, bağışıklık sisteminin baskılanmasını önleyerek de kansere karşı yararlı olabileceği gösterilmiştir [14].

Son zamanlarda hastalıkların tedavisinde doğal bitkilerin kullanımı önem kazanmaktadır. Tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların saf ve özellikle ana etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi hem bilimsel hem de ekonomik yönden oldukça önemlidir [15]. Sağlık açısından birçok özelliği bulunan sarımsak üzerinde uzun yıllardan beri birçok araştırma yapılmış ve hala yapılmaktadır. Bitkilerin yetiştikleri bölgedeki çevresel şartlar, tarımsal faktörler gibi dış etkenler ve genetik faktörler gibi iç etkenler bitkilerin kimyasal içerikleri üzerinde oldukça etkilidir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE UYGULAMALAR

2.1. Bitkisel İlaç Kavramı ve Sarımsak

Eski Hindistan'da sarımsağın yüzyıllar boyunca yara ve ülser tedavisinde antiseptik losyon olarak kullanıldığı bilinmektedir. Çin İmparatorluğunda ise sarımsak ve soğan çayı, ateş, baş ağrısı, kolera ve dizanteri için tavsiye edilmiştir. Mısır'da Firavun döneminde özellikle piramitlerin yapımı sırasında işçilere ve kölelere hastalıklardan korunmaları, sağlıklı ve diri kalmaları için bol miktarda

yedirdikleri kayıtlarda yer almaktadır. İkinci dünya savaşı sırasında sarımsak kangreni önlemek için antiseptik olarak kullanılmıştır [5, 6].

Bitkilerden elde edilen ve serbest radikal moleküllerini zararsız hâle getirebilen antioksidatif özellikler taşıyan biyoaktif bitki bileşikleri fitokimyasal olarak adlandırılmaktadır. Genellikle fitokimyasal bileşikler bitkilerde % 0,01–2 arasında farklı oranlarda bulunmaktadır [16]. Bitkilerden elde edilen fitokimyasal bileşikler son yıllarda özellikle kansere karşı kullanım alanı bulmaya başlamıştır. Örneğin alkiloidler, karotenoidler ve fenolikler özellikle kanser veya tümör önleyici aktivite göstermeleriyle ön plana çıkmaktadırlar. İzoflavonoidler ise kanser hücrelerinde fonksiyon kaybına neden olmakta, ayrıca, endotelyal büyüme faktörünü durdurarak tümör büyümesini engelleyip, apoptozise yol açmaktadırlar. Alkaloitler, hücrede iğ ipliklerine etki ederek kanserli hücrelerin hücre döngüsü boyunca ilerlemesini engellemektedirler. Bunun dışında fenolik bileşikler ise daha çok hücre döngüsü kontrol proteinleri ve apoptozis mekanizmasının uyarılması üzerine etkili olmaktadır [17].

Üzerinde en çok çalışma yapılan bitkisel ürünler arasında yer alan sarımsak, içeriğinde bol miktarda biyokimyasal bileşikler barındıran bir bitki türüdür. İnsan beslenmesi açısından gerekli olan birçok vitamin ve mineral maddesi içermesi yönünden önemlidir [18]. Çok kuvvetli kokusu yanında yakıcı bir lezzeti vardır. Aşırı dozları, prooksidan hatta ölümcül etkilere bile neden olabilmektedir. Dünya sarımsak üretimi 2005 yılı verilerine göre 14 500 000 ton olup 11 093 500 ton ile Çin ilk sırada, Türkiye ise 99 500 ton ile 12. sırada yer almakta iken 2014 yılı verilerine göre 13 674 400 ton ile yine Çin ilk sırada Türkiye ise 76 936 ton üretim ile 15. sırada yer almaktadır [19, 20].

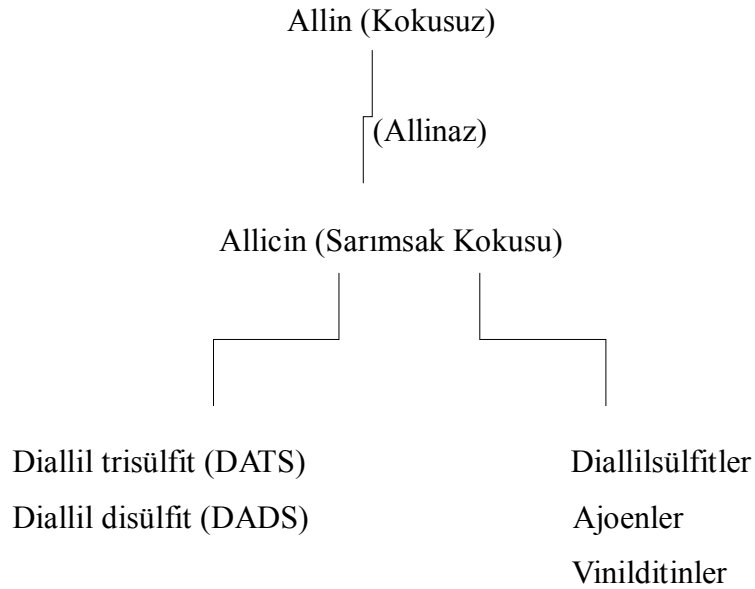
2.2. Sarımsağın İçerdiği Önemli Bileşenler ve Aktiviteleri

Sarımsağın içeriğinde ortalama % 65 su, % 26-30 fruktoz içeren karbonhidratlar, % 1,1-3,5 kükürt bileşikleri, % 1,5-2,1 protein, % 1,5 lif, geri kalan kısmında ise serbest amino asitler bulunur. Ayrıca yüksek oranda saponin, fosfor, potasyum, kükürt, çinko, A ve C vitaminleri ile az miktarda da Ca, Mg, Na, Fe, Mn ve B kompleks vitaminlerini içerir [21]. İçeriğinde ayrıca, 33 çeşit kükürt bileşiği, 17 çeşit aminoasit, Ge, Zn ve bol miktarda selenyum bulunmaktadır. Özellikle çiğ

olarak tüketilmesi durumunda, içerdği 200'den fazla kimyasal madde sayesinde insan vücudunu birçok hastalıktan koruma kapasitesine sahiptir [22].

Sarımsakta bulunan aktif bileşiklerin, organosülfür bileşiklerinin bir türü olabileceği ileri sürülmektedir. Bu organosülfür bileşiklerinin başlıca sülfür bileşenleri; allin, allisin, allilpropil disülfid, sallilsistein, vinilditinler, S-allil merkaptosistein, diallil sülfid (DAS), diallil disülfid (DADS) ve dialil trisülfid (DATS), ajoen, alliksin, allil merkaptanlar ve allil metil sülfidlerdir. Ayrıca, enzim özelliği olan allinaz, peroksidaz, mirosinaz ve aminoasit olan arjinin bulunmaktadır. Sarımsak organosülfür bileşiklerinin biyolojik etkilerini belirlemede rol oynayan faktörün, allil grupları ve sülfür atomlarının sayısı olduğu da ileri sürülmektedir [23]. Allisin, diallil disülfür (DADS) ve diallil sülfür (DAS) gibi etkin kükürt bileşikleridir sarımsağa anti-kanser ve antioksidan özellikler katan en önemli bileşenleridir [21].

Sarımsağın temel aktif bileşiği olan allisin, Cavallito ve Bailey (1944) tarafından izole edilerek tanımlanmıştır. Allisinin birçok gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [24]. Sarımsak kesildiğinde veya ezildiğinde allin allinaz enzimi vasıtasıyla allisine dönüşür. Allisin düşük konsantrasyonlarda antioksidan özellik gösterirken yüksek konsantrasyonlarda pro-oksidan özellik gösterebilir. Allisinin LDL'nin oksidatif modifikasyonunu ve ayrıca tümör ilerlemesini önlediği, aflatoksinden kaynaklanan DNA hasarını engellediği bildirilmiştir [25].



Şekil 2.1. Allin metabolizması

Allisin çok kararlı bir bileşik değildir. Saf allisinin oda sıcaklığında ki ömrü 2-16 saat olarak tespit edilmiştir. Allisin hızlı bir şekilde organo sülfür bileşiklerine dönüşür. Bu bileşikler DAS, DADS ve DATS' tir [26].

2.3. *Allium tuncelianum*

Allium tuncelianum (*A. Tuncelianum*); monocotyledonea (tek çenekliler) sınıfının, Liliiflore takımında ve Liliaceae familyasının Allium cinsi içerisinde yer almaktadır. *A. tuncelianum* endemik bir bitki türü olup ilk kez *Allium Macrochaetum*'un bir alt türü olarak tanımlanmıştır. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda bunun farklı bir tür olduğu anlaşılmış ve tür düzeyine yükseltilerek *A. tuncelianum* adı verildi [27-29]. *A. tuncelianum*; tek dişlidir, kabuk sayısı kültür sarımsağından azdır (1-2 adet) ve başları 18-20 °C'de uzun süre saklanabilir. Bu özellikleri sayesinde taze tüketim yanında endüstride de kullanım şansına da sahip bulunmaktadır. *A. tuncelianum*'un, 25-60 cm uzunluğunda çiçek sapı, açık mor renkli çiçekleri, kapsül şeklinde meyveleri, 1-2 mm çapında 3 köşeli ve üzeri buruşuk tohumları vardır. Ayrıca başlar üzerinde henüz tam olarak tanımlanamayan küçük diş benzeri yapılar bulunmaktadır [30]. *A. tuncelianum*'un baş kabuk rengi beyaz, tek dişli, üzerinde 2, 3 kabuklu soğancıkları vardır. Dişin kabuk rengi beyaz, diş eti rengi kirli beyazdır. Yüksekliği baş iriliğine göre değişmekle birlikte 2,7-3,5 cm olup, çapı 2,8-3,4 cm arasında değişen tek bir diştten ibarettir. Başın ağırlığı yetiştirme şartlarına bağlı olarak 80 grama ulaşabilir. Ortalama ağırlık 10-30 gramdır. *A. tuncelianum*'da başlar belli bir iriliğe ulaştıktan sonra 5-6 yapraklı dönemde çiçek sapı oluşur. Bitki Ağustos ayı başlarında çiçeklenmeye başlar, yaklaşık bir ay kadar çiçekli kalır. Gövde tüysüzdür. Açık yeşil renkte, çoğunlukla yeşil renktedir. Alt kısımları bazen açık mor renktedir. *A. tuncelianum*'da *Allium sativum*'dan farklı olarak baş üzerinde küçük soğancık benzeri yapılar bulunmaktadır. Başlı örten kabuklar arasında oluşan soğancıklar ince bir uzantı ile gövdeye ve orandan da köke bağlanmaktadır. Soğancıklar tekli, ikili yapıda bir arada ya da ayrı olarak başın orta ya da dip kısmına yakın bölgelerde oluşabilmektedir. Bu dişler *A. tuncelianum*'un çoğalma organlarından biridir. Tohumlar soğan tohumlarına benzer şekilde siyah üzerleri buruşuk, üç köşelidir. Tohumlar Ağustos ayında olgunlaşır ve tohumların 1000 dane ağırlığı 3- 3,4 gramdır [31].

2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller canlı hücre ve dokularında pek çok zarara neden olmaktadır. Serbest radikaller hücrede DNA, lipid, enzim ve protein gibi biyokimyasal moleküllerle reaksiyona girerek yapılarını değiştirmektedir [32].

Serbest radikaller, eşlenmemiş elektron taşıyan ve bu yüzden de çok reaktif olan kimyasal maddeler olarak nitelendirilir. Normalde kimyasal olarak bağlanmış iki veya daha fazla elektron içeren moleküllerin elektron düzeni, stabilitelerini belirlemektedir. Eğer elektronun eşi yoksa molekül son derece reaktif davranır ve stabil konuma geçmek için bir elektronla çift oluşturma eğilimine girmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROT); kimyasal olarak reaktif, bir veya daha fazla oksijen atomu içeren moleküller olarak ifade edilmektedir. ROT'ne genellikle; süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen, nitrik oksit (NO) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) örnek olarak verilmektedir. Kendisi bizzat radikal olmamakla birlikte H_2O_2 (hidrojen peroksit) te fenton reaksiyonları sonucu radikal oluşumuna sebep olduğu için bu grup içerisinde değerlendirilir. Serbest radikaller endojen veya eksojen kaynaklı olabilmektedirler. Eksojen kaynaklar; radyasyon, alkol ve uyuşturucular, ksenobiyotikler, hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlardır. Endojen kaynaklar; çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamında oksido-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen küçük moleküller, enzimler, proteinler, mitokondriyal elektron transportu, peroksizomlar, oksidatif stres yapıcı durumlar ve geçiş metal iyonlarıdır [33].

2.5. Antioksidanlar

Antioksidan, oksidasyonu inhibe eden maddeler olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan madde, serbest radikal olan hedef molekülden bir elektron alarak veya vererek onu etkisizleştirebilir. Bu yüzden serbest radikal zincirleme reaksiyonlarını durdurabilmektedir. Kendisi her durumda kararlı olduğundan dolayı serbest radikal'e dönüşmez ve böylelikle etrafındaki serbest radikalleri süpürür. Antioksidanlar dört farklı şekilde etki ederler. Bunlar ise; süpürücü etki, bastırıcı etki, onarıcı etki, zincir

kırıcı etki olarak sıralanmaktadır [33, 34]. Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Vitaminler, β -karoten, poliaminler, melatonin, NADPH, glutatyon adenozin, koenzim Q, ürat, ubikinol, polifenoller, sistein, homosistein, taurin, metionin, nitroksidlerdir [35].

2.5.1. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

2.5.1.1. E vitamini

Vitamin E, yağda çözünen sekiz adet doğal bileşik için kullanılan ortak bir terimdir. Bu bileşiklerin dört tanesi düz zincirli doymuş tokol yapısındadır (α , β , γ , ve δ tokoferol) ve diğer dört bileşik de düz zincirinde 3 adet çift bağ bulunduran tokotrienol yapısındadır (α , β , γ , ve δ tokotrienol) [36]. Besinler içerisindeki E vitamininin yaklaşık % 80' ninin α - tokoferolden, geri kalan % 20' sinin de diğer tokoferol türevlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Yapısındaki aromatik halka fenolik hidroksil grubu taşımakta ve böylece aktif kısmı oluşturup ve moleküle antioksidan özelliği kazandırmaktadır [37].

E vitamini, serbest radikaller tarafından başlatılan oksidatif hasardan hücre membranlarını koruyan çok güçlü radikal temizleyicisidir ve hücreyi koruyan en büyük antioksidan bileşik E vitaminidir. Lipitteki çözünürlüğünün yüksek olması, kolaylıkla membran fosfolipidlerine diffüze olabilmelerini, dolayısıyla da tüm hücre membranları üzerine stabilize edici etkisinin oluşmasını kolaylaştırmıştır [38-40].

Hayvan ve insanlarda yapılan deneysel çalışmalar tokoferol türevlerinin; mide, akciğer, karaciğer, mesane, kolon, prostat, meme ve deri kanseri gibi deneysel olarak oluşturulan tümörlerin oluşmasını geciktirici hatta iyileştirici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Zira kanserli organizmada antioksidan kapasite azalır, dolayısıyla da metabolizmanın dengesi bozulur. E vitamini gibi antioksidan bileşikler ise antioksidan kapasiteye doğrudan veya dolaylı olarak destek vererek kansere karşı savunma mekanizmalarını güçlendirir [41-44].

2.5.1.2. Glutasyon

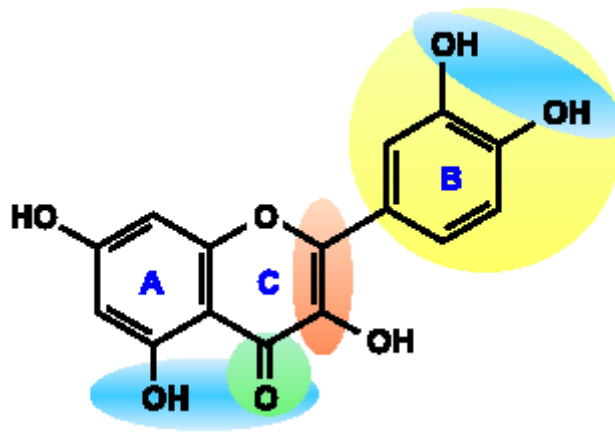
Glutasyon(GSH), başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeyde bulunan ve glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptittir. Bitkilerde, hayvanlarda ve bazı bakterilerde genellikle yüksek düzeyde bulunur ve redoks tamponu olarak düşünülebilir. Suda çözünen önemli bir antioksidan ve indirgeyici ajandır. Glutasyonun pek çok metabolik görevi vardır. GSH peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substratı veya ko-substratıdır. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. Ayrıca, protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin aktivasyonunu engeller. Membrandan transportunu sağlar. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önler [44]. Glutasyonun en önemli fonksiyonu, enzimlerin tiyol gruplarının (-SH) indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Özellikle H₂O₂'nin elimine edilmesinde de GSH'ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır [41].

2.5.1.3. Fenolik bileşikler ve flavonoidler

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik halkaya sahip olan ikincil metabolitler olarak nitelendirilir. Son yıllarda bitkilerde 8000'den fazla fenolik bileşiğin yaygın olarak bulunduğu rapor edilmiştir. Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri olduğu saptanmıştır. Flavonoidlerin ise; serbest radikal emme kapasitesi, vasodilatör, anti-kanserojen, anti-inflamatuvar, anti-bakteriyel, anti-alerjik, anti-viral, östrojenik, gibi değişik etkinliklere sahip olduğu literatür verilerinde sıklıkla ifade edilmiştir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi ile kimyasal yapıları arasında önemli bir ilişki vardır. Bu bileşiklerin antioksidan özelliklerinin, içerdikleri OH gruplarından kaynaklandığı bildirilmektedir. Serbest radikalleri uzaklaştırıcı etkileri, B halkasındaki orto 4-C pozisyonunda OH gruplarının varlığı, C-halkasındaki 4-oxo ile birlikte C2-C3 arasında çift bağın olması, A ve C halkalarındaki 3-OH ve 5-OH veya 4'-OH ve 3'-OH gruplarının varlığından kaynaklandığı bildirilmiştir. Fenolik bileşiklerin hastalıklara karşı olumlu etkilerinin yanı sıra, fazla miktarda tüketimlerinin ise çeşitli zararları olduğu ve sağlık üzerinde bazı riskler taşıdığı da

belirtilmiştir. Ayrıca polifenoller, Fe^{3+} iyonu ile şelat oluşturduğundan, bağırsaktaki non-heme Fe emilimini etkilemekte ve bireylerde anemi oluşturmaktadır. Bu nedenle çay, kahve, şarap gibi yüksek polifenol içeren sıvıların, besin ile tüketilmemesi tavsiye edilmiştir [33].

Flavonoidler, fenolik ve furan halkalarından oluşan benzo- γ -furan türevleridir. Bu bileşikler; A, B ve C halkalarından oluşan halka yapısında çeşitli hidroksil, metoksi ve glikozit yan grupları içerirler. Halkalar arasındaki yapısal değişiklikler flavonoidleri çeşitli sınıflara ayırmaktadır. Flavonoidlerin ve metabolitlerinin antioksidan aktivitesi halkalı çekirdeksel yapılarındaki fonksiyonel grupların yerleşmesine bağlıdır. Flavonoidlerin antioksidan etkileri hidroksillenme derecesine göre artarken, yapıya bağlanan şekere ve cinsine göre de azalır. Flavonoidler tarafından serbest radikallerin süpürülme yeteneği, en çok serbest 3-OH grubunun varlığına bağlıdır. 3-OH ve 3',4' kateşol yapısına sahip olan flavonoidler radikallere karşı daha etkilidirler. Örneğin kuersetin, siyanidin ve kateşinin antioksidan kapasiteleri bu özelliklerinden dolayı yüksektir. Şekil 2.2'de, çok güçlü bir antioksidan olan kuersetinin kimyasal yapısı üzerinde antioksidan kapasitesini belirleyen özellikleri incelediğimizde, bu özelliklerden en önemlisi, sarı renkle gösterilen kateşol veya orto-dihidroksillenmiş B halkasıdır. Diğer önemli özellikler; C halkasında kırmızı renkle gösterilmiş olan doymamış yapı, yeşil renkle gösterilen 4-okso fonksiyonunun varlığıdır. Kateşol grubu ve diğer fonksiyonlar (mavi renkli) demir ve bakır gibi transizyon metallerini şelatlama yeteneği sağlar [45].



Şekil 2.2. Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı.

2.5.2. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri

2.5.2.1. Katalaz enzimi

Katalaz enzimi (CAT; E.C. 1, 1, 1, 6), hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizleyen ve yapısal olarak % 1,1 hem, % 0,09 demir içeriğine sahip dört hem grubu bulunduran bir enzimdir. Hidrojen peroksit toksik bir maddedir bu yüzden peroksiti suya ve moleküler oksijene (O_2) parçalayan bir enzim olan katalazın aktivitesi sonucu konsantrasyonu çok düşük tutulmaktadır [46]. İnsan akyuvarlarında önemli miktarda katalaz bulunmasına karşın, yapısı gereği eritrositlerde fazla miktarda bulunan hidrojen peroksitin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutatyon redüktaz/peroksidaz yolu olduğu bilinmektedir [47].

Katalaz reaksiyonu için K_m sabiti diğer antioksidan enzimlere nispeten yüksektir ve katalaz, H_2O_2 'nin olduğu tüm organellerde bulunmaz; Katalaz, H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarında (H_2O_2 için $K_m = 1$ mM) daha etkilidir. Daha düşük H_2O_2 konsantrasyonunun söz konusu olduğu durumlarda, bu aktif türün etkisizleştirilmesinde glutatyon peroksidaz (GSH-Px; H_2O_2 için K_m ; μM düzeyinde) daha etkilidir, bu da katalazın oksijen radikallerinin oluşumundan korunmada ikincil öneme sahip olduğunu düşündürmektedir [48].

2.5.2.2. Glutatyon peroksidaz enzimi

Glutatyon peroksidaz enzimi(GSH-Px; E.C. 1,11,1,9), hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasında görev alan bir enzimdir. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünitesi bir selenyum atomu içerir. Bu yüzden hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzimdir. Endotel hücrelerinde özellikle akciğerde en etkilidir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular eritrositler ve karaciğerdir. Enzim aktivitesinin % 60-75'i hücrelerin sitoplazmasında, % 25-40'ı ise mitokondridedir. GSH-Px, intrasellüler mesafede lipitleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur [41, 49, 50, 51].

Peroksidaz, hidrojen atomlarını vermek eğiliminde olan bileşikler ile bu atomları alıcı durumunda olan H_2O_2 bileşiği arasındaki reaksiyonu katalizleyen bir oksidoredüktazdır [52]. GSH-Px enziminin iki tipi bulunmaktadır. Birincisi, klasik tip GSH-Px olup plazmada düşük seviyelerde bulunmaktadır, plazmada GSH seviyesi de çok düşük olduğu için GSH-Px enzimi olarak fonksiyon görüp görmediği tam olarak bilinmemektedir. İkincisi, fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz'dır ve bu enzim yağ asidi ve kolesterol hidroperoksidlerini azaltmakla görevlidir [53].

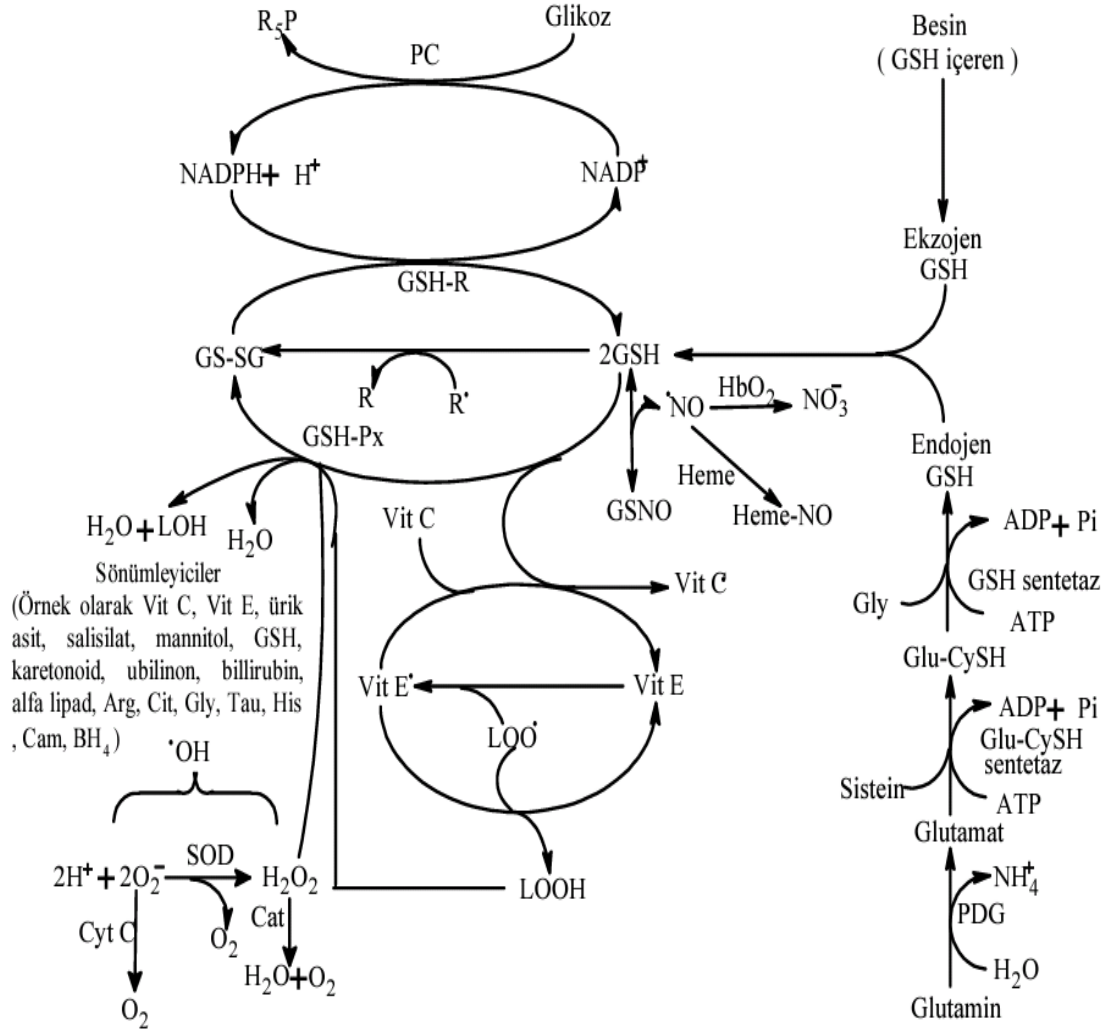
2.5.2.3. Glutatyon redüktaz enzimi

Glutatyon redüktaz enzimi (GR; EC 1,6,4,2), glutatyon (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine; GSH) çok sayıda önemli fonksiyona sahiptir. Ksenobiyotiklerin toksinlerini gidermek için gerekli olan bir antioksidandır ve izomerizasyon reaksiyonlarda bir kofaktör olarak çalışır [54]. Glutatyon proteinlerin yıkımı ve sentezinde enzimlerin düzenlenmesinde DNA'nın oluşumunda ve reaktif oksijen türleri ve serbest radikallere karşı hücrenin korunmasında önemli bir role sahiptir. Glutatyon redüktaz NADPH kullanılarak okside glutathyonun (GSSG) indirgenmesini kataliz eder [45].

2.5.2.4. Süperoksit dismutaz enzimi

Süperoksit dismutaz enzimi (SOD; E.C. 1,15,1,1), süperoksit radikale karşı devreye giren ilk savunma enzimidir ve antioksidan savunma açısından oksijene maruz kalan tüm hücrelerde önemlidir. SOD enziminin farklı izoformları vardır. İnsanda üç SOD izoformu bulunmaktadır; mitokondriyal SOD (Mn-SOD), ekstrasellüler SOD ve sitozolik SOD (Cu, Zn-SOD) [45, 55]. Çeşitli dokular arasındaki SOD aktivitesi farklıdır. En yüksek aktivitenin karaciğer, hipofiz bezi, safra kesesi, böbrek ve dalak dokularında olduğu belirtilmektedir [56]. SOD enzimi, bazı Avrupa ve Amerika ülkelerinde anti-enflamatuvar ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, iskemi tedavisinde de geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. SOD enziminin, meme ve barsak kanseri ile katarakt oluşumunu önlemede koruyucu bir mekanizmaya sahip olduğu da belirtilmiştir [57, 58].

Ökaryotik canlı hücrelerinden oksijen, azot serbest radikalleri ile diğer reaktif türlerin uzaklaştırılması şekil 2.3’de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Ökaryotik canlı hücrelerinden oksijen, azot serbest radikalleri ile diğer reaktif türlerin uzaklaştırılması reaksiyonları [59].

2.6. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve DMBA

Bilinen en güçlü karsinojenler olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) organik maddelerin pirolizi veya tamamlanmamış yanma tepkimeleri sonucu oluşan 3 veya daha fazla aromatik halka taşıyan kuvvetli karsinojenik maddelerdir. Molekül formülleri bakımından doymamışlık gösterirler. PAH'ların hayvan türlerine ait değişik dokularda tümör meydana getirebilme yeteneğine sahip oldukları yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonucu tespit edilmiştir. Karsinojenik potansiyellerinin

yüksek oluşu immünotoksik etkilerine bağlanmaktadır. PAH'lar hem hücrel hem de humoral immüneyi inhibe edebilmektedirler. Özellikle benzo[a]piren (BaP), 3-metilkolantren (3-MC) ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (7,12-DMBA)'ın, *in vivo* olarak hayvan modellerinde ve insan periferik kan hücreleri ile yapılan *in vitro* testlerde çok yüksek derecede immünotoksik olduğu saptanmıştır. Deriye sürüldüklerinde papillom ve deri kanserleri, deri altına enjekte edildiklerinde sarkomlar, oral yolla alındıklarında bağırsak karsinomları ve bazı organ tümörlerini meydana getirmektedirler. Özetle PAH'lar tümör başlatıcı, geliştirici ve ilerletici özellikleri olan potansiyel karsinojenlerdir [60-63].

PAH'ların kanserojen oldukları ilk olarak 1921 yılında belirlendi [64]. Bunlara en iyi örnek PAH ailesinin üzerinde en çok çalışılmış bir üyesi olan 7,12-dimetilbenz[a]antrasendir. Yüksek dozlarında DMBA kemirgenlerde meme tümörlerini meydana getirmesiyle bilinen sentetik bir model bileşiktir [65]. Polisiklik aromatik hidrokarbondan DNA'ya diol epoksitlerinin kovalent bağlanmasının tümör başlangıcı tetiklediği kabul edilir. Bu nedenle diol epoksitlerini detoksifiye eden glutatyon S-transferazlar (GSHs) tarafından katalize edilen hücrel reaksiyonlar, tümör başlangıç riskini azaltmak için çok önemlidir. 7,12-DMBA gibi PAH'ların serbest radikalleri oluşturduğu ve karsinogenezde rol oynadığı belirlendi. Bu ise DNA bağlarının kırılması ve lipid peroksidasyonu yoluyla hücrel oksidatif hasarı meydana getiren peroksitler, hidroksi ve süperoksit anyon radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin meydana getirilmesiyle açıklanmaktadır [66].

DMBA metabolizması sırasında hücre içerisinde reaktif oksijen türleri üretilir. ROT hücre içerisinde üretildiği yerden diğer sağlam hücrelere yayılabilir. Böylece oluşan ROT' un lipid peroksidasyonunu başlatan temel serbest radikalleri dolaylı yollardan aktive etmesi veya lipid peroksidasyonunu doğrudan başlatması sonucu zararlı etkilerin ortaya çıkmasına neden olur [67]. DNA ürünlerinin oluşumunun yanında DMBA' nın oksidatif ürünleri, protein ve lipid membranlarına zarar vererek hayati hücrel fonksiyonların yerine getirilmesine engel olur. Reaktif oksijen radikallerini süpürmek için var olan vücut savunma sistemleri, çevresel ve fizyolojik etkenlerden dolayı çok sıklıkla doygun hale gelip kusurlu olabilirler. Kusurlu antioksidan sistemler kansere ve ilaç toksisitesine hassasiyeti arttırırlar. Bu nedenle diyetel antioksidan bileşikler ve mikrobelerin eklenmesi gibi uygun müdahaleler ROT'a bağlı hücrel hasara karşı korumada gereklidir [68].

2.7. Kanser ve Antikanser Çalışmaları

2.7.1. Kanserin Tanımı

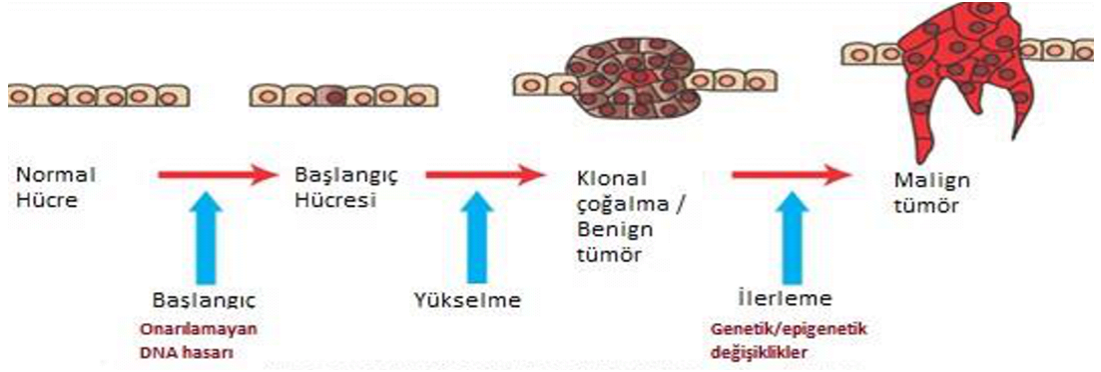
Kanser, tek bir hücrede meydana gelen, kopyalanan, zarar verici bir hastalıktır ve kanserler, bir dizi düzenleyici sistemin bozulmasından dolayı ortaya çıkmaktadır. Kanser anormal bir doku kitlesidir. Büyümesi normal hücrelerden hızlıdır ve onlarla eşgüdüm içinde değildir. Bu büyüme hızı onu başlatan uyarının ortadan kalkmasından sonrada aynı aşırı biçimde devam eder. Etkin tümör hücreleri kendi belirsiz çoğalmalarını devam ettirmek için, apoptozisden kaçmakta ve yeni kan damarları meydana getirmektedir ve sonuçta vücudun çeşitli bölgelerine yerleşmek için az miktarda hücreye izin vermektedirler. Normal hücresel çoğalma, ölüm ve haberleşme, tek başına art arda uyarılarla meydana getirilmekte iken kanser hücreleri, büyüme ve bölünmeyi düzenleyen kontrol mekanizmasından kaçmaktadır. Böylece bu hücreler tümör denen kümelenmiş bir doku şeklini almaktadır [69-71].

Kanser, dünya genelinde kalp hastalıklarından sonra tüm ölümlerin en sık ikinci sebebidir ve kanser tedavisi halen modern tıptaki en önemli sorunlardan biri olarak devam etmektedir [72]. Tüm kanserlerin, DNA'daki genetik değişime bağlı olduğu açıklanmaktadır. Kanser genleri diye adlandırılan mutasyona uğramış genlerin, kanser gelişimiyle ilişkili olduğu ifade edilmektedir [73].

2.7.2. Kanserin evreleri

Kanserin oluşum süreci başlangıç, yükselme ve ilerleme olmak üzere üç aşamadan meydana gelir (Şekil 2.4). Başlangıç aşaması, hızlı ve geri dönüşümü olmayan bir süreçtir. Hasara uğrayan DNA'nın onarımı gerçekleşmediği takdirde klonal yayılmayla hücre çoğalmaya başlar ve yavru hücrelere hasarlı DNA aktarılır. Başlangıç aşamasında, sadece simetrik hücre bölünmesi gerçekleşir ve bu da farklılaşmış yavru hücrelerin aksine benzer tipte iki hücre oluşumunu uyarır. Eğer bu hücreler çevredeki hücreler tarafından baskılanırsa tümör oluşmaz. Diğer yandan çevredeki hücrelerin baskılayıcı etkisini ortadan kaldıran ajanlar tetiklenirse, farklılaşmayan başlangıç hücresi çoğalarak dokuda birikir. Bu aşamaya yükselme evresi denir. Başlangıç hücresine diğer genetik ve epigenetik değişimlerin de

eklenmesiyle, başlangıç hücresi birikir ve diğer dokulara metastaz yapabilir. Bu aşama ilerleme aşaması olarak kaydedilmiştir. İlerleme aşamasında hücre proliferasyonu uyarıdan bağımsızdır ve bu aşamanın karakteristik özellikleri hızlı gelişim, invazyon, metastaz, biyokimyasal, metabolik ve morfolojik özelliklerde değişim olarak sıralanabilir [74].

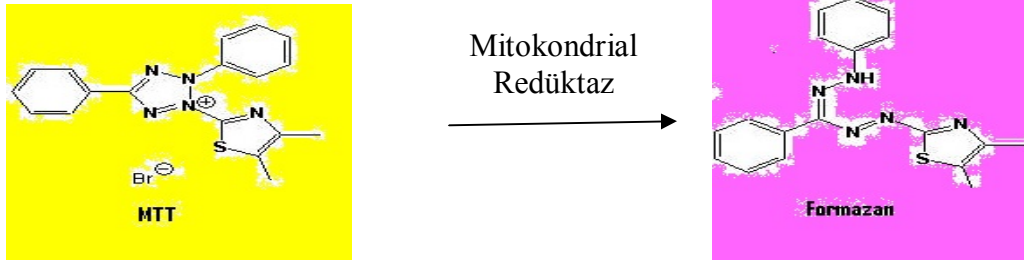


Şekil 2.4. Kanseri oluşum süreci

2.7.3. Antikanser çalışmaları ve hücre kültürü

Günümüzde, hücrenin ve kanserlerin moleküler biyolojisinin anlaşılması, daha çok kültüre edildi kanser hücrelerinin kullanımıyla sağlanmıştır. Şu ana kadar, insan kanserlerinin geniş bir analizini gösteren hücre kültürlerinin binlercesi geliştirilmiştir [75]. Hücre kültürü modelleri, ilaçların ve endojen maddelerin pasif ve aktif taşıma çalışmasında, hücre fizyolojisi ve metabolizmasını belirlemede, protein ekspresyonu, oligonükleotitler ve in vitro toksisite testleri gibi çok sayıda amaç için kullanılabilir [76]. Sitotoksikite belirleme yöntemlerinin bir çeşidi olan MTT Yöntemi antiproliferatif aktivitenin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. MTT: (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difelnil tetrazolyum bromür) bir tetrazolyum tuzu olup, canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat-dehidrogenaz enzimi ile spesifik tepkime verir. Bu yöntemde, canlı hücrelerin mitokondrisinde yer alan süksinat-dehidrogenaz enzimi, MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayarak suda çözünmeyen formazan tuzları oluşturur. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği mitokondrinin sağlamlığı ve metabolik aktivitesinin tanımlanmasını sağlar. Bu da hücre canlılığının ölçüsü olarak alınır. MTT yönteminde spektrofotometrik olarak ölçülen değer, hücre kültüründeki hücrelerin metabolik aktivitelerini gösterir ve bu değer, yaşayan hücre sayısı ile ilişkilidir.

Proliferasyon arttıkça formazon tuzu oluşumu artacağından absorbans değeri artış gösterecektir. MTT ile hücre canlılığı testinin prensibi sarı renkli suda eriyen MTT'yi viyole renkli suda erimeyen Formazana indirgemektir (şekil 2.5).



Şekil 2.5. 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromit (MTT); MTT 'nin Formazana indirgenmesi.

Kanser tedavilerinde uygulanan anti kanser etkili bir ilaç, kanser hücresi üzerine toksik etki gösterirken, aynı zamanda sağlıklı hücreler üzerine de toksik etki göstermekte ve etkilenen sağlıklı hücrelerin bulunduğu organların tahrip olmasına neden olmaktadır. Antikanser ilaçların istenmeyen bu yan etkileri ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Bunun yanı sıra, yapılan çalışmalarda kemoterapi uygulanan hastalarda tedavide kullanılan anti kanser ilaçlara karşı direnç olduğu belirlendi. Kemoterapi kanserli hastaların % 80'ini iyileştirebilmekte, ancak % 20'lik bölümdeki hastaların kanser hücreleri kemoterapotik ilaçlara karşı direnç geliştirmekte ya da ölümcül toksisite oluşturmaktadırlar. Bu yüzden günümüzde kanser tedavisinde uygulanan temel yöntemler ve kullanılan ilaçların yetersiz olduğu düşünülmektedir. Araştırmaların asıl amacı en az toksisite ile daha etkili bir tedavi sağlamaktır. Bu amaç doğrultusunda son zamanlarda yapılan çalışmalarda çeşitli kanser türlerine karşı sentetik ve bitkisel ilaçların anti kanser etkileri araştırılmaktadır. Özellikle bitkilerden elde edilen ekstraktlar ile yapılan çalışmalar daha ümit verici sonuçlar ortaya koymaktadır. Avrupa ülkeleri başta olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde bu konu ile ilgili çalışmalar yoğun şekilde devam etmektedir [77].

2.8. Literatür Özeti

Son yıllarda, bilim adamlarının hastalıklara karşı koruyucu doğal bileşiklere olan ilgisi giderek artmaktadır. Özellikle, serbest radikallerin yol açtığı hastalıklardan

koruma yeteneğine sahip olan maddelerin keşfedilmesine yönelik yoğun bir ilginin olduğu yapılacak olan basit bir literatür taramasında ortaya çıkmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, antioksidant bileşiklerin pek çoğunun antiinflamator, antiatherosklerotik, antitümör, antimutajenik, antibakteriyel ve antiviral aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir [78]. Fitoterapik bitkiler; çoğunluğu yüksek antioksidan aktivite gösteren polifenoller, flavonoidler, C vitamini, E vitamini ve karotenoidler, quinonlar, kumainler, lignanlar, alkaloidler, aminler gibi serbest radikalleri temizleyen birçok antioksidan türünü içerirler [79, 80].

İnsanların yaklaşık 5000 yıldır gıda maddesi olarak kullandığı sarımsağın; bakterisidal, hipoglisemik, antitrombotik, antiatherosklerotik, antimutajenik ve antikanserojenik etkileri ile ilgili pek çok çalışmanın yapılmakta olduğu ve pek çok hastalığın tedavisinde fitoterapötik ajan olarak kullanıldığı bilinmektedir [81, 82]. Sarımsağın hipolipidemik, hipoglisemik, antikoagülant, antihipertensitif, antimikrobiyal, antidod (ağır metal zehirlenmelerinde), hepatoprotektif ve bağışıklığı düzenleyici etkiler gibi bazı iyileştirici etkilere sahip olduğu bildirilmiştir [73].

Sarımsak ekstraktının antimutajenik etkisi güçlü bir mutajen olan siklofomamit (CP)'in mutajenik aktivitesine karşı, İsviçre albino farelerinin kemik iliğinde *in vivo* kromozomal hasar testi kullanılarak Shulka ve Taneja tarafından araştırılmıştır. Çalışmada, intraperitoneal olarak 25 mg/kg dozda CP uygulamasından önce, farelere ağız yoluyla beş gün boyunca %1, %2,5 ve %5 oranında sarımsak ekstraktı verildi. Uygulamadan 24 saat ve 48 saat sonra kemik iliği hücrelerindeki kromozomal hasarlar incelenmiştir. Bu çalışmayla sarımsak ekstraktı uygulanan gruplarda kromozomal hasarların, pozitif kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı, ayrıca mitotik indeksin de önemli derecede artış gösterdiği ortaya konmuştur. Araştırmacılar mitotik indeksteki artışa bağlı olarak, sarımsak ekstraktlarının antisitotoksik etkileri olduğunu da öne sürmüşlerdir [83].

Çeşitli yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktlarının antimutajenik etkisi, Sermenli tarafından yapılan bir çalışmada; 6 farklı sarımsak ekstraktı (taze sarımsak, taze kaynatılmış, mikrodalga fırında ısıtılmış, toz halde, kaynatılarak toz halde ve iki kez santrifüj edilmiş sarımsak ekstraktı), pozitif kontrol olarak H₂O₂ ve negatif kontrol olarak da bir gece bekletilmiş çeşme suyu kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak, H₂O₂ muamelesi sonucunda hücre bölünme oranında meydana gelen azalmanın sarımsak ekstraktı uygulamaları ile artış gösterdiği ve kromozomal hasar

sıklığının, farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktları uygulamasına bağlı olarak değiştiği öne sürülmüştür [25].

Kasuga ve arkadaşlarının [84] yaptığı çalışmada taze sarımsak suyu, ısıtılmış sarımsak suyu, sarımsak tozu ve bekletilmiş sarımsak ekstraktının asetaldehit detoksifiye edemeyen ve tümör hücresi aşılması yapılan 3 farklı özellik grubu içeren farelerde testis fonksiyonları üzerine etkisi araştırılmış. Ön çalışma sonucunda denemede kullanılan taze sarımsak ekstraktı yalnızca testis fonksiyonun geri kazanılması üzerinde etkili olurken; ısıtılmış sarımsak ekstraktının her üç grupta da önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiş olup, kullanılan sarımsak tozu, spermatogenezisin normal hale dönmesinde ve asetaldehit detoksifikasyonun uyarılmasında etkili olduğu ifade edilmiştir. Bekletilmiş sarımsak ekstraktı ise, her üç grupta da etkili olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, farklı tipteki sarımsak ekstraktlarının farklı farmakolojik etkileri olduğunu ve bu ekstraktlar içerisinde en etkili olanının da bekletilmiş sarımsak ekstraktı olduğu kanısını ortaya çıkarmıştır [84].

Lu ve arkadaşları, T24 insan mesane kanser hücre serisinde sarımsağın etkin bileşenlerinden olan DADS'ın neden olduğu apoptozisin etki mekanizmasını araştırmışlardır. Bunun için T24 hücre serisi 24 saat kültüre edildikten sonra, kültür ortamına değişik konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50 ve 75 μ M) DADS eklenmiş, kontrol olarak ise DADS yerine çözücü bir madde olan dimetilsülfoksit (DMSO) kullanıldı. 37°C'de, % 5 CO₂ içeren koşullarda hücre serilerini kültüre etmişlerdir. Sonuçta DADS ile muamele edilen gruplarla (tüm konsantrasyonlarda) kontrol arasında hücre canlılığında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiş, başka bir deyişle DADS'ın T24 hücre serisinde apoptozisi arttırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca 50 μ M DADS konsantrasyonunda apoptoziste anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur [75]. Araştırmacılar bu bulguların ışığında DADS'ın gelecekte insan mesane kanserinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca hücre proliferasyonu ve canlılığı da incelenmiştir. Sonuçta, DADS'ın HepG2 hepatoma hücrelerinin üremesini inhibe ettiği gözlenmiş ve bu bulgu kısmen de olsa DADS'ın apoptotik hücre ölümünü indüklemesiyle ilişkili bulunmuştur [85].

DAS, DADS, s-etil sistein (SEC) ve n-asetil sistein (NAC)'nin; sığır kıyımında renk kaybına, lipid oksidasyonuna ve mikrobiyal kontaminasyona karşı koruyucu olarak, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerini araştırmıştır. Çalışma sonucunda, sarımsakta bulunan organosülfür bileşiklerin hem oksimiyoglobini hem

de lipit oksidasyonlarını anlamlı derecede geciktirdiği ortaya konmuştur. Sarımsağın etkin bileşenlerinden olan DADS'ın T24 hücre serisinde apoptozisi arttırdığı rapor edilmiştir. DADS'ın HepG2 hepatoma hücrelerinin üremesini inhibe ettiği gözlenmiştir [25]. Sarımsakta bulunan doğal bir bileşik olan ajoene'in de insan glutatyon redüktaz enziminin substratını inhibe ederek, hücrede oksidatif stresi arttırdığı bildirilmiştir. Ajoene insan lösemi hücrelerinde peroksit üretimini uyararak ve kappa B çekirdek faktörünü aktive ederek, apoptozise neden olmaktadır. Bu da ajoene'nin anti tümör etkisini kısmen açıklamaktadır [10].

Arora ve arkadaşları, diallil sülfidin (DAS) immüno sitokimyasal ve western blotting yöntemleriyle dirençli hücrelerde indüklenmiş P-gp düzeylerini düşürdüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca *in vivo* kombine çalışmalar, DAS'ın fare hepatositlerinde vinca alkaloidleri'nin indüklediği P-gp'nin aşırı üretimini etkili bir şekilde engellediği de ortaya konmuştur. Sonuçta araştırmacılar, DAS'ın toksik olmayan ve yeni çoklu ilaç direnci düzenleyicisi olabileceği ve diyetle birlikte bir gıda desteği olarak kullanılabileceği kanısını ileri sürmüşlerdir [86].

Allium tuncelianum'a özgü çalışmalar:

A. tuncelianum'un 100 gramındaki kül miktarının, Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü'nün kayıtlarına göre TÜBİTAK analiz sonucu 0,91 g kül/100 g numune değerinde olduğu tespit edilmiştir [87]. Hirschegeger ve arkadaşları *A. sativum* ve *A. tuncelianum*'un AFLP (Genomik DNA'nın restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan DNA parçalarının bir grubunun selektif amplifikasyonu esasına dayanan bir genotipleme metodu) ve filogenetik analizlerle genetik akrabalıklarını incelemiştir. Bu iki türün arasında herhangi bir özel ilişki olmamakla birlikte cpDNA sonuçları bu iki türün en yakın ortak ataya bağlı olduklarını göstermektedir [88]. Dubouzet ve Shinoda, *its*'nin (*its*: Tür ayrımı yapmak için kullanılan ve rRNA'yı kodlayan DNA zincirinde bir bölgenin adı) *allium* cinsinin sınıflandırılması için uygun bir araç olduğunu belirtmişlerdir. Bu yöntem *A. tuncelianum* ile *A. sativum* türlerini karşılaştırmak için kullanılmış sonuç olarak iki türün birbirinden farklı olduğu kanısına varılmıştır [89].

A. tuncelianum etanol ekstraktının *in vitro* antigenotoksik aktivitesi, kromozom aberasyon testi, insan lenfosit hücre kültüründe çalışılmış, kromozomal aberasyon frekansı bakımından *A. tuncelianum*' un etanolik ekstraktı tüm konsantrasyonlarda önemli bir düşüş ortaya koyduğu Dubouzet ve Shinoda tarafından gösterilmiş, bu sonuçlara göre *A. tuncelianum*' un mutajenite ve

karsinojeniteye karşı koruyucu gıda olarak diyetle tüketilebileceği önerisi ortaya konulmuştur. Yumrutaş ve arkadaşları *A. tuncelianum* metanol ekstraktında, β -karoten ve DPPH yöntemiyle *in vitro* antioksidan kapasitesini incelemiş ve standart antioksidanlara yakın bir antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir [90-91].

Taşkın ve arkadaşları *Allium sativum* ile doğal olarak yetişen diğer bazı *Allium* türlerinin (*A. tuncelianum*, *A. scabriflorum*, *A. viride*) su, etanol ve eterdeki 1/10'luk ekstreleri antibakteriyel ve antikandidal etkileri yönünden incelemiş ve sonuç olarak sarımsağın antibakteriyel ve antikandidal etkisi diğer *Allium* türlerine oranla daha yüksek bulunurken, *A. tuncelianum* ikinci etkili tür olarak tespit etmişlerdir [92].

Sökmen ve arkadaşları aralarında *A. tuncelianum*'un da bulunduğu 35 tıbbi bitki çeşidini 5 patojenik bakteri ve bir maya türüne karşı *in vitro* antibakteriyel aktivitelerini ölçüp karşılaştırmışlar ve *A. tuncelianum*'un bu patojenik türlere (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Branhamella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* and *Candida albicans*) karşı hiç bir antibakteriyel etki göstermediğini tespit etmişlerdir [93].

İpek ve arkadaşları *A. tuncelianum* ile sarımsağın AFLP analizi ile bant yapısının benzerliğini araştırmışlar ve bu iki türün bant yapısının birbirinden çok farklı olduğunu bulmuşlardır. *A. tuncelianum*, sarımsak ve diğer bazı *allium* türlerinin ITS bölgesi dizi çalışmasıyla *allium* türleri arasında filogenetik ilişki analizi yapmışlar ve çalışma sonucunda *allium* türlerinin ITS bölgesi uzunluklarının 627 baz çifti ile 655 baz çifti arasında değiştiğini bulmuşlardır. *A. longicuspis*, *A. ampeloprasum* ve *A. scorodoprasum*'un ITS bölgeleri 642 baz çiftinden oluşurken *A. tuncelianum*'da ise 643 baz çiftinden oluştuğunu göstermişlerdir [34].

2.9. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, ülkemizde Tunceli ilinin ovacık ilçesi Munzur dağı eteklerinde doğal olarak yetişmekte olan *A. tuncelianum* bitkisinin eser element düzeyleri, yağ asidi içerikleri, uçucu yağlarının kimyasal içerikleri, toplam antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik madde miktarı, ratlarda antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi ve antikanser özelliğinin yönünden araştırılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Araç ve gereçler

Deneylerde, GC-MS analiz cihazı (Agilent Technology, version N-0504), İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES) (Perkin Elmer Optima 5300 DV), Shimadzu GC-2010; (QP-2010 sistem), Kyoto, Japonya DB-FFAP kapiler kolon (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm; J&W Scientific, Folsom, CA, A.B.D), GC-17 Shimadzu (Ver. 3), Memmert (WBU 45) ısıtıcı, İka (RV 05 Basic 1B) Rotari Evaporatör, Heraeus (Fuktion Line) etüv, Shimadzu (AX 200) 0,0001 duyarlılıkta terazi, Hana (HI 190M) magnetik karıştırıcı, Hana (pH 211) pH metre, Memmert (WB14) çalkalamalı su banyosu, Shimadzu (UV-1601) Spektrofotometre, Epoch Microplate Spektrofotometre (Biotek) Heidolph (Reax Top) vorteks, santrifüj cihazı (Minstral 1000), Hettich (Universal 32R) santrifüj, Brand (transferpette) otomatik pipetler, teknik (B8) distile su üretme cihazı, 3 ml-disposable küvet (Pharmacia LKB Novaspec II), Whatman filtre kâğıdı, parafilm, Eppendorf tüpü (Biorad), Parçalayıcı (Arçelik) kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

Kullanılan kimyasallar “Sigma” firmasından temin edilmiş olup farklı firmalardan temin edilen kimyasalların satın alındığı firma parantez içerisinde belirtildi. Bu tez çalışmasında; potasyum iyodür, α - tokoferol, tween-20, hidroklorik asit, sodyum klorür, PBS, potasyum klorür, sodyum karbonat, BSA, disodyum hidrojen fosfat, potasyum dihidrojen fosfat, hidrojen peroksit, EDTA, NADPH, GSH, GSSG ABTS, TBA, BHT, ferrozin, demir klorür tetrahidrat, sodyum tiyosülfat, amonyum molibdat tetrahidrat, sülfürik asit, etanol, trikloroasetik asit, sodyum salisilat, MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromür], CAT, SOD ve GPx enzimleri kullanıldı.

3.1.3. Bitkilerin toplanması ve ekstraktların hazırlanması

Bu tez çalışması için kullanılan *A. tuncelianum* Tunceli ilinde bulunan Munzur Dağı'nın Ovacık ilçesi yönüne bakan yamaçlarından ağustos ayının ikinci haftası içerisinde toplanmıştır. İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı tarafından tür tesbiti doğrulanmıştır. Ekstrakte edilene kadar +4 °C' de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Ekstraksiyon işlemi hayvan ve *in vitro* antioksidan çalışması için; % 50 su % 50 etanol çözgeni kullanıldı. Sarımsak/çözgen oranı 1/10 olacak şekilde havanda iyice ezilen sarımsak üzerine konup ağzı kapalı olarak 24 saat çalkalayıcıda karıştırıldı. Sarı-yeşil renkte bir ekstrakt elde edilmiştir. Ekstrakt süzme işlemine tabi tutulmuştur. Biyokimyasal aktivite ve *in vitro* antioksidan aktivite çalışması için rotary evaporatörde çözgen uzaklaştırılmıştır. 10,35 g yaş sarımsaktan 2,14 g kuru ekstrakt elde edilmiştir. Antiproliferative çalışması için ise liyofilizatörde çözgen uzaklaştırılmıştır. 10,47 g yaş sarımsaktan 2,61 g kuru ekstrakt elde edilmiştir. Kuruyan madde hava ile fazla temasına izin verilmeden +4°C de buzdolabında muhafaza edildi. Daha sonra elde edilen bu kuru ekstraktlar istenilen derişime getirilmek üzere gerekli olan çözgen miktarları ile çözölüp kullanıldı.

GC-MS analizi ve antiproliferative çalışması için ise yukarıda anlatıldığı şekilde elde edilen ekstraktlar üzerine saf metanol ve etanol çözücülerinden ekstrakt/çözgen oranı 1/5 olacak şekilde çözgen eklenip ekstraktın çözölmesi sağlanmıştır. Açık sarı renkte bir çözelti elde edildi etöv fırınında 103 °C' de 3 saat bekletmek suretiyle sabit tartıma getirildikten sonra belirlenen miktarda sarımsak örnekleri alüminyum folyo ile birlikte tartılıp kurutma işlemi öncesi ve sonrasında tartımlar alınarak kuru madde miktarları belirlendi. Yapılan analizde % 61,92 oranında nem ve % 38,08 oranında kuru madde tesbit edilip antioksidan kapasite sonuçları bu oranlar dikkate alınarak hesaplandı.

3.2. Metot

3.2.1. *Allium tuncelianum*' da biyoaktif bileşen analizi

A. tuncelianum'un ICP-OES ile eser element analizi, Uçucu yağ bileşenlerinin GC-MS ile analizi, yağ asidi metil esterlerinin GC-FID ile analizi ve sulu etanol (% 50) ekstraktının GC-MS ile analizi yapıldı.

3.2.1.1. *Allium tuncelianum* 'da ICP-OES ile eser element analizi

A. tuncelianum eser elementleri, Harran Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. Metal analizleri için ICP-OES yöntemiyle, Perkin Elmer Optima 5300 DV model cihazı kullanıldı. ICP-OES cihazında çalışabilmek için distile su içerisinde bilinen farklı yoğunluklardaki standartlar Greenberg ve arkadaşları [94] tarafından belirtilen yöntemle göre hazırlandı. Ölçüm yapılmadan önce standartlar tanıtılıp sonra örneğin eser element düzeyleri okundu. Ön analiz için tek, detaylı analizler için dört paralel numune çalışılmıştır. Sonuçlar, ortalama değerler ve standart sapma şeklinde ifade edilmiştir

ICP-OES cihazının çalışma parametreleri

Cihaz: X Işını Difraktometresi Rigaku RINT-2000: Standart numune tutucu ile bir yapının amorf ya da kristal özellikte olup olmadığını belirlemek için CuK α radyasyonunun kullanıldığı bir cihazdır. Genel Özellikler;

- Kullanılan Radyasyon: CuK α
- Çalışma Voltaj Aralığı: 20 – 60 kV
- Çalışma Akım Aralığı: 2 – 80 mA
- Çalışma Açısı Aralığı: 2 - 80

3.2.1.2. *Allium tuncelianum* 'dan uçucu yağ eldesi ve bileşenlerinin GC-MS ile analizi

A. tuncelianum'dan uçucu yağ elde etme işlemi, İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Bölümü laboratuvarında yapıldı. 200 g örnek soyulup öğütücüde parçalandıktan sonra 100 mL distile su ile karıştırılarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletilip, Clevenger cihazında, su buharı distilasyon yöntemi ile elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ ağız kapaklı otosampler viali içerisinde +4 °C' de buzdolabında GC-MS analizi için saklandı. Uçucu yağların GC-MS analizi, İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Bölümü laboratuvarında yapıldı. Uçucu bileşenlerin ayırımında, Shimadzu GC-2010; QP-2010 sistem; Shimadzu, Kyoto, Japonya DB-FFAP kapiler kolon (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm; J&W Scientific, Folsom, CA, A.B.D) kullanıldı. Cihazın enjeksiyon sıcaklığı 250°C ve MS iyon kaynağı 200°C'ye ayarlanmıştır. Kütle spektrometresi ile 1 sn aralıklarla 33–650 kütle/yük (m/z) arasında tarama yapıldı. Seperasyon için sıcaklık programı 40°C'de 2 dk ile başladıktan sonra 5 mL/dk hızıyla 240°C'ye çıkarılarak bu sıcaklıkta 6 dk bekleyecek şekilde ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak He kullanılarak kolon içerisinde 1 mL/dk hızında akış sağlanmıştır. Piklerin tanımlanmasında MS kütüphanesinde bulunan Wiley 7 ve NIST 147 programları kullanıldı. Tanımlanan piklerin alıkonma indeksleri (retention index) C₁₀-C₂₆ n-alkan serisi (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Ausburg, Almanya) kullanılarak belirlenmiş ve literatür verileriyle karşılaştırılmıştır.

3.2.1.3. *Allium tuncelianum* yağ asidi metil esterlerinin GC-FID ile analizi

Lipitler içinde bulunan yağ asitlerinin GC analizinin yapılabilmesi için polar olmayan uçucu ve kararlı yapıya sahip olan metil esterleri gibi türevlerine dönüştürülmesi gerekmektedir [95]. Lipit ekstraksiyonu için bitki örneklerinden 0,5 gram alınarak, Hara ve Radin metoduyla, 3:2 (v/v) hekzan-izopropanol karışımı kullanılarak yapıldı [96]. Numuneler Hekzan-izopropanol karışımı içinde 30 sn süreyle homojenize edilip, karışım santrifüj tüplerine alınıp 10000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edildi. Süpernatant kısmı alınarak ağız kapaklı deney tüplerine konuldu. Metil esteri hazırlamak için hekzan/izopropanol fazı içindeki lipit ekstraktı

30 mL'lik sızdırma yapmayan deney tüplerine alındı. Üzerine %2'lik metanoliksülfirik asitten 5 mL ilave edildi, vorteks ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 50 °C lik su banyosunda 12 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. Tüpler su banyosundan çıkarılarak 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 edilip, hekzan fazı pipetle alınarak, 5 mL % 2' lik KHCO₃ ile muamele edilerek fazların ayrılması için 4 saat bekletilmiştir. Daha sonra metil esterlerini içeren karışım, 45 °C de ve azot akımı altında çözücüsü uçurulup, 1 mL hekzan ile çözülerek 2 mL'lik ağzı kapaklı otosampler vialleri içine alınarak gaz kromatografisinde analiz edildi. Yağ asitlerinin GC analizi, Sütçü İmam Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı'nda, Shimadzu GC 17 Ver. 3 gaz kromatografisi ile analiz edili. Bu analiz için 25 m uzunluğunda, 0,25 µm iç çapında ve Permabond 25 mikron film kalınlığına sahip Machery-Nagel (Germany) kapiller kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120- 220 °C, enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 120 °C'den 220 °C'ye kadar ayarlanıp sıcaklık artışı 200 °C'ye kadar 5 °C /dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 °C/dk olarak belirlendi. 220 °C'de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35 dakika olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak azot 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 işlemten sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı.

3.2.1.4. *Allium tuncelianum* sulu etanol (% 50) ekstraktının GC-MS ile analizi

GC-MS kolonlarının su ile etkileştiğinde zarar görmeleri nedeniyle, ekstraktın GC-MS analizi, polaritesi suya en yakın iki çözücüde çözülerek yapıldı. Etanol ve metanolde çözünmüş ekstrelerinin analizleri, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezinde (İBTAM), Agilent Technology 6890 GC METHOD/5973-MS Mass Selective Dedector cihazı ile yapıldı. Ekstrakt bileşenleri aşağıda belirtilen koşullarda gaz kromatografisi kolonunda tutunma sürelerine (RT) göre ayrılarak rölatif oranlarına göre değerlendirilmiştir. Bileşenler gaz

kromatografisi kolonundan ayrıldıktan sonra dedektör görevi gören kütle spektrometresinde her birinin tek tek spektrumları alındı.

Analiz koşulları:

Sıcaklık 1	: 60 °C
Sıcaklık 2	: 250 °C
Zaman 1	: 0,5 dk.
Zaman 2	: 10 dk.
Enjekte edilen numune miktarı	: 1 µL
Enjektör sıcaklığı	: 150 °C
Hızı	: 1,7 mL/dk.
Kapiler kolon	: HP-INNOWax kolonu (Agilent 19091N-136 (60 m uzunluğunda, 0,25 mm çapında, film kalınlığı 0,25 µm)
Taşıyıcı gaz	: Helyum, 45 mL/dk.
Dedektör sıcaklığı	: 250 °C

3.2.2. *In vitro* antioksidan aktivite ölçümleri

3.2.2.1. Toplam fenolik bileşik tayin yöntemi

A. tuncelianum'da, toplam fenolik madde miktarının hesaplanmasında Folin-Ciocalteu (F-C) metodu tercih edildi [97, 98].

1 mg/mL olacak şekilde sarımsak ekstraktlarından 40 µL alınıp 200 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırıldı. 1160 µL distile su, 3 dakika sonra 600 µL %20'lik sodyum karbonat (Na₂CO₃) ilave edilir. Karışım 2 saat oda sıcaklığında çalkalanarak karıştırılır. 765 nm dalga boyunda absorbans ölçülür. Standart olarak gallik asit kullanıldı. Elde edilen absorbans değerlerine karşı deney karışımlarındaki gallik asit miktarı grafiğe geçirildi. Çizilen lineer eğrinin denklemi hesaplanmış ve “ $y=ax \pm b$ ” şeklindeki denklemde örnekler için elde edilen absorbans, denklemdeki “y” yerine yazılarak buna karşılık gelen gallik asit derişimi “x” hesaplandı. Daha sonra gerekli seyreltme faktörleri ile çarpılarak, antioksidan kapasite, gram sarımsakta veya standartta mg gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı.

3.2.2.2. Bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemi

Bu deneyde Reşat Apak'ın [99] metodu minör değişikliklerle birlikte uygulandı. Bu yöntem; Cu(II) klorür çözeltisi, neokuproin (Nc) çözeltisi ve amonyum asetat (pH:7 tamponu) çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, üzerine tayin edilecek herhangi bir antioksidan çözeltisi (direkt veya asit hidrolizi sonunda) ilave edilmesi ve bunu takip eden 30 dakika sonunda içerisinde antioksidan bulunmayan referansa karşı 450 nm'de absorbans değerlerinin ölçülmesinden ibarettir. Bir deney tüpü içerisine 10 mM bakır(II) çözeltisi, 7,5 mM neokuproin çözeltisi ve 1 M amonyum asetat tampon çözeltisinden sırasıyla 1'er mL eklendi. Üzerine (0,2) mL 1 mM standart antioksidan çözeltisi ve (1,1-0,2) mL çözücü (polifenolik bileşiklerin hazırlandığı çözücü ortamı) ilave edilip iyice çalkalandı. Toplam hacim 4,1 mL olacak şekilde çözeltiler hazırlandıktan sonra tüpler oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak 30 dakika boyunca bekletildi. Bu süre sonunda içinde örnek bulunmayan referans çözeltiye karşı, oluşan Cu(I)-Nc şelatının renginin karakteristik dalga boyu olan 450 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Bu yöntemle ilgili polifenolik bileşiklerin çalışma eğrileri çizildi. Bu maddelerin lineer olduğu aralık tespit edildi ve her bir bileşiğin molar absorblama katsayısı bulundu. Analiz karışımı (1 mL Cu(II) + 1 mL Nc + 1 mL NH₄Ac + 0,2 mL örnek + (1,1-0,2) H₂O V_{toplam}: 4,1 mL) toplam hacim 4.1 mL olacak şekilde hazırlandı.

A. tuncelianum ekstrelerine farklı hacimlerde örnek alınarak ayrı ayrı CUPRAC yöntemi uygulandı. Denemeler üçer kez tekrarlandı ve toplam antioksidan kapasiteleri aşağıda verilen formüle göre belirlendi.

$$TAC_{mmol/g} = (Absorbans \pm \text{kayım} / \epsilon_{TR}) * (\text{Toplam Hacim} / \text{Alınan Örnek Hacmi}) * \text{Toplam Ekstre Hacmi (mL)} / \text{Sarımsak Miktarı (g)} * \text{seyrelme oranı} \times 10^3$$

3.2.2.3. ABTS radikal süpürme yöntemi

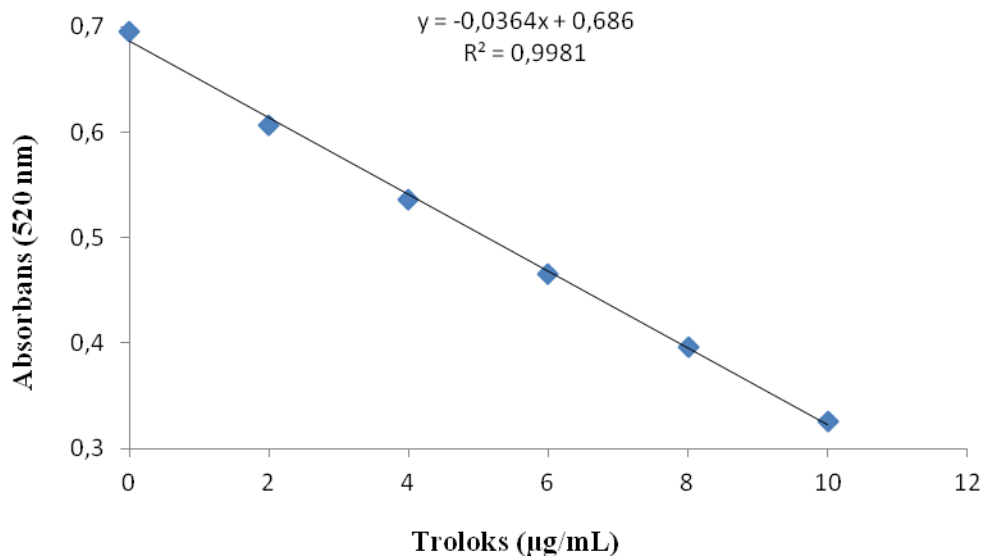
Bu deney klasik ABTS metodunun [100] *A. tuncelianum* için kullanılabilmesi için tarafımızca modifiye edilerek uygulanmıştır. ABTS' radikali; potasyum peroksodisülfat (6,6 mg) ve ABTS (30 mg)'nin 7,8 mL sulu çözeltisinin oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilmesiyle elde edildi. Elde edilen renkli çözelti saf su

ile absorbansı 734 nm’de $0,700 \pm 0,020$ olacak şekilde seyreltilerek gerekli ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Farklı derişimlerde hazırlanan örneklerden ve kör için saf sudan 100 µL ABTS çözeltisinden ise 2,9 mL olacak şekilde 3 mL’lik küvetlerde karıştırılıp, 30 dk Sonra absorbansı 765 nm’de saf suya karşı okundu. *A. tuncelianum* ve standart olarak kullanılan BHT, askorbik asit ve α-tokoferol’ün antioksidan kapasiteleri troloks cinsinden ifade edilmiştir. Bu amaçla troloks’un 100 mg/100 mL stok çözeltisi etil asetat içinde hazırlandı. Daha sonra bu stoktan son derişimi 1-10 µg/mL olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerden alınan 100’er µL üzerine 2,9 mL ABTS çözeltisi konulmuş ve örneklerde olduğu gibi 30 dk. sonunda spektrofotometrede ölçüm alındı. Elde edilen absorbans değerlerine karşı deney karışımlarındaki troloks miktarı grafiğe geçirildi. Bulunan sonuçlar gerekli seyreltme faktörleri ile çarpılarak, antioksidan kapasite, gram kuru *A. tuncelianum*’da veya standartta µg troloks eşdeğeri olarak hesaplandı. Bütün antioksidan aktivite çalışmalarında her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart hataları ifade etmektedir.

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki formülle hesaplandı;

$$AA = 1 - [A\ddot{O}_{30} \div AK_{30}] * 100$$

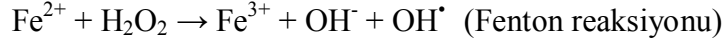
(AÖ₃₀: Örneğin 30,dakikadaki absorbansı; AK₃₀: Kontrolün 30, dakikadaki absorbansı)



Şekil 3.1. Örnek bir troloks standart grafiği

3.2.2.4. OH[•] Radikal Temizleme Yöntemi

OH[•] radikal indirgeme gücü ölçümü Smirnoff ve Cumbes'a [101] göre yapıldı. Hidroksil radikalleri FeSO₄ ve H₂O₂ içeren sistemde üretildi [102].



Toplam 3 mL reaksiyon karışımı için 1 mL FeSO₄ (1,5 mM), 0,7 mL H₂O₂ (6 mM), 0,3 mL sodyum salisilat (20 mM) ve değişen konsantrasyonlardaki 1 mL'lik örneklerle (100, 200, 300 µg/mL) eklenip, 60 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. 562 nm'de absorpsanları kaydedildi. Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki gibi hesaplandı. Sonuçlar standartlarla birlikte grafik olarak gösterildi.

$$\text{AA} = [1 - (\text{A}_1 - \text{A}_2) / \text{A}_0] * 100$$

A₁: Örneğin absorpsansı; A₂: Örneğin sodyum salisilatsız absorpsansı;

A₀: Kontrolün absorpsansı)

3.2.2.5. H₂O₂ süpürme aktivite tayin yöntemi

H₂O₂ uzaklaştırma aktivitesi ölçümü için Smirnof ve arkadaşlarının [101] yöntemi küçük değişikliklerle beraber esas alındı. 1 mL 0,1 mM H₂O₂ ve 1 mL çeşitli konsantrasyonlarda (100, 500, 1000 µg/mL) hazırlanmış örnekler karıştırılır, 100 µL % 3'lük amonyum molibdat eklenir, 2 M 10 mL H₂SO₄ ve 1,8 M 7,0 mL KI ilave edilir. Karıştırılan çözelti 5 mM Na₂S₂O₃ ile sarı renk kayboluncaya kadar titre edildi. Standart olarak askorbik asit kullanıldı. % Süpürme Aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar standartlarla birlikte gösterildi.

$$\% \text{ Süpürme Aktivitesi} = (\text{V}_0 - \text{V}_1) / \text{V}_0 * 100 \text{ olarak hesaplanır.}$$

V₀=Örnek yokken kontrol için harcanan H₂O₂ miktarı;

V₁=Örnek varken harcanan H₂O₂ miktarı

3.2.2.6. Metal şelatlama aktivite tayin yöntemi

Metal şelatlama aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının [103] yöntemine göre belirlendi. Metod Fe^{2+} iyonlarını bağlamak için çok güçlü bir demir şelatlayıcısı olan ferrozin reaktif bileşiği ile ortamda bulunan diğer metal bağlayıcı bileşiklerin yarışması esasına dayanır. Şelatlama gücü yüksekse kırmızı renkli Fe^{2+} /ferrozin kompleksinin oluşumu engellenir. Ölçüm solüsyonu, 20 μ L çeşitli derişimlerde hazırlanmış örnek veya standartlar + 380 μ L saf su veya etanole (örneğin çözücüsüne göre) 50 μ L 2 mM $FeCl_2$ eklenip 1 dk. vortekslenildi. Sonra 200 μ L 5 mM ferrozin ve 3,35 mL etanol eklenerek 10 dk. inkübe edildi. 562 nm Dalga boyunda spektrofotometrede etanole karşı ölçüm alındı. Standart olarak EDTA, BHT ve askorbik asit kullanıldı. Sonuçlar ferrozin- Fe^{+2} kompleksinin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar standartlarla birlikte gösterildi.

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = [1 - (562 \text{ nmde Örnek Absorbansı} / 562 \text{ nmde Kontrol Absorbansı})] * 100$$

3.2.2.7. Protein oksidasyonunun inhibisyonu tayin yöntemi

Bitki ekstraktının protein oksidasyonuna etkisinin belirlenmesinde Wang metodu esas alındı [104, 105]. Bu metotta pozitif kontrol olarak BHT kullanıldı. Negatif kontrol olarak pozitif kontrol ve ekstrakt içermeyen test örneği kullanıldı. Bitki ekstraktının ve pozitif kontrolün 100, 250, 500, 750 ve 1000 μ g/mL'lik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Deney tüpüne sırasıyla 800 μ L 20 mM pH=7,4 potasyum fosfat tamponu veya ekstrakt konuldu, üzerine 4 mg/mL 'lik konsantrasyonda 400 μ L BSA, 50 μ M 400 μ L $FeCl_3$, 1 mM 400 μ L H_2O_2 ve 100 μ M 400 μ L askorbik asit ilave edildi. Toplam hacmi 2,4 mL olan karışım daha sonra 37 $^{\circ}$ C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübe edilen karışımdaki örneklerin protein karbonil bileşenini belirlemek için karışıma 2 M HCl'deki 10 mM 2,4-dinitrofenilhidrazinin (DNPH) 2 mL'si ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Bu süre sonunda karışıma % 10'luk soğuk TCA'ten 2 mL ilave edildi ve karışım 15 dakika buz banyosunda bekletildi. Bu sürenin sonunda karışım 3000 rpm'de 10 dakika boyunca santifüjlenmiştir. Santifüj sonunda oluşan protein

pelleti etanol/etil asetat (1:1) karışımının 2 mL'si ile 3 defa yıkanmış ve pellet guanidin hidrokloridin (6 M, pH=2,3) 2 mL'si ile çözüldü. Bu işlemin sonunda UV'de 370 nm'de absorbans ölçüldü.

Sonuç olarak artan ekstrakt konsantrasyonuna karşı % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi. % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\%I = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

3.2.3. MTT yöntemi ile antiproliferatif aktivite ölçümü

3.2.3.1. LS174T, MDA-MB 231 ve SW-620 hücre hatları kullanılarak antiproliferatif aktivite ölçümü

MTT testi, tedaviden sonra yaşayabilen hücrelerin sayısının fotometrik olarak belirlenmesi sağlamaktadır. Prensip olarak canlı hücrelerin 3-(4,5 Dimetiltiyazol-2-il) 5-Difeniltetrazolium-Bromid (MTT) ile boyanmasına dayanır. Bu boya canlı hücreler tarafından alınarak formazan kristallerine metabolize edilir. Bu oluşan mor renkli kristaller asidik izopropanol ile çözülürler ve yaşayabilen hücrelerin sayısının fotometrik olarak belirlenir.

Kısa Protokol:

- ❖ Uygun koşullarda çoğalmaya bırakılan yapışkan (adherent) hücreler flask yüzeyini %80 oranında kapladıkları zaman Tripsin-EDTA ile muamele edilerek hücre kültür kabının (flask) tabanından kaldırıldı. Tripsinizasyon olarak tanımlanan bu işlemde, hücre kültürü besi ortamı uzaklaştırılıp hücreler PBS ile (pH=7,4) yıkandı.
- ❖ Yıkama işleminden sonra, hücrelerin tam yüzeyini kaplayacak şekilde tripsin eklenerek 15-30 saniye bekletilmiş ve birkaç damla kalacak şekilde tripsin uzaklaştırıldı.
- ❖ Hücre tipine bağlı olarak 5 dakika inkübatörde bekletilerek hücrelerin yüzeyden kalkması sağlandı.
- ❖ İnkübasyondan sonra 10 mL besi ortamı (%10 FBS, 100 mg/mL streptomisin

ve 100 U/mL penisilin içeren RPMI-1640) eklenip hücrelerin tek tek ayrılması için birkaç kez pipetlendi.

- ❖ Hücre süspansiyonu 15 mL'lik falcon tüpüne transfer edilerek 1500 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra, hücreler 2 defa yıkanmış ve yeni besi ortamında süspansiyon haline getirildi.
- ❖ Daha sonra hemositometre yardımıyla hücre sayımı gerçekleştirildi.
- ❖ MTT deneyi için hücre sayısı, 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarının her bir kuyucuğunda 2×10^4 LS174T hücresi/mL olacak şekilde ayarlandı. Hücrelerin yapışması ve yeni ortama alışması için 37°C'de 24 saat inkübe edildiler.
- ❖ 24 saat inkübasyon süresi sonunda hücrelerin üzerine ekstrelerin sitotoksik etkilerini belirlemek üzere 8 mg/mL konsantrasyonunda ekstreler ilave edilip, 72 saat 37°C'de CO₂ inkübatöründe inkübe edildi.
- ❖ Bu deneylerin devamı olarak etkili ekstrelerin, etki aralığını belirleyebilmek amacıyla, 0,1; 1; 10; 100 ve 1000 µg/mL olmak üzere ekstrelerin farklı dozları uygulandı.

MTT çözeltisinin kültür ortamına uygulanması; 10 µL steril MTT-çözeltisi (5 mg/mL PBS'te hazırlanmış) 96- Well Platte'lere (Kuyucuk) pipetle yerleştirildi, 3 saat inkübatör'de bekletildi, bütün kuyucuklardaki vasatlar uzaklaştırıldı (adherent hücreler), 110 µL 0,04 N HCl içeren izopropanol bütün kuyucuklara pipete edildi, kuyucuklardaki çözelti çekilip bırakılarak formazan kristallerinin çözünmesi sağlandı ve Elisa Platten Reader'da 570 nm 'de absorbans ölçüldü aynı işlemler 48 ve 72 saat sonrada tekrarlandı. Tedavi edilmeyen kuyucuklardaki hücreler referans değeri olarak (tedavi edilmeyen Kontrol) belirlendi. Testler üçer tekrarlı yapıldı ve grafikler standart sapma çubukları ile verildi [106, 107].



Şekil 3.2. Hücre Kültürü laboratuvarından bir görünüm

3.2.4. Hayvan deneyleri

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Etik Kurulu'nun 2014/A-35 Protokol No'lu etik kurulu raporunda belirtilen izinle gerçekleştirildi.

3.2.4.1. Hayvanların temini ve grupların oluşturulması

Bu çalışmada kullanılan *Wistar albino* tipi dişi ratlar İnönü Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı, Deney Hayvanları Üretim Merkezi' (İNÜDEHÜM) den alındı. Deney boyunca, havalandırması ve güneş ışığı olan odalarda her gün altları temizlenen deney kafesleri içerisinde tutuldu. Yeterli miktarda standart pellet yem ile 30 gün boyunca beslenmiştir. Her grupta 8 adet ($n = 8$) hayvan olmak üzere 5 grup oluşturuldu. Ratlara verilen DMBA dozlarında ve uygulama sürelerinde banerjee ve arkadaşlarının [12,13] çalışması esas alındı. Ratlara verilen *A. tuncelianum* ve vitamin E dozlarında ise Fırat'ın [26] çalışması esas alındı.

3.2.4.2. Hayvanların beslenmesi ve ekstraktların uygulanması

1. Grup: K Grubu; kontrol grubudur. Tablo 3.1' de besin içeriği verilen standart diyetle beslendi.
2. Grup: D Grubu; Standart diyetle beslenip oksidatif stres oluşturmaları için 7,12-DMBA, 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0,5 mL enjekte edildi.
3. Grup: DA-1 Grubu; 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0,5 mL enjekte edilen 7,12-DMBA' ya ilaveten, uygulama dozu 250 mg/kg vücut ağırlığı dozunda olacak şekilde *A. tuncelianum* süpernatantından 1 mL ratlara ağızdan orogastrik yöntemiyle bir ay boyunca hergün verildi.
4. Grup: DA-2 Grubu; 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0,5 mL enjekte edilen 7,12-DMBA' ya ilaveten uygulama dozu 500 mg/kg vücut ağırlığı dozunda olacak şekilde *A. tuncelianum* süpernatantından 1 mL ratlara ağızdan orogastrik yöntemiyle bir ay boyunca hergün verildi.
5. Grup: DE Grubu; 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0,5 mL enjekte edilen 7,12-DMBA' ya ilaveten standart bir antioksidan olan E vitamini, uygulama dozu 200 mg/kg vücut ağırlığı dozunda olacak şekilde bir ay boyunca haftada iki kez ağızdan orogastrik yöntemiyle verildi [26].

Yemler, özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi.

Tablo 3.1. Deney Hayvanları Besin İçeriği

Yem maddeleri	Yüzdesi (%)
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
E-Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12 Vitaminleri ile nikotinamit, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

3.2.4.3. Hayvanların Kesimi ve Gerekli Dokuların Alınması

Hayvanlar(*Wistar albino* tipi dişi ratlar) 30 gün İnönü Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı, Deney Hayvanları Üretim Merkezi' (İNÜDEHÜM) çalışanları tarafından beslenip, 100 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketamidor-Richte Pharma) ve 5 mg/kg ksilazine(Rompun-Bayer) olacak şekilde imorital yoldan verilerek kanları ana arterden alındı, vakumlu tüplere aktarıldı ve aynı gün kan lipid düzeylerine bakılmak üzere +4 °C'de saklandı. Hayvanların dokuları, cerrahi tekniklerle alındı ve izotonik sodyum klorür (% 0,9 NaCl) ile perfüze edilip temizlenerek iki kısma ayrıldı. Birinci kısım enzim aktivite tayini için, ikinci kısım ise lipid peroksidasyonunu belirlemek için homojenize edildi.

3.2.4.4. Dokuların Homojenizasyonu

Enzim aktivitesi yapılacak dokunun homojenizasyonunda, öncelikle doku tartıldı ve 1/20 (w/v) oranında PBS tamponu (pH 7,4) eklenerek buz izolasyonu altında IKA-Werke T25 homojenizatörü ile tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar, sonifikatörde (VWR Branson

scientific) 30 saniyelik aralıklarla 4 defa 30 saniye sonifiye edildi ve 10,000 g' de +4 °C' de 10 dakika Nüve NF 800R mikrosantrifüj aletiyle santrifüj işlemi yapıldı ve böylece enzim aktiviteleri ve protein tayininin yapılacağı süpernatant elde edildi. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapılncaya kadar -70 °C'de derin dondurucuda saklandı. Lipit peroksidasyonunu belirleyeceğimiz dokunun homojenizasyonu ise PBS tamponu (pH 7,4) ile 1/10 (w/v) oranında eklenerek hazırlandı deneyler yapıldı.

3.2.5. Antioksidan enzim aktivitesi analizleri

3.2.5.1. Katalaz enzim aktivitesi analiz yöntemi

Katalaz enziminin aktivite tayini Luck H. [108] yöntemine göre yapıldı.

Gerekli çözeltiler:

-1/15 M konsantrasyonda Na, K-fosfat tamponu (Na_2HPO_4 - KH_2PO_4) pH: 7

-Derişik H_2O_2 çözeltisi

Katalaz ölçümünde kullanılmak üzere spektrofotometrede 240 nm'de absorbans 0,7-0,9 oluncaya kadar Na-K-fosfat tampon çözeltisine derişik (% 35'lik) H_2O_2 ilave edildi. Numunelerin katalaz içeriğini belirlemek için hazırlanan bu karışımdan 1000 μL alınıp küvete kondu ve üzerine çalışma aralığına bağılı olarak 30 μL başlayarak gittikçe artan konsantrasyonlarda süpernatant eklendi ve bir kez karıştırılıp Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 30 sn. süreyle H_2O_2 'nin ($\epsilon = 0,0396 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$) absorbans değışimi okundu. Okunan bu optik dansite farkından mL'deki enzim ünite sayısı hesaplandı.

3.2.5.2. Glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi analiz yöntemi

GSH-Px enziminin aktivite tayini için Lawrance R.A, Burk R.F [109] yöntemi kullanıldı. Gerekli çözeltiler:

Tampon Çözelti: 50 mM KH_2PO_4 + K_2HPO_4 + 5 mM EDTA içeren pH:7 olan çözelti tampon çözelti olarak kullanıldı.

NaN ₃ (Sodyum azit)	: 1 mM
Kümene ROOH	: 1,5 mM
NADPH	: 2 mM
GSH (Redükte glutatyon)	: 2 mM
GSSG Redüktaz	: 1,2 U/mL

Yukarıdaki derişimlerde hazırlanan çözeltilerle önce kör ardından da örnek deneyleri yapıldı. Kör için 1 mL tampon, 10 µL NADPH, 10 µL GSH, 10 µL NaN₃ ve 50 µL GSSG redüktaz çözeltileri spektrofotometre küvetine konuldu. 37 °C de 5 dk süre ile inkübasyona tabii tutulan çözelti karışımına 20 µL Kümene ROOH ilave edildi ve Shimadzu UV-1601-UV visible spektrofotometrede 340 nm deki absorbans değişimi 3 dk takip edildi. Numune deneyleri için belirli miktarlarda süpernatan ilave ettikten sonra 37 °C de 5 dk süre ile inkübasyona tabii tutulup kör denemede olduğu gibi 340 nm deki absorbans değişimi okunarak enzim aktivitesi mg protein başına ünite olarak aşağıdaki formülle hesaplandı. GSH-Px aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

$$(C= \Delta OD/6220/mL \text{ örnek} \quad \Delta OD: \text{Optik Dansite Farkı})$$

3.2.5.3. Süper Oksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Analiz Yöntemi

SOD enziminin aktivite tayini McCord ve Fridovich I [110] yöntemine göre yapıldı olup yöntemin esası ksantin/ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom-c'yi indirgemesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanır. Süperoksit dismutaz çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit (O₂⁻) radikalının H₂O₂ dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. SOD enzim aktivitesi ksantin/ksantin oksidaz (XO) sistemi ile üretilen O₂⁻ radikallerinin sitokrom c'yi okside etmesi sonucu oluşan renk değişiminin inhibisyonu 550 nm'de takip edilerek belirlendi. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak SOD tarafından reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi. Bu reaksiyonu % 50 inhibe eden örneklerdeki SOD miktarı 1 Ünite (U) olarak kabul edildi ve sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = ((OD_{\text{kör}} - OD_{\text{örnek}}) / OD_{\text{kör}}) \times 100$$

3.2.6. Total glutasyon ölçümü

5-tio-2-nitrobenzoat (TNB) oluşumu, 412 nm' de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ekstrakt içindeki GSH miktarı, ticari bir GSH standart olarak kullanılarak, nmol/mg protein cinsinden belirlendi [111].

Gerekli çözeltiler: Fosfat tampon (pH:7), Tampon çözelti (DTNB 1,5 mg/mL), NADPH 4 mg/mL (tamponda hazırlanır), GSH- Redüktaz (6 Unit/mL)

- 1) Spektrofotometre küvetine 1 mL tampon çözeltisi eklenmiştir.
- 2) 30 µL örnek ilave edildi.
- 3) 50 µL NADPH
- 4) 20 µL DTNB
- 5) 20 µL GSH - Redüktaz
- 6) Daha sonra Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 412 nm deki absorbans değişimi (5. dk.) okundu.
- 7) Enzim aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

3.2.7. Protein tayini

Protein tayini Bradford [112] yöntemine göre yapıldı. Standart protein olarak bovin serum albumin (BSA) kullanıldı. BSA'dan 1 mg tartıp 1 mL' de çözülmüş ve bu çözelti de 1000, 500, 400, 300, 200, 100, 75, 50, 25 ve 10 mg/mL olacak şekilde çeşitli derişimlerde çözeltileri hazırlandı. 20 Kat seyreltilmiş örnek ve standarttan 25 µL (üçer tekrarlı olacak şekilde) mikropetele yerleştirildi. Üzerine 200 µL Bradford çözeltisi eklendi. 595 nm'de okuma yapıldı. Standartlardan elde edilen verilerle standart grafiği çizilmiş ve bu grafikten elde edilen formülden örnekteki protein değeri hesaplandı.

3.2.8. Lipit peroksidasyon ölçümü

Serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipitlerin peroksidasyonu, son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı Beuge [113] yöntemine göre modifiye edilerek belirlendi. Yöntem; 10 mL'lik santrifüj tüpleri

alınmış ve bütün tüplere 1,5 mL TCA çözeltisi konuldu. Kör tüpleri hariç tutularak örnek tüplerine 0,5 mL homojenat konuldu. Kaynar suda (95-100 °C de) 60 dk. bekletildi. Üzerindeki süpernatant alınıp üzerine 1 mL TBA eklenmiştir. Kaynar suda (95-100 °C “de) 60 dk bekletildi. Daha sonra tüpler soğutuldu ve 3500 rpm’ de 10 dk santrifüj edildi. Üzerindeki süpernatant alınıp üzerine 1 mL n-Bütanol eklenip vortekslendi. 30 dk. sonra üzerindeki organik faz alınıp Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometresinde 550 nm’deki MDA-TBA kompleksinin (ϵ : $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) absorbansı okunarak malondialdehit miktarı hesaplandı.

İstatiksel Değerlendirme

Çalışma bulgularının istatistiksel analizinde *GraphPad Prism 5.01* programı kullanıldı. Verilerin kıyaslaması One Way ANOVA Tukey testi kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar; grup ortalamaları $\pm$ standart sapma olarak verildi. Grafiklerde gruplar birbirleri ile karşılaştırılırken istatistiksel anlamlılık ($P < 0,05$) olarak kabul edildi. Eğer gruplar kendi aralarında ve kontrol grubuyla karşılaştırılıyor ise istatistiksel anlamlılık ($P < 0,05$); a, b, c, vb. harfleri ile gösterildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. *Allium tuncelianum*'un Biyoaktif Bileşen Analizi

4.1.1. *Allium tuncelianum*'un ICP-OES ile eser element analizi sonuçları

Çalışmamızda; Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Se, Zn, Cd, Co, Cr ve Pb olmak üzere 14 elementin analizi yapıldı. Sonuçlar tablo 4.1' de verildi.

Tablo 4.1. *A. tuncelianum* eser element analizi sonuçları

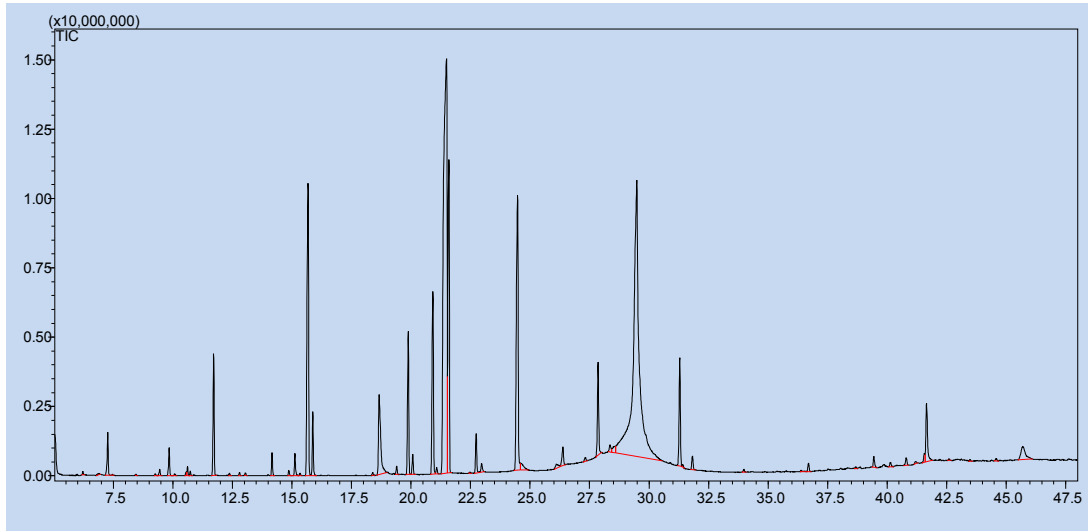
Eser Element	mg/kg (ppm)
Ca	518,1±35,14
Cu	0,54±0,04
Fe	15,9±1,32
K	4207±67,77
Mg	376,5±20,83
Mn	2,48±0,17
Na)	119,7±19,64
Ni	0,33±0,04
Se	1,03±0,38
Zn	9,24±0,19

Tablo 4.1'e göre; *A. tuncelianum*'un mineral bileşenlerin büyükten küçüğe doğru sıralaması mg/kg (ppm) olarak; K (4207±67,77), Ca (518,1±35,14), Mg (376,5±20,83), Na (119,7±19,64), Fe (15,9±1,32), Zn (9,24±0,19), Mn (2,48±0,17), Se (1,03±0,38), Cu (0,54±0,04)

ve Ni (0,33±0,04) şeklindedir. Cd, Co, Cr ve Pb değerleri 0,5 ppm'in altında kaldığı için verilmedi.

4.1.2. *Allium tuncelium*'un uçucu yağ bileşenlerinin GC-MS analiz sonuçları

A. tuncelium'da uçucu yağ bileşenlerinin GC-MS kromotogramı şekil 4.1' de, tayin sonuçları tablo 4.2' de verildi.



Şekil 4.1. *A. tuncelianum* uçucu yağ bileşenleri GC-MS tayini kromatogramı

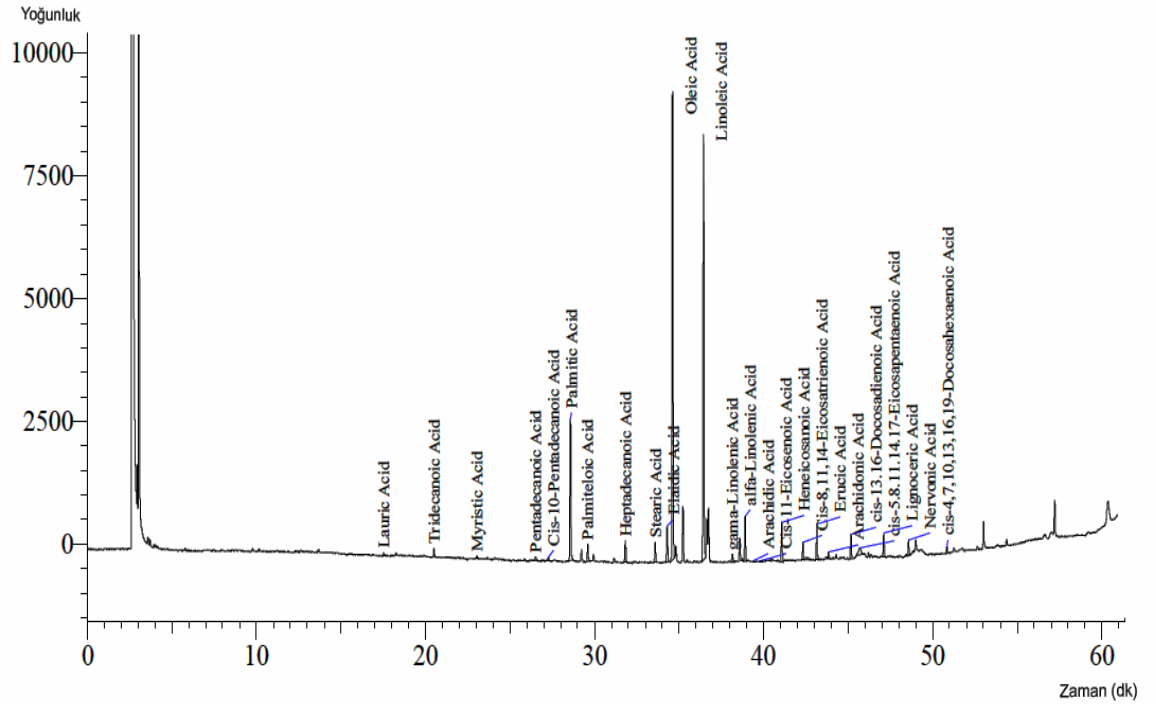
Tablo 4.2. *A. tuncelianum* uçucu yağ bileşenleri GC-MS tayini sonuçları

Molekül Adı	Molekül Formülü	Alıkonma Zamanı (RT)	% Alanı
Allil metil sülfid (AMS)	C_4H_8S	7,25	0,71
1-metiltiyo-1-propen	C_4H_8S	7,26	0,77
Dimetil disülfid (DMDS)	$C_2H_6S_2$	9,83	0,45
Diallil sülfid (DAS)	$C_6H_{10}S$	11,69	2,12
2,3-dimerkaptan	$C_2H_6S_2$	14,16	0,38
Metil-trans-propenil-disülfid (MPeDS)	$C_4H_8S_2$	15,11	0,39
Allil metil sülfid	C_4H_8S	15,64	8,66
Dimetil trisülfid	$C_2H_6S_3$	19,32	3,72
Trans-propenil propil disülfid	$C_6H_{12}S_2$	19,86	2,87
Propanoik asit	$C_5H_{10}O_2S$	21,07	0,10
Diallil disülfid (DADS)	$C_6H_{10}S_2$	21,43	28,30
Propil disülfid (PeDS)	$C_6H_{14}S_2$	22,72	0,69
Allil metil trisülfid (AMTS)	$C_4H_8S_3$	24,45	9,44
Metil metil tiometil disülfid	$C_3H_8S_3$	26,37	0,47
İzobütil izotiyosiyanat	C_5H_9NS	27,85	2,37
Diallil trisülfid (DATS)	$C_6H_{10}S_3$	29,49	30,90
Metil (metil sülfenil) metil sülfid	$C_3H_8OS_2$	31,27	2,30
Metil 3-bütenoat	$C_5H_8O_2$	31,81	0,27
Fiton (Phytone)	C_3HF_7	36,39	0,03
Naftalen	$C_{11}H_{18}$	39,44	0,28
Kauren (Cembrene)	$C_{20}H_{38}$	40,80	0,17
Palmitik asit	$C_{16}H_{32}O_2$	41,17	0,39
Fitalik asit dietil ester	$C_{12}H_{14}O_4$	41,65	2,90
Linoleik asit metil ester	$C_{19}H_{34}O_2$	45,70	1,51

Tablo 4.2' de *A. tuncelianum* uçucu yağındaki temel bileşenler; DATS (%30,90), DADS (%28,30), AMTS (%9,44) ve allil metil sülfid (%8,66) olarak tespit edildi.

4.1.3 *Allium tuncelianum* yağ asidi metil esterlerinin GC-FID ile analizi

A. tuncelianum yağ asidi metil esterlerinin GC-FID kromatogramı şekil 4.2' de, tayin sonuçları tablo 4.3' te verildi.



Şekil 4.2. *A. tuncelianum* yağ asidi metil esterlerinin GC-FID tayini kromatogramı

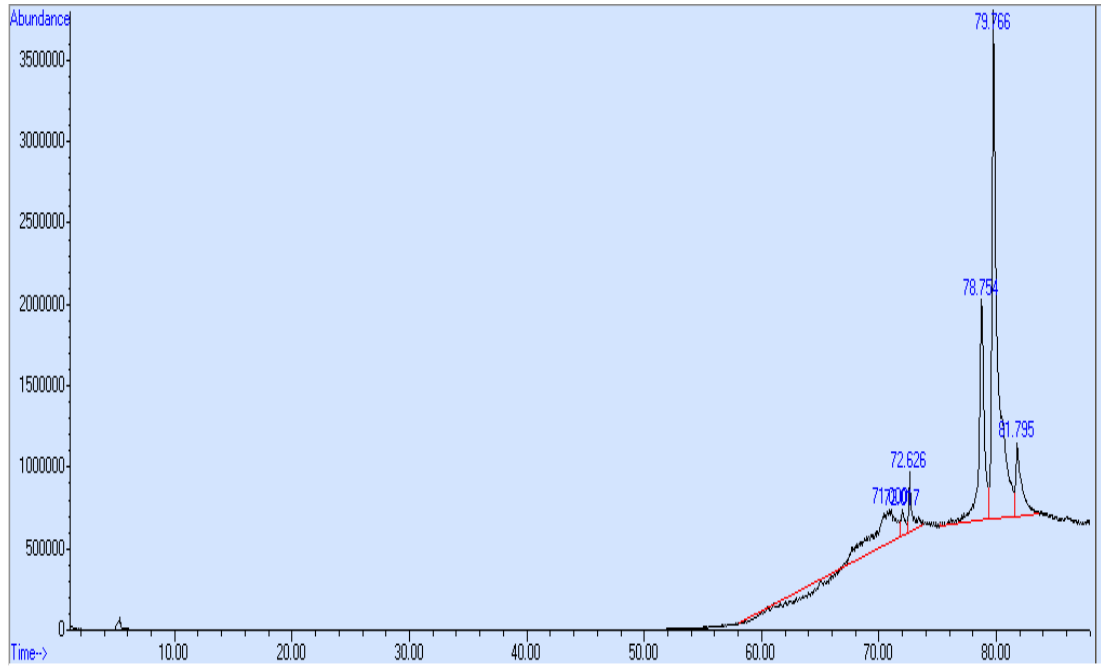
Tablo 4.3. *A. tuncelianum* yağ asidi metil esterlerinin GC-FID tayini sonuçları

Molekül Adı	%Alanı
Laurik Asit (12:0)	0,56±0,02
Miristik Asit (14:0)	0,59±0,04
Pentadekanoik Asit (15:0)	0,13±0,01
Cis-10-Pentadekanoik Asit (15:1)	4,70±0,11
Palmitik Asit (16:0)	6,31±0,18
Palmiteloik Asit (16:1)	1,23±0,03
Heptadekanoik Asit (17:0)	0,08±0,01
Cis-10-Heptadekanoik Asit (17:1)	0,98±0,07
Stearik Asit (18:0)	3,12±0,09
Elaidik Asit (18:1)	7,13±0,19
Oleik Asit (18:1)	27,19±1,17
Linoleik Asit (18:2)	19,46±1,09
gama-Linolenik Asit (GLA) (18:3)	0,21±0,03
alfa-Linolenik Asit (ALA) (18:3)	3,35±0,08
Araşidik Asit (20:0)	4,68±0,14
Cis-11-Eikosanoik Asit (20:1)	0,51±0,02
Heneikosanoik Asit (20:0)	3,00±0,16
Cis-11,14-Eikosadienoik Asit (20:2)	0,63±0,09
Cis-8,11,14-Eikosatrienoik Asit (20:3)	0,27±0,02
Behenik Asit (22:0)	0,27±0,01
cis-11,14,17-Eikosatrienoik Asit (20:3)	0,76±0,03
Erusik Asit (22:1)	2,99±0,18
Araşidonik Asit (20:4)	0,68±0,31
Trikosanoik Asit (23:0)	1,26±0,15
cis-13.16-Dokosadienoik Asit (DHA) (22:2)	2,19±0,13
cis-5.8.11,14.17-Eikosapentaenoik Asit (EPA) (20:5)	0,12±0,07

Tablo 4.3' te görüldüğü gibi, *A. tuncelianum* 'un temel yağ asit bileşenleri; oleik asit (%27,19±1,17), linoleik asit (%19,46±1,09), elaidik asit (%7,13±0,19) ve palmitik asit (%6,31±0,18) olarak tespit edildi. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalamasıdır.

4.1.4. *Allium tuncelianum* sulu etanol ekstraktının etanol çözgenindeki GC-MS tayini sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *A. tuncelianum* ekstraktının 100 mg/mL ' lik derişiminin, çözücüsü uzaklaştırılarak etanolde tekrar çözdürölüp hazırlanan çözeltisinin GC-MS kromotogramı şekil 4.3' te, tayin sonuçları tablo 4.4' te verildi.



Şekil 4.3. *A.tuncelianum* sulu etanol ekstraktının etanol çözgenindeki GC-MS tayin kromatogramı

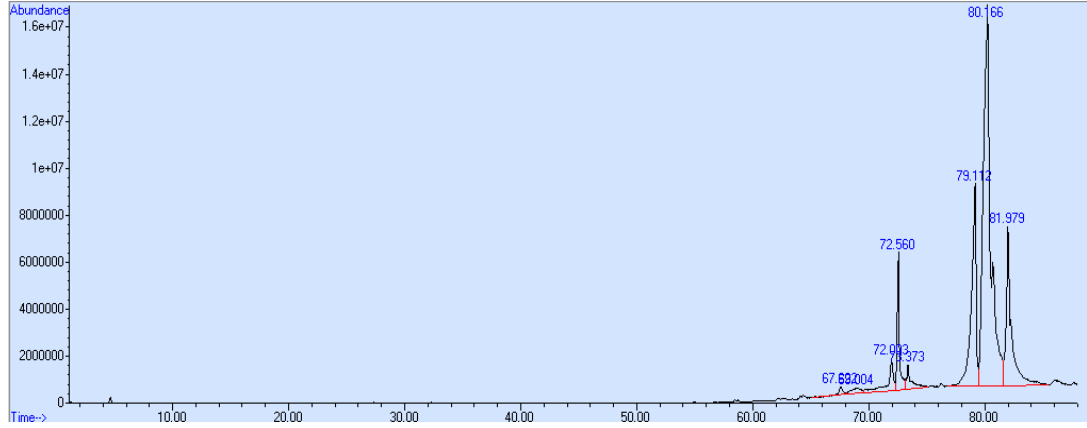
Tablo 4.4. *A.tuncelianum* sulu etanol ekstraktının etanol çözgenindeki GC-MS tayin sonuçları

Molekül Adı	Formülü	(RT)	%Alanı
Dodesil oktaetilen glikol eter	$C_{28}H_{58}O_9$	70,99	8,27±0,18
Trimetilsilil-3-metil-4-[(trimetilsilil)oksi] bütanoat (<i>Hidroksi valerik asit</i>)	$C_{11}H_{26}O_3Si_2$	72,01	1,92±0,04
1,4,7,10,13,16-Hekza oksa siklo okta dekan (<i>Etilen oksit siklik hekzamer</i>)	$C_{12}H_{24}O_6$	72,01	1,92±0,13
3-Hidroksi bütanoik asit	$C_4H_8O_3$	72.01	1,92±0,21
Etilen oksit heptamer	$C_{14}H_{30}O_8$	72,62	3,47±0,31
Olealdehit (<i>Linoleil alkol</i>)	$C_{18}H_{34}O$	78,75	23,18±0,99
9-Oktadesenoik asit (<i>Oleik asit</i>)	$C_{18}H_{34}O_2$	79,76	54,65±1,88
(Z,E)-7,11-hekzadekadien-1-il asetat (<i>Linoleik asit</i>)	$C_{18}H_{32}O_2$	81,79	16,02±0,65

Tablo 4.4' te görüldüğü gibi, *A. tuncelianum*'un sulu etanol ekstraktının etanolde çözünmüş temel bileşenleri oleik asit (% 54,65±1,88), linoleil alkol (% 23,18±0,99) ve linoleik asit (% 16,02±0,65) olarak tespit edildi.

4.1.5. *Allium tuncelianum* sulu etanol ekstraktının metanol çözgenindeki GC-MS tayini sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *A. tuncelianum* ekstraktının 100 mg/mL ' lik derişiminin, çözücüsü uzaklaştırılarak metanolde tekrar çözdürölüp hazırlanan çözeltisinin GC-MS kromotogramı Şekil 4.4' de ve analiz sonuçları tablo 4.5' te verildi.



Şekil 4.4. *A. tuncelianum* sulu etanol ekstraktının metanol çözenindeki GC-MS tayin kromatogramı

Tablo 4.5. *A. tuncelianum* sulu etanol ekstraktının metanol çözenindeki GC-MS tayin sonuçları

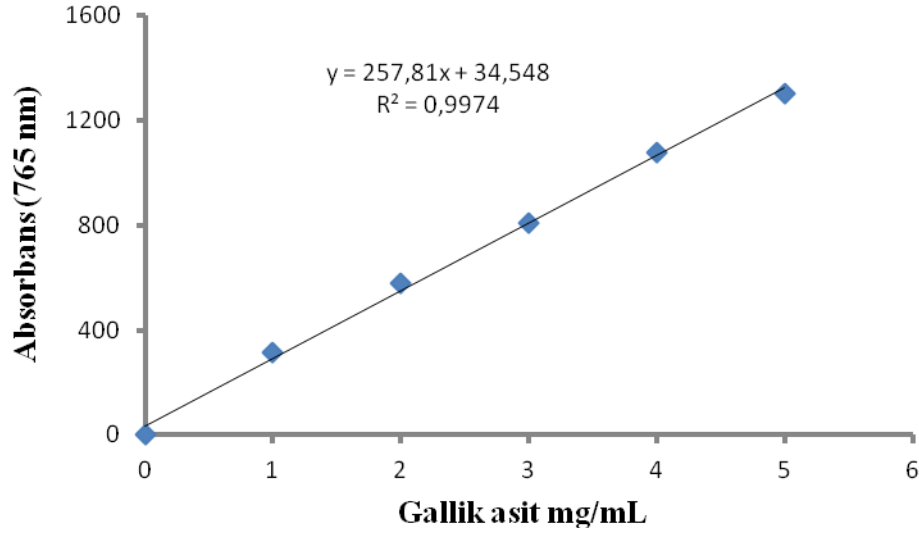
Molekül Adı	Formülü	(RT)	%Alanı
Etilenoksit heptamer	C ₁₄ H ₃₀ O ₈	67,62	0,66±0,08
18,18'-Bi(1,4,7,10,13,16-hekza oksa siklo nona dekan)	C ₂₆ H ₅₀ O ₁₂	69,0	1,07±0,11
Tridekan dioik asit (<i>Brasilik asit</i>)	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	72,0	3,35±0,15
n-Hekza dekanolik asit(<i>Palmitik asit</i>)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	72,56	5,29±0,22
n-Octadesil-siklohekzan (<i>Siklotetrakozan</i>)	C ₂₄ H ₄₈	73,37	2,12±0,09
(Z)-7-Hekzadesenolik asit (<i>palmitoleat</i>)	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	73,37	2,12±0,10
(Z)-9-Oktadesenal (<i>Linoleil alkol</i>)	C ₁₈ H ₃₄ O	79,11	18,53±0,26
9-Oktadesenolik asit (<i>Oleik asit</i>)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	80,16	53,40±1,67
9,12-Oktadekadienolik asit(<i>Linoleik asit</i>)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	81,97	15,59±0,83

Tablo 4.5' te görölldüğü gibi, *A. tuncelianum*'un sulu etanol ekstraktının metanolde çözünmüş temel bileşenleri ortalama oleik asit (% 53,40±1,67), linoleil

alkol (% 18,53±0,26) ve linoleik asit (% 15,59±0,83) olarak tespit edildi.

4.2. İn vitro Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.2.1. Toplam fenolik bileşik tayin sonuçları



Şekil 4.5. Toplam fenolik bileşik tayini için gallik asit standart grafiği.

Şekil 4.5'e göre 1 mg/mL 'lik *A. tuncelianum* ekstresinden alınan 40 µL' lik örneğin toplam fenolik bileşik miktarı: 27,727±0,99 mg gallik asit eşdeğeri'ne karşılık gelmektedir. Ekstraktan sarımsağa geçmek için bu sonucu seyreltme faktörleriyle çarptığımızda net sonuç; (1mg/mL *0,04ml= 0,04 mg)

27,727*1000mg/0,04mg=693,175 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ekstrakt

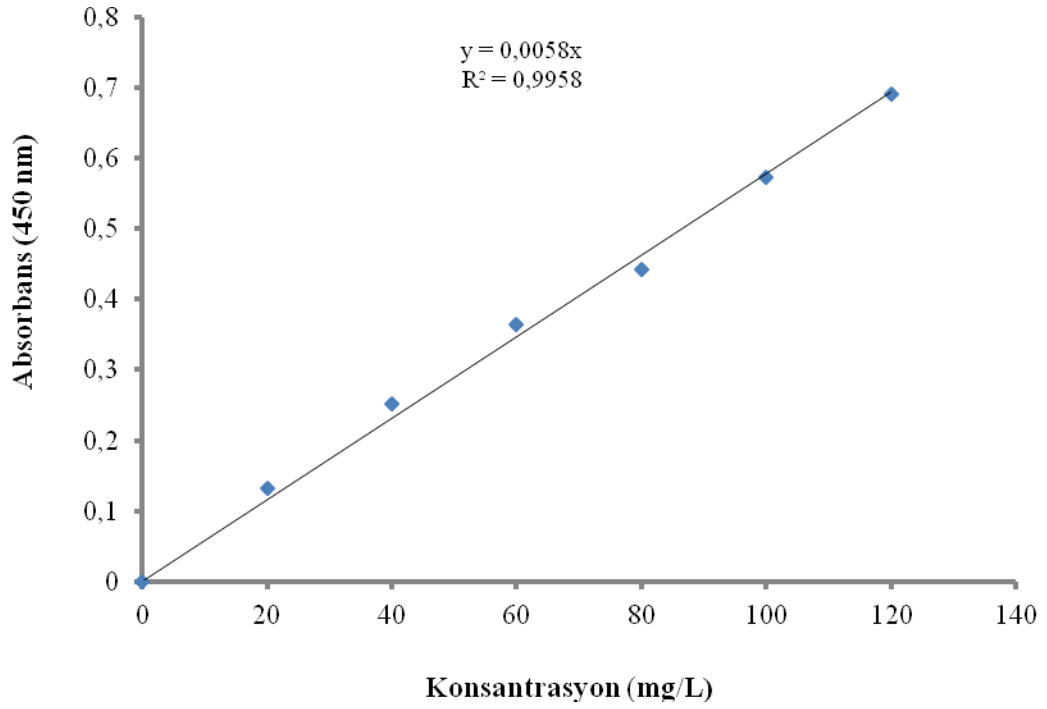
(693,175 mg GAE /g ekstrakt)*1,13 g ekstrakt/5,06 g yaş *A. tuncelianum*

= 154,79 mg GAE /g yaş *A. tuncelianum*

(154,79 mg GAE /g yaş *A. tuncelianum*)*100 g yaş *A. tuncelianum* /38,08 g kuru *A. tuncelianum*

=406,51±0,99 mg GAE / g kuru *A. tuncelianum* olarak bulundu.

4.2.2. CUPRAC yöntemi ile antioksidan kapasite sonuçları



Şekil 4.6. Cuprac yöntemi ile toplam antioksidan kapasite tayini için troloks standart grafiği.

Şekil 4.6'ya göre *A. tuncelianum*'un toplam fenolik bileşik miktarı: $0,77 \pm 0,001$ mmol Troloks eşdeğeri/g kuru *A. tuncelianum*'a karşılık gelmektedir ve aşağıdaki formülden hesaplandı.

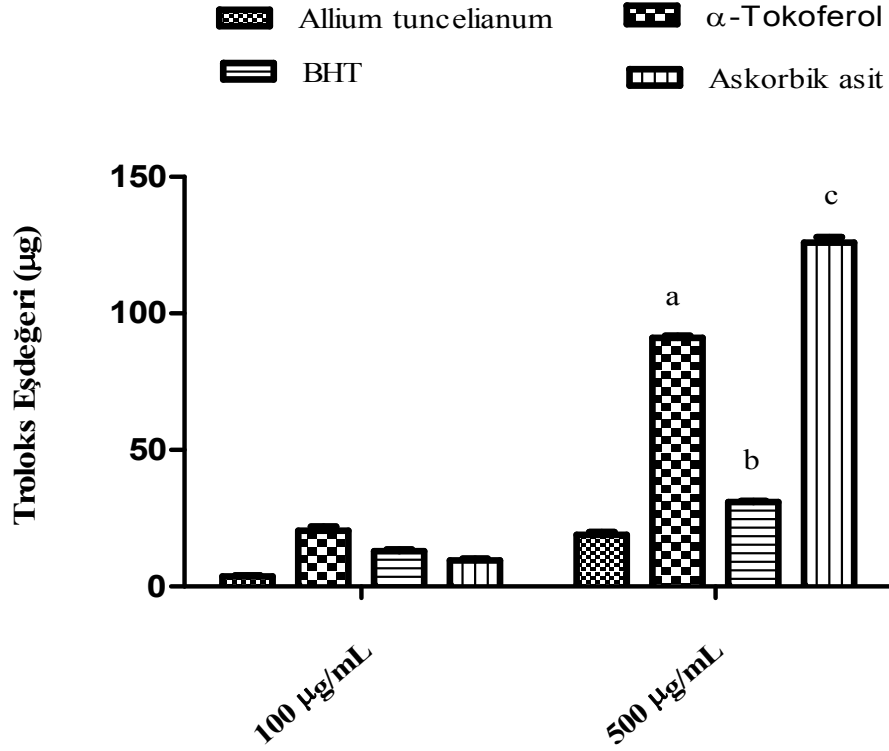
$$TAC_{\text{mmol/g}} = (\text{Absorbans} \pm \text{kayım} / \epsilon_{\text{TR}}) * (\text{toplam hacim} / \text{alınan örnek hacmi}) * \text{toplam} * \text{ekstre hacmi (mL)} / \text{sarımsak miktarı (g)} * \text{seyrelme oranı} * (\% \text{ yaş } A. tuncelianum / \text{kuru } A. tuncelianum) * 10^3$$

$$TAC_{\text{mmol/g}} = (0,5996 \pm 0,001 / 1,67 \times 10^4) * (4,1/0,2) * (10/1) * (1/25) * (100/38,08) * 1000$$

$$TAC_{\text{mmol/g}} = 0,77 \pm 0,01 \text{ mmol eşdeğeri /g kuru } A. tuncelianum$$

4.2.3. ABTS radikal giderme aktivitesi tayini sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının ve standart antioksidanların 100 ve 500 µg/mL' lik derişimlerinin ABTS radikal süpürme gücü µg troloks eşdeğeri olarak şekil 4.7' de verildi.



Şekil 4.7. *Allium tuncelianum*, α-tokoferol, BHT ve askorbik asit, ABTS radikal süpürme gücü grafiği.

Şekil 4.7' de 500 µg/mL' de; en yüksek aktiviteyi askorbik asit; 125,90±0,70 µg troloks eşdeğeri, sonra BHT; 91,11±0,45 µg troloks eşdeğeri, ondan sonra α-tokoferol; 30,95±0,11 µg troloks eşdeğeri, en son olarak *A. tuncelianum*; 18,95±0,32 µg troloks (0,89 mmol troloks eşdeğeri/g kuru *A. tuncelianum*) eşdeğeri olarak belirlendi. *A. tuncelianum*'la kıyaslandığında standart antioksidanlarda ki artış istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) olduğu tespit edildi. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

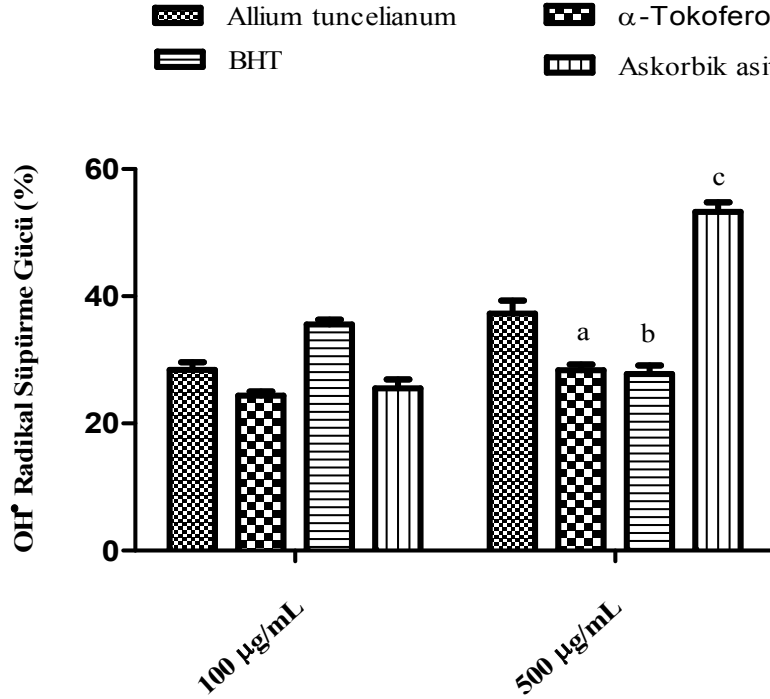
(a) *A. tuncelianum* vs α-tokoferol

(b) *A. tuncelianum* vs BHT

(c) *A. tuncelianum* vs askorbik asit

4.2.4. OH[•] radikal süpürme aktivitesi tayini sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının ve standart antioksidanların 100 ve 500 µg/mL' lik derişimlerinin % OH[•] radikal süpürme gücü şekil 4.8' de verildi.



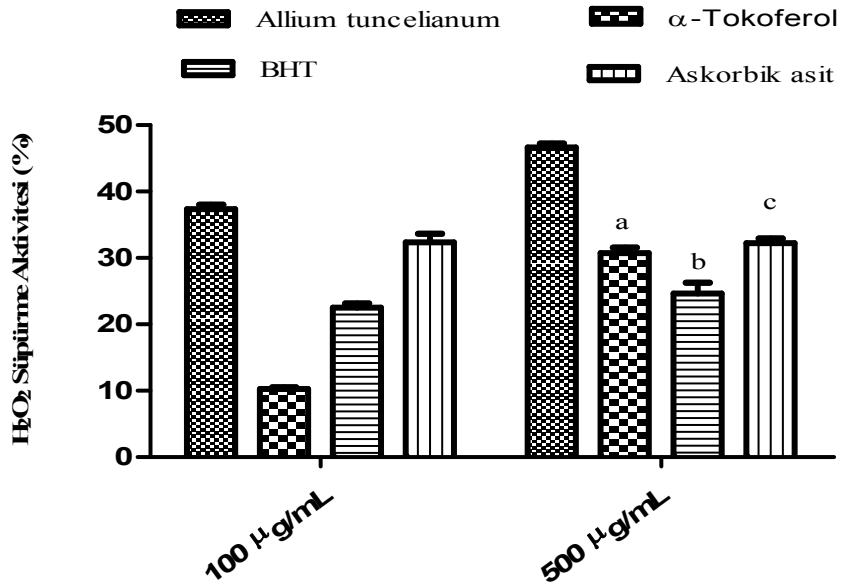
Şekil 4.8. *Allium tuncelianum*, α -tokoferol, BHT ve askorbik asit, OH[•] radikal süpürme gücü grafiği.

Şekil 4.8' de 500 µg/mL' de askorbik asit; %53,26±2,64'lük bir OH[•] radikal süpürme gücü, *A. tuncelianum*; %37,26±3,54'lük bir OH[•] radikal süpürme gücü, α -tokoferol; %28,36±1,60 ve BHT; %27,79±2,29'luk OH[•] radikal süpürme gücü gösterdi. *A. tuncelianum*'un α -tokoferol ve BHT standart antioksidalarına göre 500 µg/mL derişimde anlamlı artma ($P<0,05$) gözlemlendi. Ayrıca askorbik asitin hidroksil radikal süpürme gücü *A. Tuncelianum*'a kıyasla artışı istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) olduğu gözlemlendi. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

- (a) *A. tuncelianum* vs α -tokoferol
- (b) *A. tuncelianum* vs BHT
- (c) *A. tuncelianum* vs askorbik asit

4.2.5. H₂O₂ süpürme kapasitesi tayini sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının ve standart antioksidanların 100 ve 500 µg/mL' lik derişimlerinin % hidrojen peroksit süpürme aktivitesi şekil 4.9' da verildi.



Şekil 4.9. *Allium tuncelianum*, α-tokoferol, BHT ve askorbik asit, H₂O₂ süpürme kapasitesi grafiği.

Şekil 4.9 göre 500 µg/mL'de, H₂O₂ radikal süpürme aktivitesi sırasıyla *A. tuncelianum*; %46,66±0,96 sonra, askorbik asit; %32,21±1,22 daha sonra α-tokoferol; %30,72±1,44 ve 24,63±2,86 ile BHT gösterdi. Ayrıca *A. tuncelianum*'daki artış diğer tüm standart antioksidanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) bulundu. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

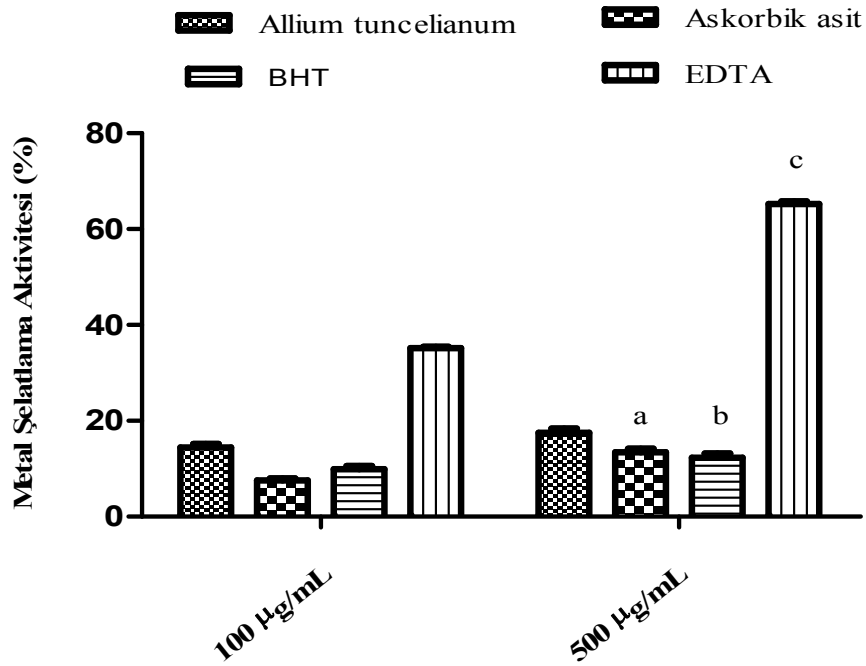
(a) *A. tuncelianum* vs α-tokoferol

(b) *A. tuncelianum* vs BHT

(c) *A. tuncelianum* vs askorbik asit

4.2.6. Metal şelatlama aktivitesi tayini sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının, standart antioksidanların ve EDTA'nın 100 ve 500 µg/mL' lik derişimlerinin metal şelatlama aktivitesi şekil 4.10' da verildi.



Şekil 4.10. *Allium tuncelianum*, BHT, askorbik asit ve EDTA metal şelatlama kapasitesi grafiği.

Şekil 4.10' a göre 500 µg/mL derişiminde metal şelatlama aktivitesi sırasıyla EDTA; % 65,22±0,97 sonra *Allium tuncelianum*; %17,50±1,51' daha sonra askorbik asit; % 13,41±1,31 ve BHT; % 12,35±1,45 olarak gösterdi. *Allium tuncelianum* ile kıyaslandığında askorbik asit ve BHT' deki azalma anlamlı ($P<0,05$) olarak bulunurken, EDTA' daki artış anlamlı ($P<0,05$) olarak kaydedildi. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

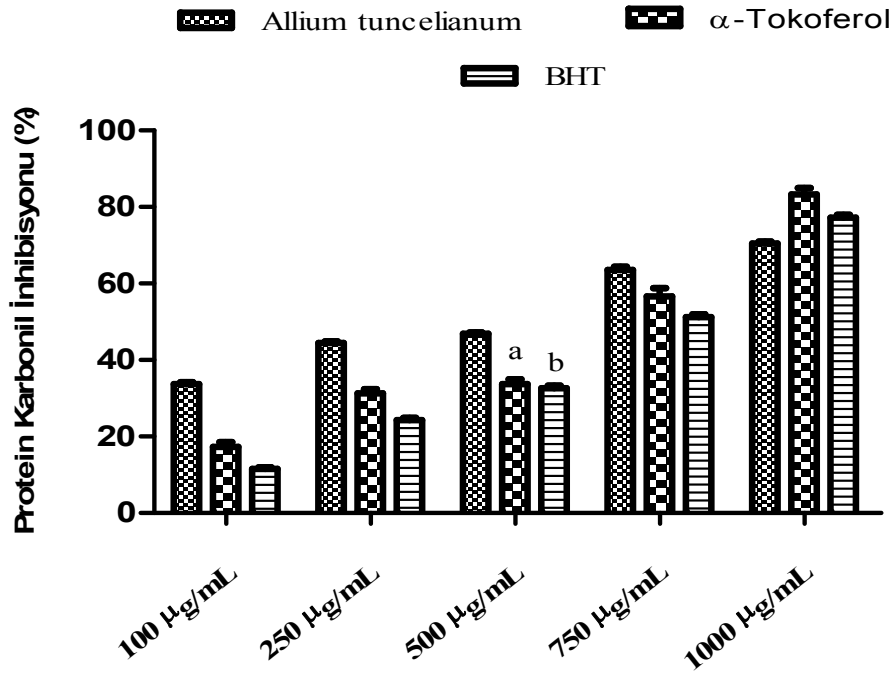
(a) *A. tuncelianum* vs askorbik asit

(b) *A. tuncelianum* vs BHT

(c) *A. tuncelianum* vs EDTA

4.2.7. Protein oksidasyonunun inhibisyonu tayini sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının, α -tokoferol ve BHT'nin 100-1000 $\mu\text{g/mL}$ ' lik derişimlerinin protein oksidasyonunun inhibisyonu % protein karbonil inhibisyon olarak şekil 4.11' de verildi.



Şekil 4.11. *Allium tuncelianum*, α - tokoferol ve BHT'in protein oksidasyonunun inhibisyonu grafiğı.

Şekil 4.11'e göre 500 $\mu\text{g/mL}$ ' de protein karbonil oluşumunun % inhibisyonu sırasıyla *Allium tuncelianum*; % $46,91 \pm 0,51$, sonra α -tokoferol; % $33,72 \pm 2,11$ ve BHT; % $32,59 \pm 1,25$ gösterdi. *Allium tuncelianum* ile kıyaslandığında α -tokoferol ve BHT' deki azalma anlamlı ($P < 0,05$) bulundu. Her veri üç bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

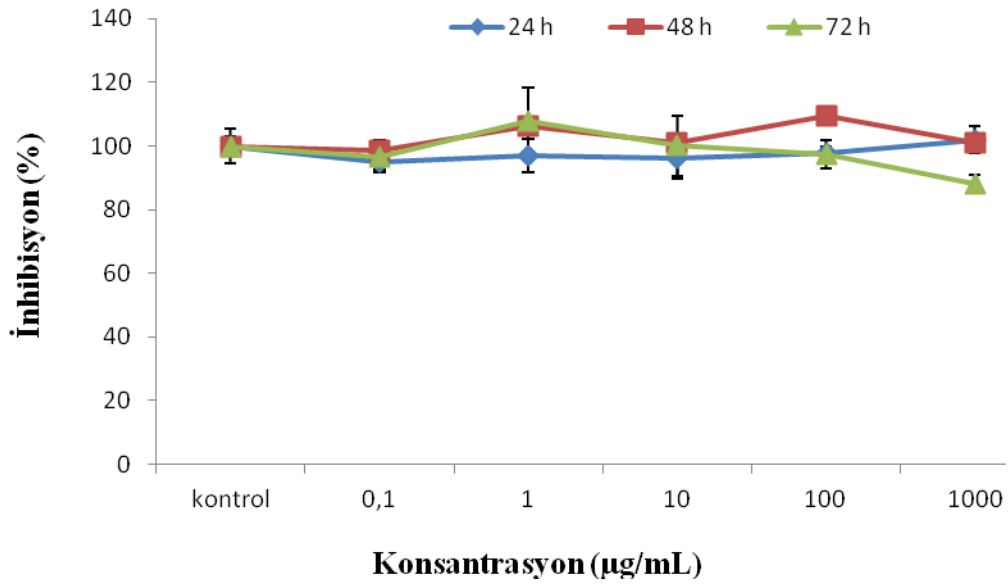
(a) *A. tuncelianum* vs α -tokoferol

(b) *A. tuncelianum* vs BHT

4.3. MTT yöntemi ile antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları

4.3.1. LS174T hücre hattı antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının 1-1000 µg/mL' lik derişimlerinin MTT yöntemi, LS174T hücre hattı üzerinde antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları % inhibisyon aktivitesi şekil 4.12' de verildi.

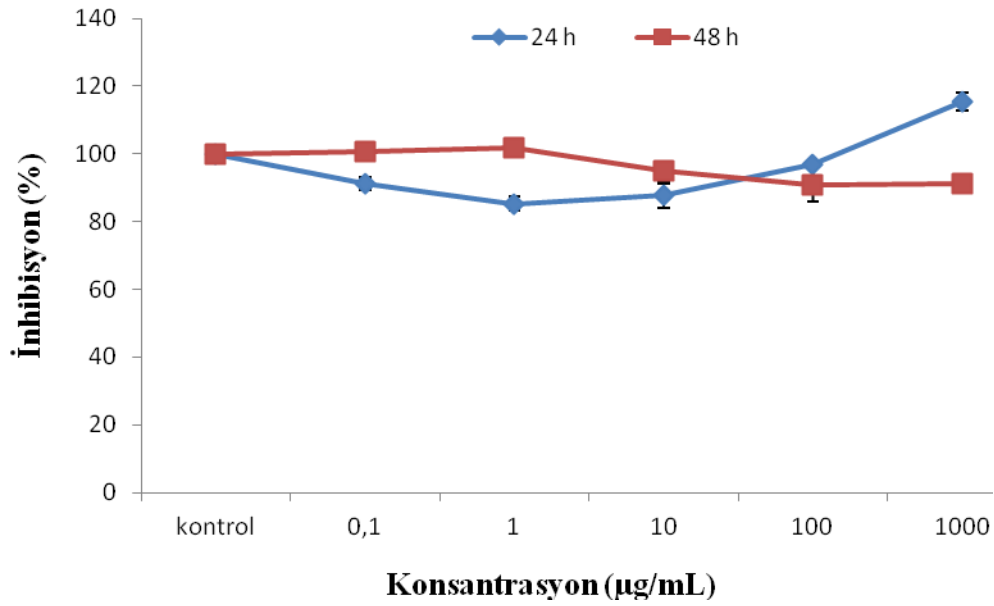


Şekil 4.12. LS174T hücre hattı, *Allium tuncelianum* ekstreleri için antiproliferatif aktivite grafiği.

Şekil 4.12' ye göre *Allium tuncelianum*'un yüksek derişimi (1000 µg/mL) verilen grupta 24. ve 48. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı azalma ($P>0,05$) gözlenmezken, 72. saatte % $11,95\pm2,75$ 'lik bir inhibisyon gerçekleşti. Bu sonuç kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı azalma ($P<0,05$) tespit edildi. Her veri sekiz bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

4.3.2. SW 620 hücre hattı antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının 1-1000 µg/mL' lik derişimlerinin MTT yöntemi ile SW 620 hücre hattı üzerinde antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları % inhibisyon aktivitesi şekil 4.13' te verildi.

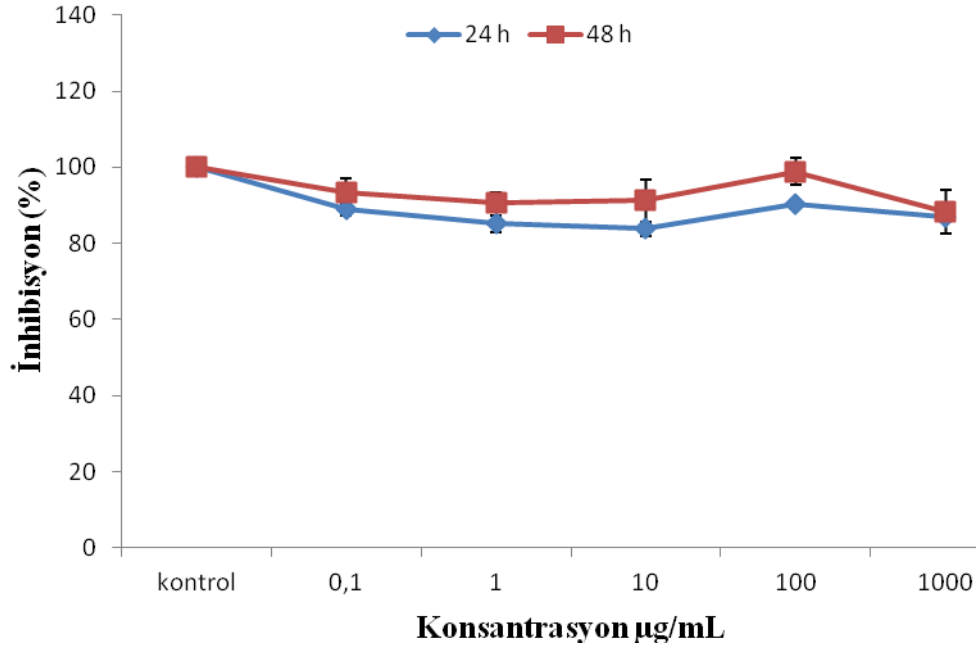


Şekil 4.13. SW 620 hücre hattı, *Allium tuncelianum* ekstreleri için antiproliferatif aktivite grafiğı.

Şekil 4.13'e göre *Allium tuncelianum*'un yüksek derişimi (1000 µg/mL) verilen grupta 24 saat sonra % $15,39 \pm 0,78$ 'lik bir artış oldu. Yani hücre proliferativesi arttı. Fakat 48 saat sonra % $8,97 \pm 0,42$ 'lik bir inhibisyon gözlemlendi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında % $8,97 \pm 0,42$ 'lik inhibisyon anlamlı azalma ($P < 0,05$) olarak tespit edildi. Her veri sekiz bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

4.3.3. MDA-MB 231 hücre hattı antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları

Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *Allium tuncelianum* ekstraktının 1-1000 µg/mL' lik derişimlerinin MTT yöntemi, MDA-MB 231 hücre hattı üzerinde antiproliferatif aktivite ölçümü sonuçları % inhibisyon aktivite olarak karşılaştırılması şekil 4.14' de verildi.



Şekil 4.14. MDA-MB 231 hücre hattı, *A. tuncelianum* ekstreleri için antiproliferatif aktivite grafiği.

Şekil 4.14'e göre *A. tuncelianum*'un yüksek derişimi (1000 µg/mL) verilen grupta 24. ve 48. saat sonunda % $12,97 \pm 0,12$ 'lik ve % $11,74 \pm 0,56$ 'lık bir inhibisyon oldu. Bu sonuç kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı azalma ($P < 0,05$) olarak tespit edildi. Her veri sekiz bağımsız tekrarın ortalaması olup, hata çubukları standart sapmaları ifade etmektedir.

4.4. Hayvan Deneyleri Sonuçları

4.4.1. Katalaz enzim aktivitesi sonuçları

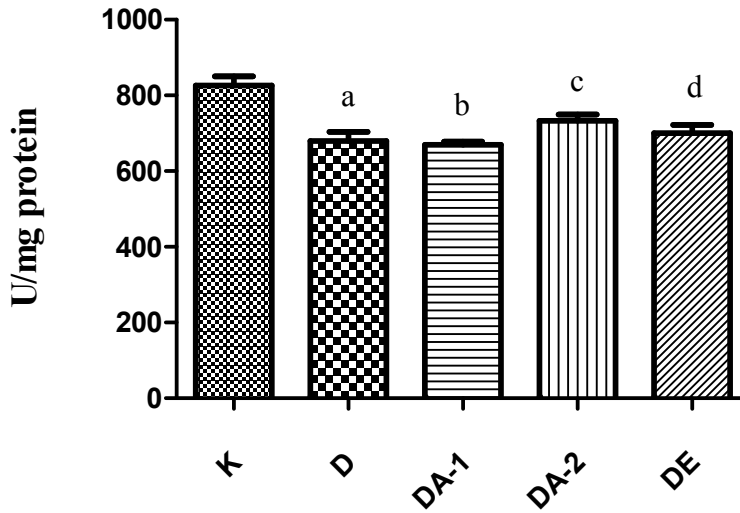
4.4.1.1. Karaciğer dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Ratların karaciğer katalaz enzim aktivitesi sonuçları tablo 4.6 ve şekil 4.15' te verildi.

Tablo 4.6. Rat karaciğer dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	825,89±49,1	709,00±67,3 ^a	665,70±16,70 ^b	732,53±28,61 ^c	700,60±47,44 ^d

(a) K vs D; (b) K vs DA-1; (c) K vs DA-2 ve (d) K vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.15. Rat karaciğer dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.

K: Kontrol Grubu

D: DMBA Grubu

DA-1:DMBA +250 mg/kg *A. tuncelianum* Grubu

DA-2: DMBA +500 mg/kg *A. tuncelianum* Grubu

DE: DMBA + E Vitamini Grubu

Karaciğer dokusu katalaz enzim aktivitesi tablo 4.6 ve şekil 4.15'e göre D grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ($P<0,05$) azalma, DA-1, DA-2 ve DE gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. Gruplar

arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi.

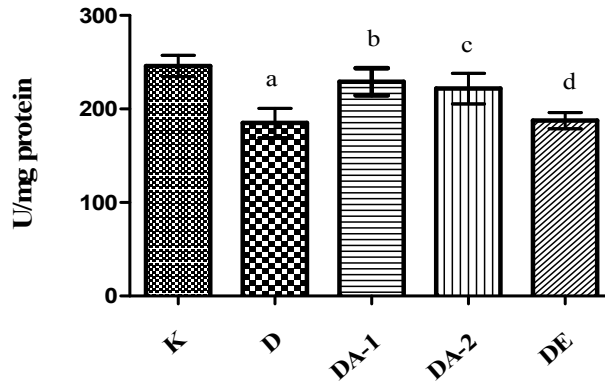
4.4.1.2. Böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Ratların böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi tablo 4.7 ve şekil 4.16' da verildi.

Tablo 4.7. Rat böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	245,97±11,29	185,03±5,67 ^a	229,14±14,56 ^b	221,78±16,32 ^c	187,55±8,69 ^d

(a) K vs D ; (b) D vs DA-1; (c) D vs DA-2; (d) K vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.16. Rat böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.

Böbrek dokusu katalaz enzim aktivitesi tablo 4.7 ve Şekil 4.16'ya göre D ve DE gruplarında, kontrol grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-1 ve DA-2 gruplarında D grubuyla kıyaslanınca, katalaz enzim aktivitesinde anlamlı artma ($P<0,05$) gözlemlendi.

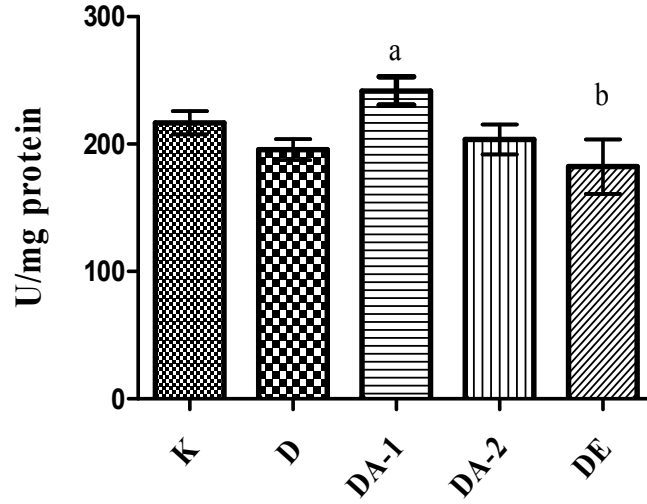
4.4.1.3. Bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Ratların bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi tablo 4.8 ve şekil 4.17' de verildi.

Tablo 4.8. Rat bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	216,73±9,13	195,71±8,24	241,69±11,18 ^a	203,68±11,77	182,39±21,31 ^b

(a) D vs DA-1; (b) K vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.17. Rat bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.

Bağırsak dokusu katalaz enzim aktivitesi tablo 4.8 ve Şekil 4.17' ye göre D grubunda, K grubuna göre azalma anlamlı değildir. DE grubunda K grubuna göre azalma anlamlıdır ($P<0,05$). DA-1 grubunda artma ise, DE grubuyla kıyaslanınca istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0,05$).

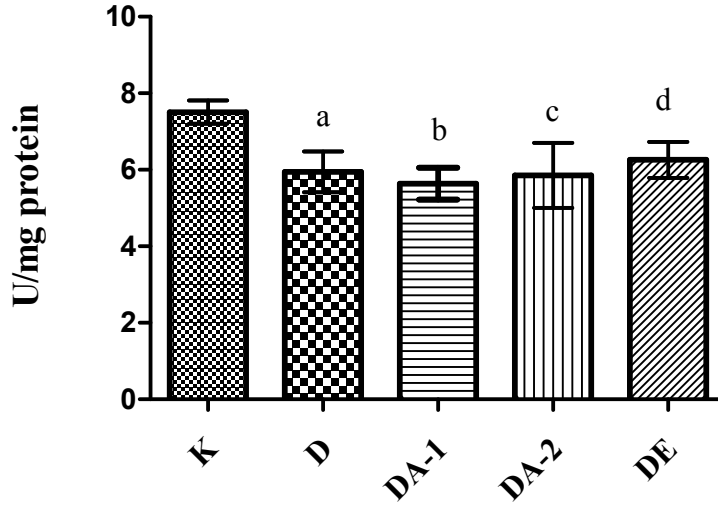
4.4.1.4. Kalp dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Ratların kalp dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları tablo 4.9 ve şekil 4.18' de verildi.

Tablo 4.9. Rat kalp dokusu katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	7,51±0,31	5,94±0,53 ^a	5,64±0,41 ^b	5,86±0,85 ^c	6,26±0,47 ^d

(a) K vs D; (b) K vs DA-1; (c) K vs DA-2 ve (d) K vs DE ($*P<0,05$)



Şekil 4.18. Rat kalp dokusu katalaz enzim aktivitesi grafiği.

Kalp dokusu katalaz enzimi aktivitesi tablo 4.9 ve Şekil 4.18'e göre D, DA-1, DA-2 ve DE grubunda K grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. Gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadı.

4.4.2. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları

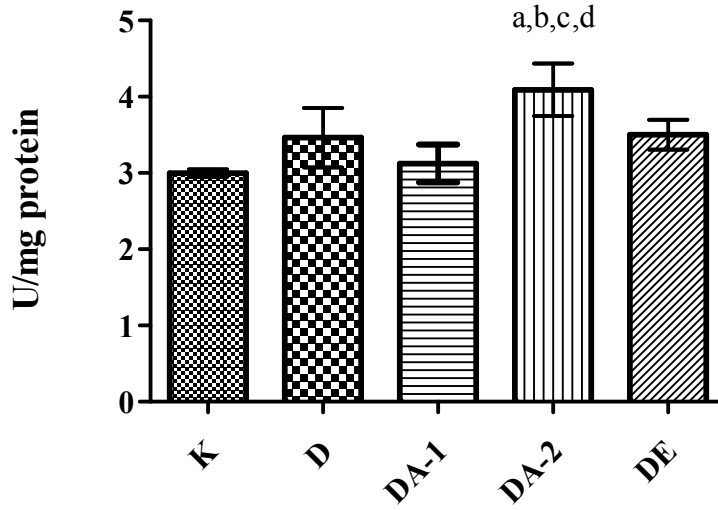
4.4.2.1. Karaciğer dokusu süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları

Ratların karaciğer dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları tablo 4.10 ve şekil 4.19'da verildi.

Tablo 4.10. Rat karaciğer dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	2,99±0,05	3,46±0,39	3,12±0,24	4,09±0,34 ^{abcd}	3,50±0,190

(a) K vs DA-2; (b) D vs DA-2; (c) DA-1 vs DA-2 ve (d) DE vs DA-2 ($P<0,05$)



Şekil 4.19. Rat karaciğer dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.

Karaciğer dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi tablo 4.10 ve şekil 4.19'a göre DA-2 grubunda K grubu başta olmak üzere D, DA-1 ve DE gruplarına göre anlamlı artış ($P<0,05$) gösterdi.

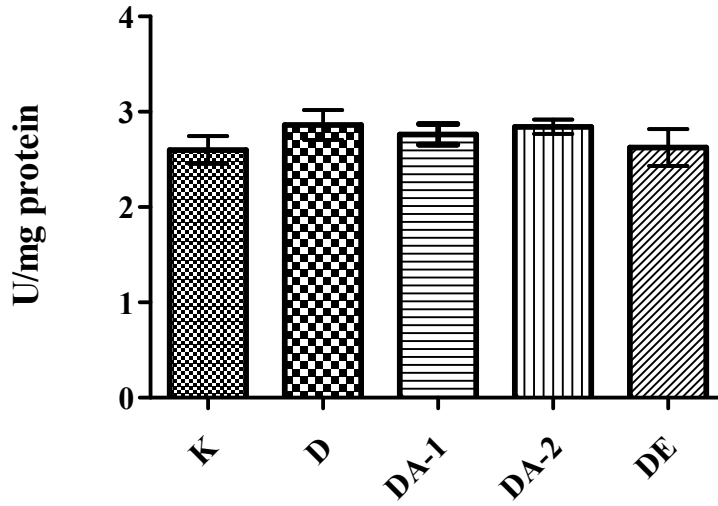
4.4.2.2. Böbrek dokusu süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları

Ratların böbrek süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları tablo 4.11 ve şekil 4.20' de verildi.

Tablo 4.11. Rat böbrek dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	2,59±0,14	2,76±0,11	2,73±0,12	2,84±0,07	2,62±0,19

Böbrek dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde tablo 4.11 ve şekil 4.20'e göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.



Şekil 4.20. Rat böbrek dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.

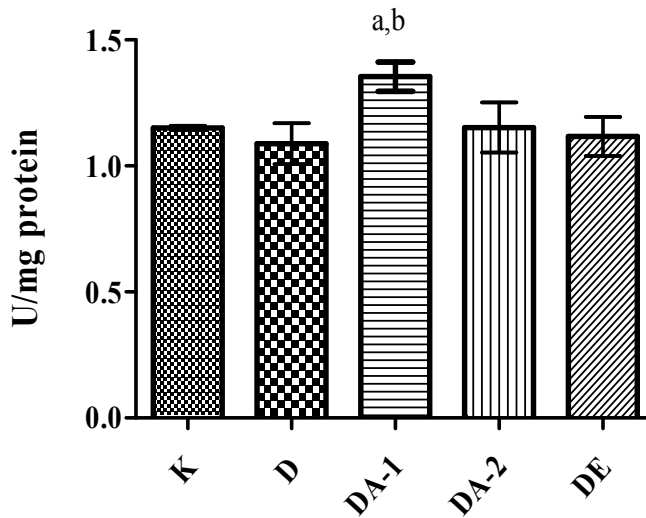
4.4.2.3. Bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları

Ratların bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları tablo 4.12 ve şekil 4.21' de verildi.

Tablo 4.12. Rat bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	1,19±0,08	1,08±0,08	1,33±0,06 ^{ab}	1,13±0,09	1,11±0,07

(a) K vs DA-1; (b) D vs DA-1 ($P < 0,05$)



Şekil 4.21. Rat bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.

Bağırsak dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi tablo 4.12 ve şekil 4.21'e göre DA-1 grubunda, K grubu ve D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış ($P<0,05$) gözlemlendi

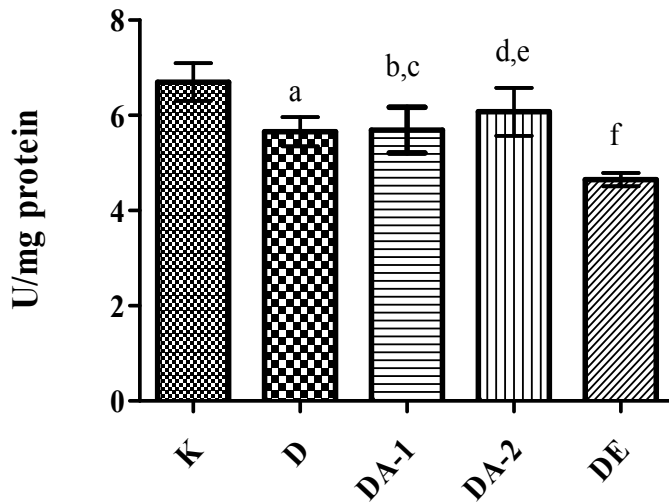
4.4.2.4. Kalp dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları

Ratların kalp dokusu süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları tablo 4.13 ve şekil 4.22' de verildi.

Tablo 4.13. Rat kalp dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	6,69±0,39	5,65±0,30 ^a	5,69±0,48 ^{bc}	6,07±0,50 ^{de}	4,64±0,14 ^f

(a) K vs DA-2; (b) K vs DA-1; (c) DA-1 vs DE; (d) K vs DA-2 ; (e) DE vs DA-2 ve (f) K vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.22. Rat kalp dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.

Kalp dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesi tablo 4.13 ve şekil 4.22' e göre D, DA-1 ve DE gruplarında K grubuna göre anlamlı bir azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. Gruplar kendi aralarında kıyaslandığında ise; DA-1 ve DA-2 gruplarında DE grubuna göre artma anlamlıdır ($P<0,05$).

4.4.3. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları

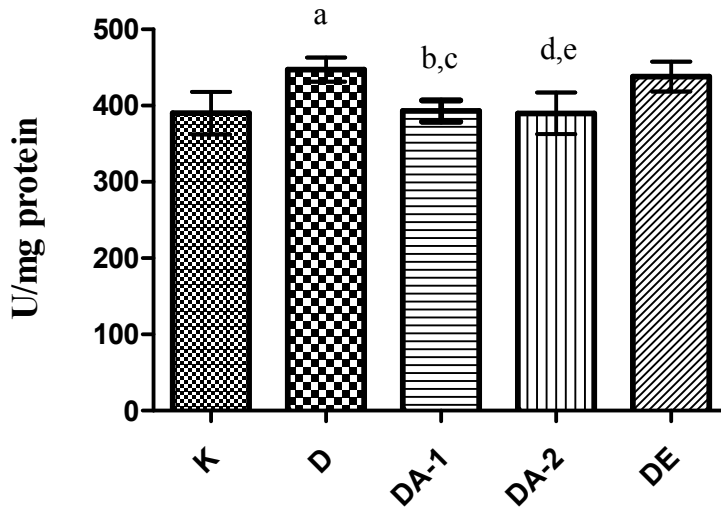
4.4.3.1. Karaciğer dokusu glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları

Ratların karaciğer dokusu glutasyon peroksidaz aktivitesi sonuçları tablo 4.14 ve şekil 4.23' de verildi.

Tablo 4.14. Rat karaciğer dokusu glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Enzim aktivite (U/mg protein)	390,35±27,96	447,15±15,88 ^a	393,05±13,94 ^{bc}	389,98±27,29 ^{de}	438,01±19,67

(a) K vs D; (b) D vs DA-1; (c) DE vs DA-1; (d) D vs DA-2 ve (e) DE vs DA-2 ($P<0,05$)



Şekil 4.23. Rat karaciğer dokusu glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi grafiği.

Karaciğer dokusu glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi tablo 4.14 ve şekil 4.23'e göre sadece D grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artma ($P<0,05$) tespit edildi. DA-1 ve DA-2 gruplarında D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-1 ve DA-2 grupları DE grubuyla kıyaslandığında ise anlamlı bir azalma ($P<0,05$) tespit edildi.

4.4.4. Total glutatyon düzeyi sonuçları

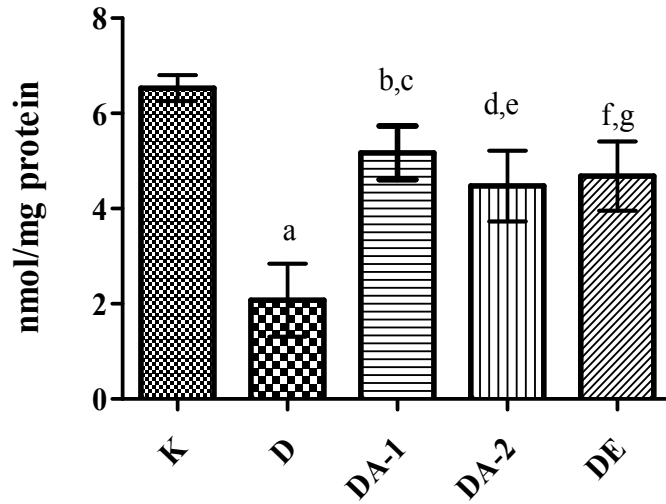
4.4.4.1. Karaciğer dokusu total glutatyon düzeyi sonuçları

Ratların karaciğer dokusu total glutatyon düzeyleri tablo 4.15 ve şekil 4.24'te verildi.

Tablo 4.15. Rat karaciğer dokusu total glutatyon düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Glutatyon Düzeyi (nmol/mg protein)	6,53±0,27	2,05±0,88	5,17±0,56 ^{bc}	4,47±0,74 ^{de}	4,68±0,72 ^{fg}

(a) K vs D; (b) K vs DA-1; (c) D vs DA-1; (d) K vs DA-2 ; (e) D vs DA-2 ; (f) K vs DE ve (g) D vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.24. Rat karaciğer dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.

Karaciğer dokusu total glutatyon düzeyleri tablo 4.15 ve şekil 4.24'e göre K grubu ile karşılaştırıldığında; D, DA-1, DA-2 ve DE gruplarında anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-1, DA-2 ve DE gruplarında, D grubuna göre anlamlı artma ($P<0,05$) gözlemlendi.

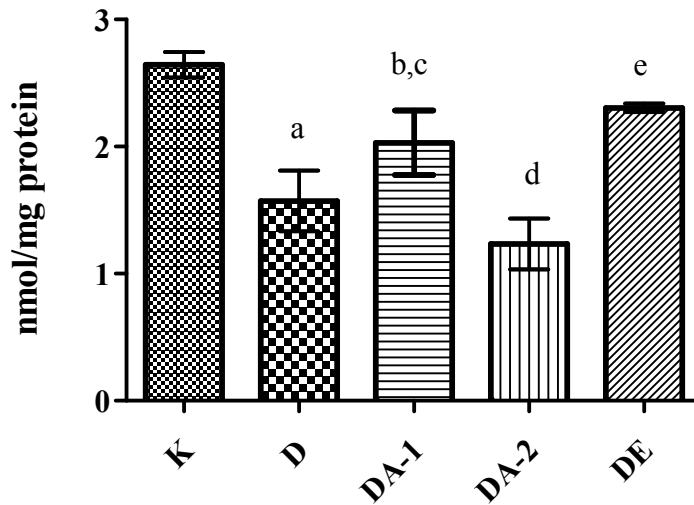
4.4.4.2. Böbrek dokusu total glutatyon düzeyi sonuçları

Ratların böbrek dokusu total glutatyon düzeyleri tablo 4.16 ve şekil 4.25' te verildi.

Tablo 4.16. Rat böbrek dokusu total glutatyon düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Glutatyon Düzeyi (nmol/mg protein)	2,54±0,24	1,57±0,23 ^a	2,30±0,46 ^{bc}	1,52±0,60 ^d	2,30±0,03 ^e

(a) K vs D (b) K vs DA-1; (c) D vs DA-1; (d) K vs DA-2 ve (e) D vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.25. Rat böbrek dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.

Rat böbrek dokusu total glutatyon düzeyleri tablo 4.16 ve şekil 4.25'e göre K grubu ile karşılaştırıldığında D, DA-1 ve DA-2 gruplarında anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. D grubuyla karşılaştırıldığında; DA-1 ve DE gruplarında anlamlı artma ($P<0,05$) gözlemlendi.

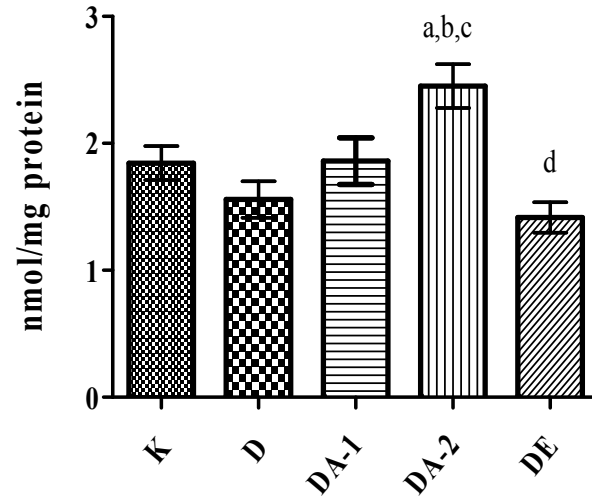
4.4.4.3. Bağırsak dokusu total glutatyon düzeyi sonuçları

Ratların bağırsak dokusu total glutatyon düzeyleri tablo 4.17 ve şekil 4.26' da verildi.

Tablo 4.17. Rat bağırsak dokusu total glutatyon düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Glutatyon Düzeyi (nmol/mg protein)	1,84±0,13	1,55±0,14	1,86±0,18	2,45±0,17 ^{abc}	1,41±0,11 ^d

(a) D vs DA-2; (b) DA-1 vs DA-2; (c) DE vs DA-2 ve (d) K vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.26. Rat bağırsak dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.

Bağırsak dokusu GSH düzeylerinde tablo 4.17 ve Şekil 4.26'ya göre D grubunda, K grubuna göre anlamlı azalma ($P>0,05$) olmadı. DA-1 grubunda, D grubuna göre anlamlı artış ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-2 grubunda, K, D ve DA-1 grubuyla kıyaslanınca anlamlı artış ($P<0,05$) tespit edildi.

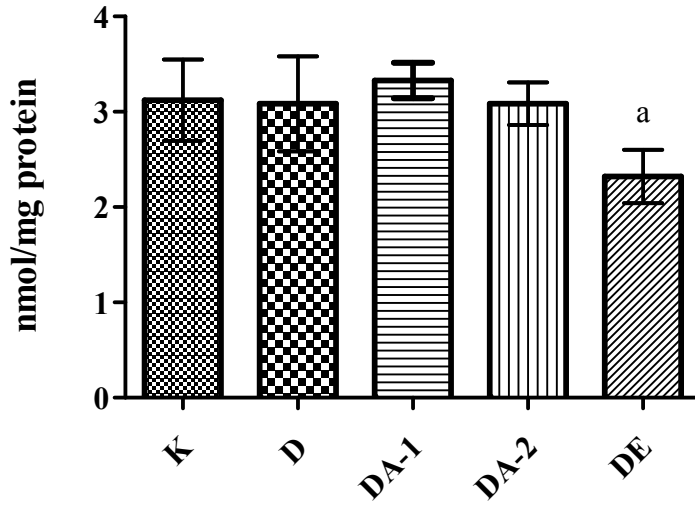
4.4.4.4. Kalp dokusu total glutatyon düzey sonuçları

Kalp dokusu total glutatyon düzeyleri tablo 4.18 ve şekil 4.27'de verildi.

Tablo 4.18. Rat kalp dokusu total glutatyon düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Glutasyon Düzeyi (nmol/mg protein)	3,12±0,42	3,08±0,49	3,32±0,18	3,08±0,22	2,32±0,27 ^a

(a) DA-1 vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.27. Rat kalp dokusu total glutatyon düzeyleri grafiği.

Kalp dokusu total glutatyon düzeylerinde tablo 4.18 ve şekil 4.27'ye göre DA-1 grubu ile DE grubu kıyaslandığında anlamlı ($P<0,05$) azalma gözlemlendi. D grubu MDA düzeyi K grubuna göre nispi artış tespit edildi ($P>0,05$). Ayrıca DA-1 grubu MDA düzeyi D grubuna göre nispi bir azalış olmuştur ($P>0,05$).

4.4.5. Lipit peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit düzeyi testleri

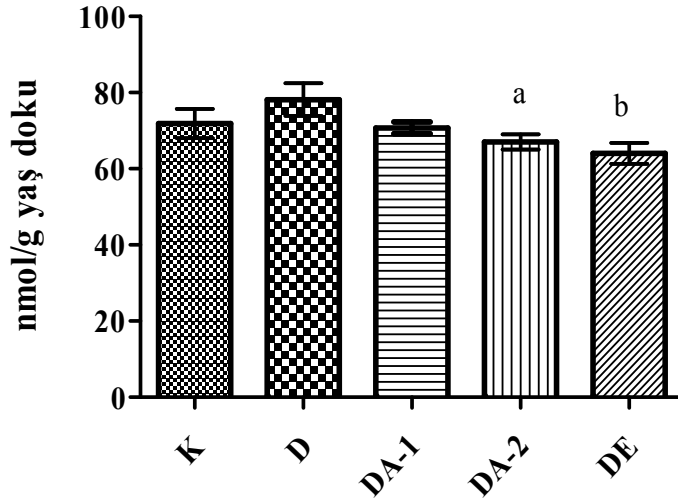
4.4.5.1. Karaciğer dokusu malondialdehit düzeyi sonuçları

Ratların karaciğer dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.19 ve şekil 4.28'de verildi.

Tablo 4.19. Rat karaciğer dokusu malondialdehit düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Malondialdehit Düzeyi (nmol/g yaş doku)	70,84±4,22	78,16±4,30	70,74±1,56	67,05±1,99 ^a	66,33±6,11 ^b

(a) D vs DA-2 ve (b) D vs DE ($P<0,05$)



Şekil 4.28. Rat karaciğer dokusu malondialdehit düzeyleri grafiği.

Rat karaciğer dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.19 ve şekil 4.28'e göre D grubuyla karşılaştırma yapıldığında; DA-2 ve DE grubunda anlamlı azalma ($P<0,05$) tesbit edildi.

4.4.5.2. Böbrek dokusu malondialdehit düzey sonuçları

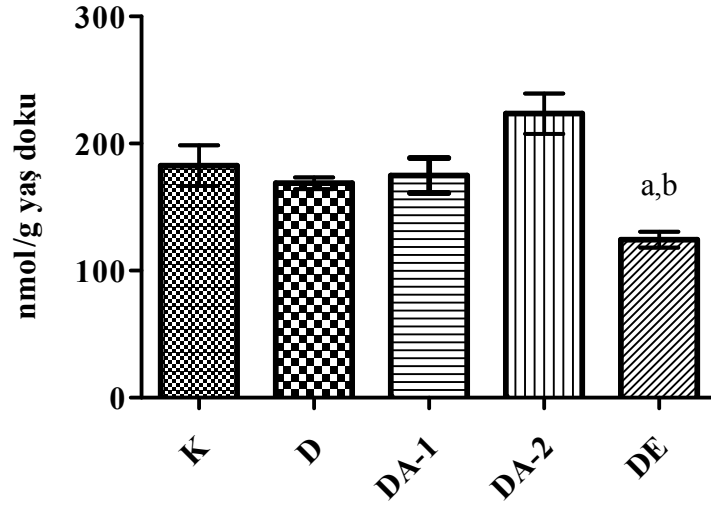
Ratların böbrek dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.20 ve şekil 4.29' da verildi.

Tablo 4.20. Rat böbrek dokusu malondialdehit düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Malondialdehit Düzeyi (nmol/g yaş doku)	177,95±13,92	165,58±8,85	174,62±13,62	223,50±15,78	122,91±6,71 ^{ab}

(a) K vs DE ve (b) D vs DE ($P<0,05$)

Böbrek dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.20 ve şekil 4.29' a göre DA-1 ve DA-2 gruplarında, K ve D gruplarına göre anlamlı azalma ($P>0,05$) tespit edilmedi. DE grubunda ise; K ve D gruplarına göre anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi.



Şekil 4.29. Böbrek dokusu malondialdehit düzeyleri grafiği.

4.4.5.3. Bağırsak dokusu malondialdehit düzey sonuçları

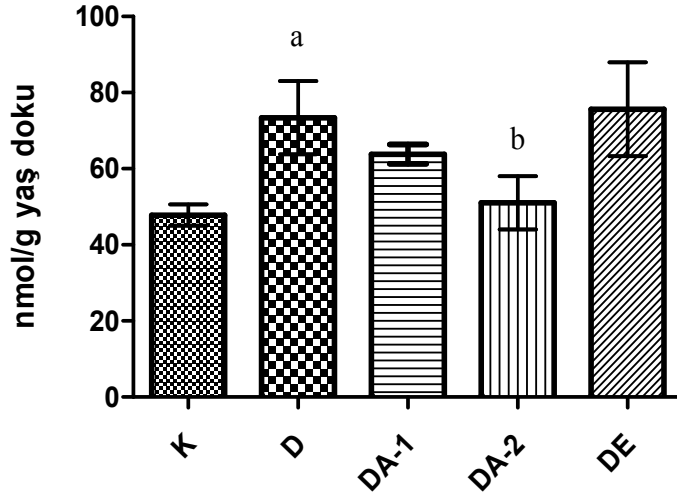
Ratların bağırsak dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.21 ve şekil 4.30' da verildi.

Tablo 4.21. Rat bağırsak dokusu malondialdehit düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Malondialdehit Düzeyi (nmol/g yaş doku)	47,81±2,78	73,40±9,59 ^a	63,81±2,55	51,06±6,98 ^b	75,59±12,33

(a) K vs D ve (b) D vs DA-2 ($P<0,05$)

Bağırsak dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.21 ve şekil 4.30'a göre D grubunda K grubuna göre anlamlı bir artma ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-2 grubunda, D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) tespit edildi.



Şekil 4.30. Bağırsak dokusu malondialdehit düzeyleri grafiği.

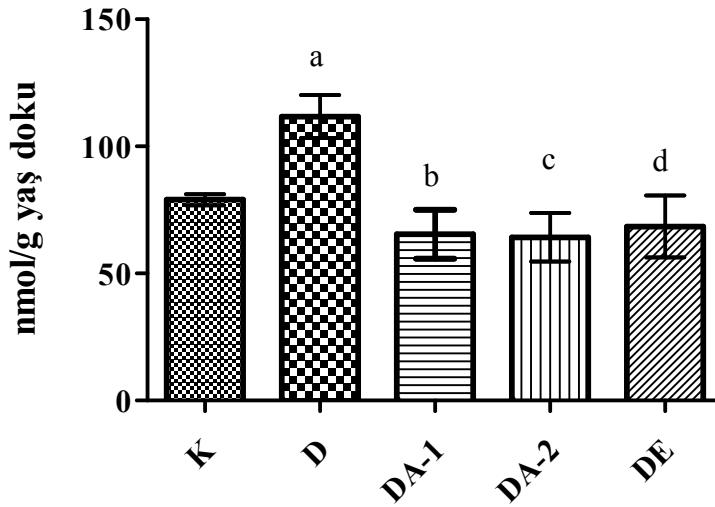
4.4.5.4. Kalp dokusu malondialdehit düzey sonuçları

Ratların kalp dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.22 ve şekil 4.31' de verildi.

Tablo 4.22. Rat kalp dokusu malondialdehit düzeyleri

Gruplar	K	D	DA-1	DA-2	DE
Malondialdehit Düzeyi (nmol/g yaş doku)	79,03±2,17	111,74±4,30 ^a	64,43±9,61 ^b	64,23±9,54 ^c	68,48±12,19 ^d

(a) K vs D; (b) D vs DA-1; (c) D vs DA-2 ve (d) D vs DE ($P < 0,05$)



Şekil 4.31. Kalp dokusunda malondialdehit düzeyleri grafiği.

Rat kalp dokusu malondialdehit düzeyleri tablo 4.22 ve Şekil 4.31'e göre D grubunda, K grubuna göre anlamlı bir artma ($P<0,05$) gözlemlendi. D, DA-1 ve DA-2 gruplarında, D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) tespit edildi

Tablo 4.23. Rat karaciğer doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri

Parametreler	K	D	DA-1	DA-2	DE
CAT	825,89±49,51	709,00±67,36 ^a	665,70±16,70 ^b	732,53±28,61 ^c	700,60±47,44 ^d
GPx	390,35±27,96	447,15±15,88 ^a	393,05±13,94 ^{bc}	389,98±27,29 ^{de}	438,01±19,67
GSH	6,53±0,27	2,05±0,88	5,17±0,56	4,47±0,74	4,68±0,72
SOD	2,99±0,05	3,46±0,39	3,12±0,24	4,09±0,34 ^{abcd}	3,50±0,190
MDA	70,84±4,22	78,16±4,30	70,74±1,56	67,05±1,99 ^a	66,33±6,11 ^b

CAT (a) K vs D ; (b) K vs DA-1; (c) K vs DA-2 ; (d) K vs DE ($P<0,05$)
GPx (a) K vs D; (b) D vs DA-1; (c) DE vs DA-1; (d) D vs DA-2 (e) DE vs DA-2 ($P<0,05$)
GSH (a) K vs D; (b) K vs DA-1; (c) D vs DA-1; (d) K vs DA-2 (e) D vs DA-2; (f) K vs DE; (g) D vs DE ($P<0,05$)
SOD (a) K vs DA-2 ; (b) D vs DA-2 ; (c) DA-1 vs DA-2 (d) DE vs DA-2 ($P<0,05$)
MDA (a) D vs DA-2; (b) D vs DE ($P<0,05$)

Tablo 4.24. Rat böbrek doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri

Parametreler	K	D	DA-1	DA-2	DE
CAT	245.97±11,29	185.03±5.67 ^a	229.14±14.56 ^b	221,78±16.32 ^c	187.55±8.69 ^d
GSH	2,54±0,24	1,57±0,23 ^a	2,30±0,46 ^{bc}	1,52±0,60 ^d	2,30±0,03 ^e
SOD	2,59±0,14	2,76±0,11	2,73±0,12	2,84±0,07	2,62±0,19
MDA	177,95±13,92	165,58±8,85	174,62±13,62	223,50±15,78	122,91±6,71

CAT (a) K vs D; (b) D vs DA-1; (c) D vs DA-2; (d) K vs DE ($P<0,05$)
GSH (a) K vs D; (b) K vs DA-1; (c) D vs DA-1; (d) K vs DA-2; (e) D vs DE ($P<0,05$)
SOD Anlamlı farklılık yok ($P>0,05$)
MDA (a) K vs DE; (b) D vs DE ($P<0,05$)

Tablo 4.25. Rat bağırsak doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri

Parametreler	K	D	DA-1	DA-2	DE
CAT	216,73±9,13	195,71±8,24	241,69±11,18 ^a	203,68±11,77	182,39±21,31 ^b
GSH	1,84±0,13	1,55±0,14	1,86±0,18	2,45±0,17 ^{abc}	1,41±0,11 ^d
SOD	1,19±0,08	1,08±0,08	1,33±0,06 ^{ab}	1,13±0,09	1,11±0,07
MDA	47,81±2,78	73,40±9,59 ^a	63,81±2,55	51,06±6,98 ^b	75,59±12,33

CAT (a) D vs DA-1; (b) K vs DE ($P<0,05$)

GSH (a) D vs DA-2; (b) DA-1 vs DA-2; (c) DE vs DA-2; (d) K vs DE ($P<0,05$)

SOD (a) K vs DA-1 ; (b) D vs DA-1 ($P<0,05$)

MDA (a) K vs D; (b) D vs DA-2 ($P<0,05$)

Tablo 4.26. Rat kalp doku homojenatları antioksidan enzim aktiviteleri, total GSH ve MDA düzeyleri

Parametreler	K	D	DA-1	DA-2	DE
CAT	7,51±0,31	5,94±0,53 ^a	5,64±0,41 ^b	5,86±0,85 ^c	6,26±0,47 ^d
GSH	3,12±0,42	3,08±0,49	3,32±0,18	3,08±0,22	2,32±0,27 ^a
SOD	6,69±0,39	5,65±0,30 ^a	5,69±0,48 ^{bc}	6,07±0,50 ^{de}	4,64±0,14 ^f
MDA	79,03±2,17	111,74±4,30 ^a	64,43±9,61 ^b	64,23±9,54 ^c	68,48±12,19 ^d

CAT (a) K vs D; (b) K vs DA-1; (c) K vs DA-2; (d) K vs DE ($P<0,05$)

GSH (a)) DA-1 vs DE ($P<0,05$)

SOD (a) K vs D; (b) K vs DA-1; (c) DA1 vs DE; (d) K vs DA-2; (e) DE vs DA-2
(f) K vs DE ($P<0,05$)

MDA (a) K vs D; (b) D vs DA-1; (c) D vs DA-2; (d) D vs DE ($P<0,05$)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, *A. tuncelianum*'un besinsel içeriklerinin düzeyleri analiz edildi. Ayrıca *A. tuncelianum* bitki ekstraktının *in vitro* antioksidan kapasitesi, *in vitro* antiproliferatif özelliği ve *in vivo* olarak DMBA'ya karşı etkinliği incelendi. *A. tuncelianum* normal sarımsaktan daha yüksek antiradikal aktivite gösterdiği ve daha fazla toplam fenolik bileşik içerdiği yapılan deneysel çalışmalarla tesbit edilmiştir. Ayrıca *A. tuncelianum*'un mutajenite ve karsinogeniteye karşı koruyucu gıda olarak diyetle tüketilebileceği önerilmiştir [42].

Sarımsağın yapısında diğer pekçok bitkisel gıdada bulunandan daha fazla protein, lif ve serbest amino asit bileşiğinin bulunduğu söylenmektedir. Bunun yanında sarımsakta bazı vitaminler de yüksek düzeyde bulunmaktadır. Özellikle askorbik asit miktarı oldukça yüksektir. Sarımsağın bazı kimyasal bileşim unsurları şu şekildedir; su; % 66,32, ham protein; % 9,26, ham yağ; % 0,34, azotlu bileşikler; % 7,1, lif; % 2,17, kül; % 2,30, suda çözünabilir ekstrakt; % 18,4, uçucu yağ; % 0,14, pH 6,05, enerji (Kcal/100g) 410,7, vitamin (mg/100g); askorbik asit (C vitamini); 19,0, tiamin (B1 vitamini); 9,21, niasin (B3 vitamini); 0,9, riboflovin (B2 vitamini); 0,11 olarak belirlenmiştir [114]. Akkan tarafında yapılan bir çalışmada, *A. tuncelianum*'da ise bazı kimyasal bileşim unsurları şu şekildedir; su; % 63,14, ham protein; % 2,38, ham yağ; % 0,23, total şeker % 25,0, lif; % 5,24, kül; % 1,31, uçucu yağ; % 0,14, pH 6,56, enerji (Kcal/100g) 124,5, vitamin (mg/100g); askorbik asit (C vitamini); 7,22, tiamin (B1 vitamini); 0,083, niasin (B3 vitamini); 0,05, riboflovin (B2 vitamini); 0,11, α -tokoferol (E vitamini); 0,54, piridoksamın (vitamin B6); 0,18, folik asit (B9 vitamini); 0,067, siyanokobalamin (B12 vitamini); 0,000132 ve filokinon (K1 vitamini); 0,12 olarak bulunmuştur [115].

Çalışmamızda *A. tuncelianum*'un besinsel içerik analizinde, eser elementler, yağasitleri ve uçucu yağların düzeyleri incelendi. *A. tuncelianum* eser element bileşenlerinden 10 elementin analizi yapıldı. *A. tuncelianum*'daki mineral bileşenlerin büyükten küçüğe doğru sıralaması mg/kg (ppm) olarak; K ($4207 \pm 67,77$), Ca ($518,1 \pm 35,14$), Mg ($376,5 \pm 20,83$), Na ($119,7 \pm 19,64$), Fe ($15,9 \pm 1,32$), Zn ($9,24 \pm 0,19$), Mn ($2,48 \pm 0,17$), Se ($1,03 \pm 0,38$), Cu ($0,54 \pm 0,04$) ve Ni ($0,33 \pm 0,04$) olarak bulundu. Bu sonuç daha önce *A. tuncelianum* için yapılan eser element analiz sonuçları ile çok küçük farklılıklarla beraber, genel olarak paralel bulundu. Fırat Kalkınma Ajansı'nın yaptırdığı çalışma [115] ve Evren ve arkadaşlarının [114] rapor

ettiği çalışma bulguları bizim sonuçlarımızla paralelik arz ettiği görüldü.

Çalışmamızda *A. tuncelianum* uçucu yağının ana bileşenleri DATS % 30,90 ve DADS % 28,30 olarak bulundu. *A. tuncelianum* uçucu yağındaki diğer bileşenler allil metil trisülfid % 9,44, allil metil sülfid % 8,66, dimetil trisülfid % 3,72, fitalik asit dietil ester % 2,90 trans-propenil propil disülfid % 2,87, izobütil izotiyosiyanat 2,37, metil (metil sülfidil) metil sülfid % 2,30, DAS % 2,12 ve linoleik asit metil ester % 1,51 olarak bulundu. Kozan, [116] Kastamonu sarımsağının uçucu yağının ana bileşenlerini DATS % 42,52 ve DADS % 24,48 olarak bulmuştur. Lee ve arkadaşların [117] ise Kastamonu sarımsağının uçucu yağının ana bileşenlerini allil trisülfid % 29,55 ve allil disülfid % 23,06 olarak bulmuştur. Mısır sarımsağının uçucu yağını Jirovetz ve arkadaşları [118] yapmış olduğu analiz sonuçlarına göre Mısır sarımsağının ana bileşeni DATS % 29,7 olarak bulmuşlardır. Kore sarımsağı üzerinde Lee ve arkadaşlarının[118] yaptığı çalışmada DADS % 57,88, DAS % 23,59, ve DATS % 11,40 olarak bulmuşlardır. Bizim sonuçlarımız, literatürde Kastamonu sarımsağı için yapılan çalışmalara yakın olarak bulundu.

A. tuncelianum yağ asidi metil esterlerinin temel bileşenleri; oleik asit % 27,19 ve linoleik asit % 19,46 olarak bulundu. *A. tuncelianum* uçucu yağındaki diğer bileşenler; elaidik asit % 7,13, palmitik asit % 6,32, cis-10-pentadekanoik asit % 4,70, araşidik asit % 4,68, alfa-linolenik asit % 3,35, stearik asit % 3,12, heneikosanoik asit % 3,00, erusik asit % 2,99, cis-13,16-dokosadienoik asit % 2,19, trikosanoik asit % 1,26, palmiteloik asit % 1,23, cis-10-heptadekanoik asit % 0,98, miristik asit % 0,59 ve laurik asit % 0,56 olarak bulundu. Kastamonu sarımsağı için yapılan çalışmalarda Chekki ve arkadaşları [119] temel bileşen olarak laurik asit % 49,3 ve linoleik asiti % 20,4 olarak bulmuştur. Dembitsky ve arkadaşları[120] temel bileşen olarak linoleik asiti % 57,0 ve palmitik asit % 6,6 olarak bulmuşlardır. Bizim sonuçlarımız ve literatürde Kastamonu sarımsağı için yapılan çalışmalarda temel bileşen, linoleik asit olarak bulunmuş olup, diğer temel bileşenler her üç çalışmada da farklı olarak bulunmuştur.

A. tuncelianum'un etanol/su (1/1) ekstraktı hazırlandı evoparatör ile kurutulup, etanol ve metanol ile çözülüp GC-MS analizi yapıldı. Analiz sonucunda; her iki çözgüde de miktar olarak en yüksek; oleik asit ortalama % 54,35±0,88 ve linoleik asit bileşiği ortalama % 12,05±0,13 olarak bulundu. Ayrıca palmitik asit ve linoleil alkol de diğer bileşiklere oranla yüksek miktarda bulunan bileşikler olarak belirlendi. Sarımsaktan farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlarda, farklı ürünler

ortaya çıkmaktadır. Bu ürünlerin yapıları birbirlerine çok benzemekle beraber farklı metabolizmalarda farklı etkilere sebep olabilmektedirler. *A. tuncelianum*'da % 61,92±2,39 oranında nem ve % 38,08±1,87 oranında kuru madde tespit edildi. Etanol/su (1/1) ile hazırlanmış *A. tuncelianum* ekstraktıyla, antioksidan aktivite çalışması yapıldı.

Gıdaların içeriğinde bulunan toplam fenolik miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Bu çalışmada toplam fenolik bileşik tayini yapıldı şekil 4.5'te verildi. *A. tuncelianum*'un etanol/su (1/1) ekstraktının, toplam fenolik bileşik miktarı gram başına: 406,51±0,99 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru *A. tuncelianum* olarak bulundu. Ağbaş ve arkadaşları [121] *A. tuncelianum* toplam fenolik bileşik içerikleri; 16,21±1,38 mg GAE/g *A. tuncelianum* etanol ekstresi, 54,25±2,64 mg GAE /g *A. tuncelianum* su ekstresi olarak bulmuşlardır. Ayrıca Narendhirakannan ve arkadaşları [122] Kastamonu sarımsağı için 44,58±0,54 GAE /g yaş Kastamonu sarımsağı olarak bulmuşlardır. *A. tuncelianum*'da kuru madde miktarının % 38,08±1,87 olduğu göz önüne alındığında diğerlerinin bulduğu değerlerin bizim bulduğumuz değerlere yakın olduğu gözlemlendi.

Cuprac yöntemiyle toplam antioksidan aktivite tayini yapıldı ve sonuç olarak; 0,77±0,01 mmol troloks eşdeğeri/g kuru *A. tuncelianum* olarak bulundu.

Bu tez çalışmasında ABTS radikal giderme aktivitesi şekil 4.7'de verildi. 500 µg/mL' de; en yüksek aktiviteyi 125,90±0,70 µg troloks eşdeğeri ile askorbik asit gösterdi. Sonra 91,11±0,45 µg troloks eşdeğeri ile BHT, ondan sonra 30,95±0,11 µg troloks eşdeğeri ile α-tokoferol gösterdi. En son olarak *A. tuncelianum*; 18,95±0,32 µg troloks eşdeğeri göstererek diğer standart antioksidanlardan daha düşük ABTS radikal süpürücüsü olduğu gözlemlendi. *A. tuncelianum* 'la kıyaslandığında standart antioksidanlarda ki artış istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) olduğu tespit edildi. Ağbaş ve arkadaşları [121] bizden farklı metod kullanarak yaptıkları çalışmada; *A. tuncelianum* ve Kastamonu sarımsağı ekstrelerinin 100 µg/mL derişimi için ABTS radikali giderme aktivitesi sıralamasının; *A. tuncelianum* etanol ekstraktı % 90,47>BHT % 89,44> *A. tuncelianum* su ekstraktı % 48,54>Kastamonu sarımsağı su ekstraktı % 46,75> Kastamonu sarımsağı etanol ekstraktı % 40,84 olarak tespit etmişlerdir. Literatür verileriyle bizim budüğümüz sonuç birbiriyle örtüşmemektedir.

Yaptığımız çalışmada OH⁻ radikal süpürme aktivitesi şekil 4.8'de verildi.

Sonuç olarak en yüksek aktiviteyi 500 µg/mL' de % 53,26±2,64'lük bir OH[•] radikal süpürme gücü ile askorbik asit gösterdi. İkinci en yüksek aktivite % 37,26±3,54 ile *A. tuncelianum* olarak belirlendi. Birbirine yakın olarak bulunan iki standart antioksidan α-tokoferol; % 28,36±1,60 ve BHT; % 27,79±2,29'luk bir OH[•] radikal süpürme gücü gösterdi. *A. tuncelianum* 'un OH[•] radikal süpürme gücü bu iki standart antioksidana göre anlamlı artma ($P<0,05$) gösterdi. Ayrıca askorbik asitteki hidroksil radikal süpürme gücünün *Allium tuncelianum*'a kıyasla artışı ($P<0,05$) istatistiksel olarak anlamlıdır. Literatürde Ağbaş, ve arkadaşlarının [121] yaptığı deneysel çalışmada OH[•] radikali giderme aktivitesinin büyükten küçüğe doğru sıralaması; *A. tuncelianum* etanol ekstraktı % 75,90>BHT % 73,22>Kastamonu sarımsağı etanol ekstraktı % 71,15> *A. tuncelianum* su ekstraktı % 52,47>Kastamonu sarımsağı su ekstraktı % 28,93 olarak bulmuşlardır. Bu sonuca göre *A. tuncelianum* için standart antioksidanlara yakın bir OH[•] radikal süpürücüsüdür diyebiliriz.

H₂O₂ süpürme kapasitesi şekil 4.9'da verildi. En yüksek aktiviteyi 500 µg/mL' de % 46,66±0,96'luk bir H₂O₂ radikal süpürme gücü ile *Allium tuncelianum*, sonra % 32,21±1,22 ile askorbik asit, sonra % 30,72±1,44 ile α-tokoferol ve en düşük aktiviteyi ise 24,63±2,86 ile BHT göstermiş olup, *Allium tuncelianum*'un bu derişimde standart antioksidanlardan daha güçlü bir H₂O₂ radikal süpürücüsü olduğu kanaatine varıldı. Ayrıca *Allium tuncelianum*'da ki artış diğer tüm standart antioksidanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) bulundu. Narendhirakannan ve arkadaşları [122] tarafından Kastamonu sarımsağı ile yapılan H₂O₂ süpürme kapasitesini askorbik asit>Kastamonu sarımsağı olarak bulmuşlardır. Bizim sonuçlarımız literatürde Kastamonu sarımsağı için yapılan çalışmanın sonucu ile yakın bulundu.

Yaptığımız çalışmada metal şelatlama aktivitesi şekil 4.7'de verildi. En yüksek aktiviteyi 500 µg/mL' de % 65,22±0,97' lik bir metal şelatlama aktivitesi ile EDTA, sonra % 17,50±1,51' lik metal şelatlama aktivitesi ile *Allium tuncelianum*, sonra % 13,41±1,31' lik metal şelatlama aktivitesi ile askorbik asit, ve en son % 12,35±1,45' lik metal şelatlama aktivitesi ile BHT göstermiş olup, *A. tuncelianum* EDTA'dan düşük, askorbik asit ve BHT den ise daha yüksek bir metal şelatlayıcısı olduğu kanaatine varıldı. *A. tuncelianum* ile kıyaslandığında askorbik asit ve BHT' deki düşüş anlamlı azalma ($P<0,05$) olarak bulunurken EDTA' daki yükselme ise anlamlı artma ($P<0,05$) olarak kaydedildi. Kastamonu sarımsağı ile yapılan

çalışmada Othman ve arkadaşları; [123] 1000 µg/mL' de Kastamonu sarımsağının % 41,51±0,15' lik metal şelatlama aktivitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bizim sonuçlarımız literatürde Kastamonu sarımsağı için yapılan çalışmanın sonucundan daha düşük çıkmıştır.

A. tuncelianum ekstraktı, α-tokoferol ve BHT'nin BSA üzerindeki karbonil inhibisyon etkisi Fenton sistemiyle (Fe₃⁺/H₂O₂/Askorbik asit) oluşturulan protein karbonil inhibisyonu olarak tanımlandı. Bu kapsamda protein oksidasyonunun karbonil oluşumunun inhibisyonu şekil 4.11'de verildi. Deney sonuçlarına göre 500 µg/mL' de en yüksek aktiviteyi; % 46,91±0,51' lik bir protein karbonil inhibisyon yüzdesiyle ile *Allium tuncelianum*, sonra % 33,72±2,11 ile α-tokoferol ve en son 32,59±1,25 ile BHT gösterdi. *A. tuncelianum* ile kıyaslandığında α-tokoferol ve BHT' deki düşüş anlamlı azalma ($P<0,05$) olarak bulundu. *A. tuncelianum*, BHT standardına göre, düşük derişimlerde daha yüksek aktivite gösterirken derişim yükseldikçe BHT standardının daha yüksek aktivite gösterdiği gözlemlendi. Bizim yaptığımız çalışma sonuçlarından, *A. tuncelianum*'un göstermiş olduğu yüksek antioksidan aktiviteyi, içeriğinde bulunan ve antioksidan özellik gösterme kabiliyetine sahip mineraller (Cu ve Se), vitaminler (C ve E) ve kükürtlü bileşenler olan; DAS, DADS ve DATS'lerden kaynaklandığını söylemek mümkündür.

Bu tez çalışmasında *A. tuncelianum* ekstralarıyla, antiproliferatif aktivite çalışması yapıldı. Bu kapsamda kültüre edilmiş LS174T kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif aktivite için; 0,1, 1, 10, 100 ve 1000, µg/mL' deki *A. tuncelianum* ekstralarıyla, antikanser özeliği incelendi ve şekil 4.12' de verildi. *A. tuncelianum*'un yüksek derişimi (1000 µg/mL) verilen grupta 24. ve 48. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı azalma ($P>0,05$) gözlenmez iken, 72. saatte % 11,95±2,75'lik bir inhibisyon gerçekleşti. Bu sonuç kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı azalma ($P<0,05$) olarak tespit edildi. Kültüre edilmiş SW620 hücre hatlarında canlılık üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmamız şekil 4.13' te verildi. Sonuç olarak, *A. tuncelianum*'un yüksek derişimi (1000 µg/mL) verilen grupta 24 saat sonra % 15,39±0,78'lik bir artış oldu. Yani hücre proliferativesi arttı. Fakat 48 saat sonra % 8,97±0,42'lik bir inhibisyon gözlemlendi. Bu sonuç, bu hücre hattında *Allium tuncelianum*'un antiproliferatif aktivitesinin varlığını göstermekle birlikte yeterli düzeyde olmadığına işaret etmektedir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında % 8,97±0,42'lik inhibisyon anlamlı azalma ($P<0,05$) olarak tespit edildi. Matsuura ve arkadaşları [124] *A. sativum*'un kültüre edildi SW620 hücre hatlarında canlılık

üzerine etkisinin araştırmış ve sarımsağın, 0,1 ve 1000 µg/mL derişiminin proliferasyonun artışı durduramadığını ancak 1000 µg/mL derişiminin 72 saat sonra SW620 kolon kanser hücrelerinin proliferasyonunu yaklaşık olarak % 15 oranında inhibe ettiğini tesbit etmişlerdir. Kültüre edilmiş MDA-MB-231 hücre hatlarında canlılık üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmamız şekil 4.14' te verildi. *A. tuncelianum*'un yüksek derişimi (1000 µg/mL) verilen grupta 24. ve 48. saat sonunda % 12,97±0,12'lik ve 11,74±0,56'lık bir inhibisyon oldu. Yani hücre proliferativesi azda olsa baskılandı. Bu sonuç kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı azalma ($P<0,05$) olarak tespit edildi. Bu sonuçlar, *A. tuncelianum* uçucu ve uçucu olmayan yağ ekstralarında biyolojik olarak aktif bileşiklerin tanımlanması için yapılan GC-MS ve GC-FID analizinde bulunan yüksek miktardaki DATS, DADS, diğer sülfürlü bileşikler, Alfa-Linolenik Asit (ALA), Gama-Linolenik Asit (GLA), oleik asit ve diğer yağ asidi bileşenleri ile açıklanabilir. Bu bileşikler ile ilgili literatür bilgileri kısaca şu şekildedir; T24 insan mesane kanser hücre serisinde sarımsağın etkin bileşenlerinden olan DADS'ın neden olduğu apoptozisin etki mekanizmasını araştırıldığı bir çalışmada, DADS'ın T24 hücre serisinde apoptozisi arttırdığı rapor edildi. DADS muamelesinin kaspaz-3 ve -9 (*caspase-3 ve -9*; özel sistein proteazları) aktivitelerini artırarak apoptozise neden olduğu sonucuna varılmıştır. DADS, hücre içi H₂O₂ düzeylerini de artırmıştır. DADS'ın neden olduğu apoptozisin, geniş spektrumlu kaspaz inhibitörü (z-VAD-fmk) ve antioksidan (katalaz) tarafından inhibe edildiği de gösterilmiştir. Yine bu çalışmada DADS, T24 hücrelerini hücre döngüsünü G2/M evresinde tutarak M (Mitoz) evresine girmelerini önlemiştir. Araştırmacılar bu bulguların ışığında DADS'ın gelecekte insan mesane kanserinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir [25]. Chung ve arkadaşları [125], insan kolon kanser hücre serilerinde DAS'ın NAT aktivitesini ve gen ekspresyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Mikrodalgada ya da fırında ısıtma işleminin sarımsağın antikarsinogenik özellikleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 60 saniye mikrodalgada veya 45 dakika kadar fırında ısıtılan sarımsakların ısıtma sonucunda, fare meme epitel hücre DNA'sına DMBA'in bağlanmasını engelleme yeteneğini kaybettiği ortaya konmuştur. Bu çalışma ısıtma işleminin, sarımsağın antikanser özelliği ile ilişkili aktif bir bileşiği olan allil sülfür oluşturma etkisini de ortadan kaldırdığını göstermektedir. Çünkü çalışma sonucunda 30 saniye mikrodalgada ısıtılan sarımsakların alliinaz aktivitesinin % 90 oranında azaldığı da rapor edilmiştir [25]. Carrillo ve

arkadaşlarının [126] rapor ettiği Menendez ve arkadaşlarının [127] MTT yöntemi kullanarak yaptığı bir çalışmada oleik asitin, hücre içi ROS üretimini veya kaspaz 3 aktivitesini artırarak meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu baskılayabileceği bildirilmiştir. Yine Menendez ve arkadaşlarının [128], GLA'in, BT-474, SK-Br3, MDA-MB-453, SK-OV3, NCI-N87 , ve MDA-MB-231 hücre serileri üzerine antiproliferatif etkisini MTT yöntemiyle inceledikleri çalışmalarında sırasıyla; % 35, % 54, % 26, % 21, % 38 ve % 80' lik bir inhibisyon olduğunu gözlemlemişlerdir. Turan ve arkadaşları [129] Sivas sarımsağı'nın (*A. sivasicum*), MDA-MB-231 hücre hatlarında tripan mavisi ekstraksiyon yöntemi ile canlılık üzerine etkisinin araştırmış ve Sivas sarımsağı'nın 160 µg/mL derişiminin, bu hücre hattında umut vaadedecek nisbette (IC-50 değeri 24±3 µg/mL) bir antiproliferatif etkisinin var olduğunu tespit etmişlerdir. Sarımsağın karsinojenleri p450 enzim sistemini uyararak veya kükürtlü bileşiklerle bağlayarak da detoksifiye edebileceği, bağışıklık sisteminin baskılanmasını önleyerek de kansere karşı yararlı olabileceği söylenmektedir [130]. Sarımsağın içeriğinde bulunan DAS, AMS ve DATS, kanserojen maddelerin detoksifikasyonunu hızlandırmaktadır [130]. *A. tuncelianum* için yaptığımız antiproliferatif aktivite çalışma sonuçları ve bu konuda literatürde yeralan diğer allium türleri için yapılan çalışmaların verileri birbirine paralel olarak bulundu.

Yapılan *in vivo* çalışmada *A. tuncelianum* içeriğinde bulunan DAS, DADS, DATS ve allisin gibi kükürtlü bileşenlerin, hem GLA, ALA, oleik asit, linoleik asit ve palmitik asit gibi yağ asidi bileşiklerinin antikanser aktivite gösterdikleri bilgisi [84] literatürde yer almasına rağmen hücre kültürü çalışmasında yüksek antiproliferatif aktivite görülememiş olması iki şekilde yorumlanabilir. Birincisi; *A. tuncelianum* ekstraktı içerisinde bol miktarda bulunan karbonhidratlar ve proteinler hücrelerin proliferasyonuna katkı sağlamış olup dolayısıyla da bu tür bitkilerin antiproliferatif aktivite ile antikanser çalışması yapılırken karbonhidrat ve proteinlerden izole edilerek çalışılması gerektiği sonucu çıkarılmıştır. İkincisi; *in vitro* çalışmalar her zaman doğru yada istenilen sonucu vermeyebilir. Dolayısıyla da tek bir çalışma türü ile yetinilmemeli yapılan çalışmalar *in vivo* çalışmalarla desteklenmelidir.

Bu tez çalışmasında *A. tuncelianum* için hayvan çalışması yapıldı ve bu kapsamda ratların; karaciğer, böbrek, bağırsak ve kalp dokusunda antioksidan enzim aktiviteleri, total gulutasyon ve MDA düzeyleri üzerine etkisi tespit edildi. Bu

dokuların tercih edilmesinin nedeni; 7,12-DMBA'nın karın bölgesine enjekte edilmesi, bu dokuların da karın bölgesinde olması ve bu dokuların canlı vücudunda metabolik faaliyetlerin en çok gerçekleştiği, dolayısıyla oksidatif hasara en çok maruz kalan dokular olmasıydı. Sarımsağın düşük dozdaki yararlı etkileri yüksek dozda kaybolduğu tam tersine prooksidan etki yaptığı hatta çiğ sarımsak ekstraktının 5 mL/kg'lık dozu sıçanlarda mide hasarına bağlı ölüme neden olduğu, aşırı sarımsak kullanımının anemi ve gastrointestinal sistem problemleri gibi toksik etkilere neden olduğu yapılan literatür taramalarında [12, 20, 49] belirlenmiştir. Bu yüzden çalışmamızda ratların vücut ağırlıkları (kg) başına 250 ve 500 mg'lık derişimlerin verilmesi uygun görülmüştür.

Katalaz enzim aktivitesi farklı dokularda değişkenlik gösterir. Katalaz enzimi, karaciğer, böbrek ve kırmızı kan hücrelerinde daha yüksek miktarda bulunur. DMBA ile indüklenmiş rat dokularında katalaz enzim aktivitesinin düşmesi anlamlı azalma olarak kabul edilmiştir. DMBA ile indüklenmiş ratlara verilen antioksidatif maddelerin ise, azalan katalaz enzim aktivitesini yükseltmeleri anlamlı artma olarak rapor edilmiştir [12, 13, 26, 131].

DMBA uygulanmış ratların karaciğer dokusu katalaz aktivitesi tablo 4.6 ve şekil 4.15'te verildi. Çalışma sonuçlarına göre, D, DA-1, DA-2 ve DE gruplarında K grubuna göre anlamlı ($P<0,05$) azalma görüldü. Gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadı. Ratların böbrek dokusu katalaz aktivitesi tablo 4.7 ve şekil 4.16' da verildi. D ve DE gruplarında, K grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$), DA-1 ve DA-2 gruplarında D grubuyla kıyaslanınca katalaz enzim aktivitesinde anlamlı artma ($P<0,05$) gözlemlendi. Ratların bağırsak dokusu katalaz aktivitesi tablo 4.8 ve şekil 4.17' de verildi. DE grubunda, K grubuna göre azalma anlamlı ($P<0,05$) oldu. DE grubuna göre DA-1 grubunda anlamlı ($P<0,05$) artma olduğu tespit edildi. Ratların kalp dokusu katalaz aktivitesi tablo 4.9 ve şekil 4.18'de verildi. K grubuna göre D, DA-1, DA-2 ve DE gruplarında anlamlı ($P<0,05$) azalma görüldü. Gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadı. Genel olarak 7,12-DMBA'nın kontrol grubu ile kıyaslanınca, bağırsak dokusu hariç diğer tüm dokularda katalaz enzim aktivitesinde anlamlı azalmaya neden olduğu gözlemlendi. *A. tuncelianum*'un katalaz enzim aktivitesini olumlu yönde etkileyebildiğini göstermektedir. Banerjee ve arkadaşları Wistar albino ratlara 30 gün boyunca taze sarımsak homojenatını 250, 500 ve 1000 mg/kg dozunda olacak şekilde vermiştir. Sarımsağın 250 mg/kg'lık derişimi kontrol grubuna göre aktivitede anlamlı değişim

sağlamazken 500 ve 1000 mg/kg'lık derişimlerin karaciğer ve böbrek CAT enzimi aktivitesinde anlamlı azalmaya ($P<0,05$) neden olduğunu gözlemlemişlerdir [132]. Banerjee ve arkadaşları [12] yapmış oldukları başka bir çalışmada ratlarda sarımsak kullanımının endojen antioksidan moleküllerin ve antioksidan enzimlerin sentezini gen düzeyinde uyardığını rapor etmişlerdir. Borek ve arkadaşları [133] sarımsak ekstrelerinin kalp, böbrek ve karaciğerde CAT enzimi aktivitesini artırdığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmalar bizim katalaz aktivitesi için bulduğumuz sonuçla paralel olduğu gösterdi.

DMBA ile indüklenmiş rat dokularında SOD enzim aktivitesinin düşmesi anlamlı azalma olarak kabul edilmiştir. DMBA ile indüklenmiş ratlara verilen antioksidatif maddelerin SOD enzim düzeylerini artırmaları da anlamlı bir artış olarak ifade edilmiştir [25, 130].

DMBA uygulanmış ratların karaciğer dokusu SOD enzimi aktivite sonuçları tablo 4.10 ve şekil 4.19' da verildi. Çalışma sonuçlarımıza göre, SOD enzim aktivitesi; DA-2 grubunda, K, D, DA-1 ve DE gruplarına göre anlamlı artma ($P<0,05$) gösterdi. Ratların böbrek SOD enzimi aktivite sonuçları tablo 4.11 ve şekil 4.20' de verildi. Bu sonuçlara göre böbrek dokusu SOD enzimi aktiviteleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($P<0,05$). Ratların bağırsak dokusu SOD enzimi aktivite sonuçları tablo 4.12 ve şekil 4.21' de verildi. Bu sonuçlara göre DA-1 grubunda, K ve D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış ($P<0,05$) olduğu gözlemlendi. Ratların kalp dokusu SOD enzimi aktivitesi tablo 4.13 ve şekil 4.22' de verildi. Bu sonuçlara göre D, DA-1 ve DE gruplarında, K grubuna göre anlamlı bir azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. Gruplar kendi aralarında kıyaslandığında ise; DA-1 ve DA-2 gruplarda DE grubuna göre artma ise anlamlı ($P<0,05$) bulundu. Genel olarak bakıldığında *A. tuncelianum* böbrek dokusu hariç diğer üç dokuda da SOD enzim aktivitesini artırdığı tespit edildi. Sarımsak homojenatının uygulandığı bir çalışmada Banerjee ve arkadaşları [13] kronik sarımsak alımının izoproterenol ile indüklenmiş sıçan kalbindeki endojen antioksidan aktivite üzerine etkisine bakmışlardır. Sadece izoproterenol verilen grupta SOD aktivitesi anlamlı ($P<0,05$) bir şekilde azalmıştır. İzoproterenol'e ilaveten verilen 125, 250 ve 500 mg/kg derişimlerdeki sarımsağın ise, sıçan kalbinde SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir şekilde artmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Borek ve arkadaşları [133] sarımsak ekstrelerinin kalp, böbrek ve karaciğerde SOD aktivitesini ve redükte glutatyon düzeylerini artırdığını rapor etmişlerdir. Bu sonuçların bizim sonuçlarımıza uyumlu

olduğu gözlemlendi.

Toksik 7,12-DMBA ile indüklenmiş rat dokularında GPx enzim aktivitesinin yükselmesi anlamlı artma olarak kabul edilir. DMBA ile indüklenmiş ratlara verilen antioksidatif maddelerin bu enzim aktivitesini azaltmaları ise anlamlı bir azalma olarak rapor edilmiştir [12, 13]. DMBA uygulanmış ratların glutatyon peroksidaz aktivitesi sadece karaciğer dokusunda çalışıldı ve sonuçlar tablo 4.14 ve şekil 4.23' te verildi. Bu sonuçlara göre sadece D grubunda K grubuna göre anlamlı artma ($P<0,05$) tespit edildi. DA-1 ve DA-2 gruplarda D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-1 ve DA-2 grupları DE grubuyla kıyaslandığında ise aktivitede anlamlı bir azalma ($P<0,05$) tesbit edildi. Manivasagam ve arkadaşlarının [134] yaptığı bir çalışmada N-nitrozo dietilamine ile indüklenen yetişkin erkek Wistar ratlara karbon tetra klorür eşliğinde sarımsak yağı ve DADS muamelesi yapılmış, GPx aktivitesi ölçülmüştür. N-nitrozo dietilamin grubunda GPx aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı ($P<0,05$) bir şekilde arttığı, sarımsak yağı ve DADS muamelesi yapılan grupta ise GPx aktivitesinin anlamlı ($P<0,05$) bir şekilde azaldığı rapor edilmiştir. Wu ve arkadaşlarının [135] yaptığı bir çalışmada sıçan eritrosit ve karaciğerlerinde sarımsak ve sarımsak preparatlarının GPx enzim aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Eritrositlerde DATS en fazla olmak üzere sarımsak yağı, DAS, DADS'ın GPx düzeylerini anlamlı ölçüde artırdığını belirlemiş, karaciğerde ise GPx düzeylerinde anlamlı değişime neden olmadığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim bugularımızı desteklemektedir. Çünkü sarımsağın en önemli bileşeni olan ve yaptığımız uçucu yağ analizi sonucu *A. tuncelianum*'da da yüksek miktarda bulunan DADS'ın, GPx aktivitesini kontrol grubuna kıyaslandığında anlamlı bir şekilde azaltması *A. tuncelianum*'unda aynı etkiyi gösterebileceğini işaret etmektedir.

Total glutatyon, glutatyon peroksidaz enzimi tarafından, peroksit radikallerini temizlemek için kullanılan bir bileşiktir. DMBA ile indüklenmiş rat dokularında GSH düzeylerinin düşmesi anlamlı azalma olarak kabul edilmektedir. DMBA ile indüklenmiş ratlara verilen antioksidatif maddelerin ise oksidatif hasar sonucu düşmüş GSH düzeylerini yükseltmeleri anlamlı bir artış olarak rapor edilmiştir [31, 103]. DMBA uygulanmış ratların karaciğer dokusu total glutatyon düzeyleri tablo 4.15 ve şekil 4.24' te verildi. Çalışma sonuçlarımıza göre total GSH düzeyi K grubu ile karşılaştırıldığında DA-1 ve DA-2 ve DE gruplarında anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-1, DA-2 ve DE gruplarında, D grubuna göre anlamlı artma ($P<0,05$)

gözlemlendi. Ratların böbrek dokusu total GSH düzeyleri tablo 4.16 ve şekil 4.25' te verildi. Çalışma sonuçlarımıza göre total GSH düzeyi K grubu ile karşılaştırıldığında; DA-1 ve DA-2 gruplarında anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. Sadece D grubuyla karşılaştırıldığında DA-1 ve DE gruplarında anlamlı artma ($P<0,05$) gözlemlendi. Ratların bağırsak dokusu total GSH düzeyleri tablo 4.17 ve şekil 4.26' da verildi. Çalışma sonuçlarımıza göre total GSH düzeyi D grubunda, K grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) olmadı. DA-1 grubunda, K ve D grubuna göre anlamlı artış ($P<0,05$) oldu. DA-2 grubunda K, D ve DA-1 gruplarıyla kıyaslanınca anlamlı artış ($P<0,05$) tespit edildi. Kalp dokusu total GSH düzeyleri tablo 4.18 ve şekil 4.27'de verildi. Çalışma sonuçlarımıza göre gruplarda K ve D grubuna göre anlamlı bir fark bulunamadı ($P<0,05$). Fakat DA-1 grubunda DE grubuna göre anlamlı artma ($P<0,05$) oldu. Genel olarak bakıldığında D grubunda K grubuna göre, total GSH düzeyleri, kalp dokusu hariç diğer tüm dokularda anlamlı azalma saptandı. Manivasagam ve arkadaşlarının [134] yaptığı bir çalışmada N-nitrozo dietilamine ile indüklenen yetişkin erkek Wistar ratlara karbon tetra klorür eşliğinde sarımsak yağı ve DADS muamlesi yapılmış, GSH düzeyleri ölçülmüştür, Sarımsak yağının ve DADS'ın GSH düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı oranda ($P<0,05$) artırdığını rapor etmişlerdir. Wu ve arkadaşlarının [135] yaptığı bir çalışmada sıçan eritrosit ve karaciğerlerinde sarımsak ve preparatlarının total GSH düzeyleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Eritrositlerde DADS en fazla olmak üzere Sarımsak yağı, DAS, DADS'ın GSH düzeylerini anlamlı ölçüde artırdığını belirlemiş, karaciğerde ise GSH düzeylerinde anlamlı değişime neden olmadığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla paralel olarak bulunmuştur.

MDA serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipitlerin peroksidasyonunun son ürünüdür. DMBA ile indüklenmiş ratlarda MDA miktarının artması ve hayvanlara verilen antioksidatif maddeler ile miktarının azalması genel olarak olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir [12, 13, 25, 131].

DMBA uygulanmış ratların karaciğer dokusu MDA düzeyleri tablo 4.19 ve şekil 4.28' de verildi. Bu sonuçları D grubuna göre karşılaştırma yapıldığında DA-2 ve DE gruplarında MDA düzeyleri anlamlı azalma ($P<0,05$) gösterdi. Ratların böbrek dokusu MDA düzeyleri tablo 4.20 ve şekil 4.29' da verildi. Bu sonuçlara göre MDA düzeyleri DE grubunda K ve D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) gözlemlendi. Ratların bağırsak dokusu MDA düzeyleri tablo 4.21 ve şekil 4.30' da verildi. Bu sonuçlara göre D grubunda K grubuna göre anlamlı bir artma ($P<0,05$)

bulundu. DA-2 grubunda, D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) tespit edildi. Ratların kalp dokusu MDA düzeyleri tablo 4.22 ve şekil 4.31'de verildi. Bu sonuçlara göre D grubunda K grubuna göre anlamlı bir artma ($P<0,05$) gözlemlendi. DA-1, DA-2 ve DE gruplarında D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) tespit edildi. Genel olarak bakıldığında MDA düzeylerinde; sadece D grubunda anlamlı artma tespit edildi. Solmaz [131] tarafından Kastamonu sarımsağı için yapılan bir çalışmada, MDA düzeylerinde; sadece DMBA verilen grupta, kontrol grubuna göre anlamlı artmanın ($P<0,05$) olduğu taze, bekletilmiş ve tablet sarımsak verilen gruplarda ise DMBA grubuna göre anlamlı azalmanın ($P<0,05$) olduğu rapor edilmiştir. Banerjee ve arkadaşlarının [12] yaptığı bir çalışmada sulu sarımsak ekstraktının, tavşan karaciğer homojenatında bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA oluşumunu engellediği ortaya konmuştur. Bu sonuçlar bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Sonuçlarımızı (tablo 4.23-4.26), genel bir değerlendirme ile ele alıp literatür verilerine bakıldığında, beklendiği üzere D grubunda kontrol grubuna kıyasla tüm parametreler istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) bir şekilde değişime uğramıştır. DA-1, DA-2 ve DE gruplarında, tüm dokulardaki katalaz enzim aktivitelerinde K grubuna göre anlamlı azalma gerçekleşti. D grubu ile karşılaştırıldığında DA-1 ve DA-2 gruplarında böbrek ve bağırsak dokularının katalaz enzim aktivitesinde anlamlı artma ($P<0,05$) olurken karaciğer ve kalp dokusunda anlamlı artma ($P>0,05$) gözlenemedi. Süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinde genel olarak böbrek dokusu hariç tüm dokularda, K ve D grubuyla kıyaslandığında DA-1 grubunda anlamlı artma ($P<0,05$) gözlemlendi. Sadece karaciğer dokusunda çalışılan glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi ise, sadece D grubunda anlamlı artma ($P<0,05$), DA-1 ve DA-2 gruplarında D grubuna göre anlamlı azalma ($P<0,05$) belirlendi. Total glutatyon düzeyleri ise kalp ve bağırsak dokusu hariç diğer dokularda, D grubunda anlamlı azalma ($P<0,05$), DA-1 ve DA-2 ve DE gruplarında ise anlamlı artma tespit edildi. Lipit hasarının bir belirteci olan MDA düzeyleri ise; tüm dokularda, sadece D grubunda anlamlı artma ($P<0,05$) oldu. DA-1 ve DA-2 gruplarda özellikle karaciğer, bağırsak ve kalp dokularında anlamlı olarak düşmüştür ki bu da *A. tuncelianum* 'un dokuları, DMBA'nın oluşturduğu lipit hasarına karşı koruyabileceğinin bir göstergesi olmuştur. Bu sonuçlar *A. tuncelianum* 'un içerdiği antioksidatif maddeler ve kükürtlü bileşenlerin antioksidan enzim aktivitelerini olumlu bir şekilde etkilediğini ve vücut dokularını oksidatif hasara karşı, enzim aktivitelerini düzenleyerek koruyabileceğini göstermektedir. Bununda *A. tuncelianum* 'un içerisinde bulunan sülfürlü bileşikler,

özellikle de DAS, DADS ve DATS sayesinde gerçekleştiğini, literatür bilgilerine [134-136] dayanarak söyleyebiliriz. Yapılan bir çalışmada fare deri tümörü oluşumu üzerine diallil sülfid (DAS)'in etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, farelerin derisine karsinogenik etkisi bilinen DMBA bir saat boyunca uygulanmış. DAS uygulaması, DMBA uygulamasından bir saat önce ve bir saat sonra yapılmış. İstatistiksel analizler, karsinogen maddenin önce ve sonra verilmesi sonucunda, her iki denemede de olumlu sonuçlar alındığını ancak, DMBA muamelesinden bir saat sonra yapılan DAS uygulamasının tümör oluşumunu önlemede daha fazla etkili olduğunu ortaya koymuştur [25]. Normal sarımsak (*A. sativum*) için yapılan çalışmalarda da sonuçlar bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte olmuştur. *İn vitro* çalışmalar sarımsağın doza bağlı olarak serbest radikalleri yakalayabildiğini göstermektedir [11]. 7,12-DMBA ile indüklenen rat karaciğer dokusunda çeşitli sarımsak ekstraktlarının koruyucu etkilerinin incelenmesi üzerine çalışan, Solmaz ve arkadaşları 3 farklı sarımsak preparatı ile kontrol ve DMBA grubu olmak üzere toplam 50 rat üzerinde uygulama yapmış, her bir rattan alınan karaciğer örneklerinin enzim aktivitelerini ölçmüş ve 8-hidroksi, 2'deoksiguanozin ile DNA hasarı ve MDA miktarı ölçümü ile membran hasarını belirlemiş ve uygulanan tüm sarımsak preparatlarının etkili olduğu ancak, bazı parametreler açısından bekletilmiş sarımsak ekstraktlarının daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varmışlardır [131].

Sonuç olarak *A. tuncelianum*'un lezzeti yanında, yüksek değerde yararlı kükürtlü bileşenleri ve dokular için çok önemli yağ asidi bileşiklerini içerdiğini, antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve buna bağlı olarak antioksidan enzim düzeylerini artırıp lipit hasarını önlediğini ve böylece oksidatif hasarın neden olduğu hastalıkları önleyebileceğini söyleyebiliriz.

Bu çalışmanın sonuçları ışığında ileride yapılacak çalışmalar için aşağıdaki öneriler sıralanabilir;

- 1- Bu çalışmanın hayvan deneyleri daha uzun sürelerle desteklenmesi histopatolojik sonuçların daha iyi gözlemlenmesi için faydalı olabilir.
- 2- Bu çalışmada ki hücre kültürü deneylerinin direkt ekstraktlarla değil, *A. tuncelianum*'un etken maddeleri saflaştırılıp bu maddelerle yapılması daha iyi sonuçlar verebilir.

KAYNAKÇA

1. J.T. Pinto, R.S. Rivlin, *Antiproliferative effects of allium derivatives from garlic*, **J.Nutr.** 131: (2001) 1058-1060,
 2. A.H. Ensminger, *Foods and nutrition encyclopedia*. Volume 1, CRC Press, New York, 1994:, 749-750,
 3. E. Block, *The chemistry of garlic and onions*. **Scientific American**, 252: (1985) 94-99.
 4. L.D. Lawson, *Garlic: a review of its medicinal effects and indicated active compounds*. *Phytomedicines of Europe: Chemistry and Biological Activity*, **American Chemical Society**, Washington, Series 691(1998) 176-209.
 5. M.S. Rahman, *Allicin and Other Functional Active Components in Garlic: Health Benefits and Bioavailability*. **International Journal of Food Properties**, 10: (2007) 245-268.
 6. R.S. Rivlin, *Historical Perspective on the Use of Garlic*. **American Society for Nutritional Sciences**, 131: (2001) 951-954.
 7. C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga, *Antioxidant properties of phenolic compounds*, **Trends in Plant Science**, 2: (1997) 152-159.
 8. T. Etoh. P.W. Simon *Diversity, Fertility and seed production of garlic*. **Allium crop Science Chapter**, 5: (2002)101-111.
 9. N. Özhatay, *Diversity of bulbous monocots in turkey with special reference chromosome numbers*. **Pure apple chem.**, 74:4 (2002) 547-555.
 10. İ. Baktır, Tunceli sarımsağı'nın (*A. tuncelianum*) *in vitro* koşullarında çoğaltılması. In: Proceeding of GAP IV. Tarım Kongresi. 9-11 (2005) 52-54.
 11. T. Ekim, M. Koyuncu, M. Vural, H. Duman, Z. Aytac, ve N. Adıgüzel, *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı*, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Yayın No: 18 (2000) 118-118.
 12. S.K. Banerjee, K.P. Mukherjee., S.K. Maulik, *Garlic as an antioksidant: the good, the bad and the ugly*, **Phytotherapy Research**. 17: (2003) 97-106.
 13. S.K. Banerjee, S. Sood, A.K. Dinda, T.K. Das, S.K. Maulik, *Chronic oral administration of raw garlic protects against isoproterenol-induced myocardial necrosis in rat*, **Comparative Biochemistry and Physiology** 136: (2003) 377-386.
 14. G. Cao, R.L. Prior, *In vivo* antioxidant capacity: comperison of different analytical methods, **Free Radical Biology Medicine**, 27: (1999) 1173-1181.
 15. K. Başer, *Tıbbi bitkiler ve baharatların Dünya'da ve Türkiye'deki ticareti ve talep durumu*, **Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi**, 53: (1990) 18-21.
 16. M. Tanker, M.K. Sakar, *Fitokimyasal Analizler*, **Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları** No: 67: (1991) 1-13.
 17. G. R. Pillia, *Induction of apoptosis in human lung cancer cells by curcumin*, **Cancer Letters**. 208: (2004) 163-170.
 18. S. Oommen, R. J. Anto, G. Srinivas, D. Karunağaran, *Allicin (from Garlic) Induces Caspase-Mediated Apoptosis in Cancer Cells*, **European Journal of Pharmacology**. 485: (2004) 97-103.
- T. Baytop, *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*, İ.Ü. Yayınları No: 3255, İstanbul. 1984

20. 19.
21. E. Devrim, *Hücre kültürü yöntemleri ve çeşitli hücre serilerinde sarımsak bileşenlerinin etkileri* (Seminer). Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı 19-21(2004), 53-59.
22. H. Haciseferoğulları, M. Özcan, F. Demir, S. Çalışır, *Some nutritional and technological properties of garlic*. **J. Food Engineering**, 68: (2005) 463-469.
23. İ. Bektaş, *Hücre kültürü ortamında çörek otu (Nigella sativa) ve sarımsak (Allium sativum) ekstraktlarının DNA hasarı üzerine etkisinin araştırılması*, Doktora Tezi, Harran Üniversitesi Şanlıurfa, 2010,
24. C.J. Cavallito, J.H. Bailey, Allicin, *The antibacterial principle of Allium sativum. L. isolation, physical properties and antibacterial action*, **J. Am Chem.Soc**, 66: (1944) 1950-1951.
25. M. H. Sermenli, *Farklı Yöntemlerle Elde Edildi Sarımsak (Allium sativum L.) Ekstraktlarının Antimutagenik Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisan Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Aydın 2006.
26. S. Fırat, *Alkole bağlı karaciğer hasarının önlenmesinde sarımsak vitamin E ve melatoninin kıyaslaması*, Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Malatya 2005.
27. W. T. Stearn, *How many species of allium are known?* **Kew Magazine** 9:(1992) 180-182.
28. T.C. Millî Eğitim Bakanlığı, Sarımsak yetiştiriciliği mesleki eğitim ve öğretim sisteminin güçlendirilmesi projesi, ANKARA 2008.
29. M. Koyuncu, A. Güvenç, Türkiye'nin Endemik Allium L. (soğan) Türleri, Tübitak Projesi (Proje No: TBAG-1089), Ankara 1994.
30. E. Yazar, TDS'nda (*A. tuncelianum* (Kollman), N.Özhatay, D. Matthew, Ş. Şiraneci) *İn vitro kök ve sürgün ucu kültürü yoluyla çoğaltma*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Ankara 2006.
32. M. Uysal, Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan antioksidan dengesi etkileyen koşullar, Klinik Gelişim, 11: (1998) 336-341,
33. K. Takım, *Kiraz yaprağı ekstraktlarının antioksidan kapasitesinin ve oksidatif DNA hasarı üzerine etkisinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Malatya 2010,
34. M. İpek, A. İpek, E. Philipp, W. Simon, *Genetic characterization of A. tuncelianum: an endemic edible allium species with garlic odor*, **Scientia Horticulturae**, 115: (2008) 409-415.
35. U. Mercan, *Toksikolojide serbest radikallerin önemi*, **Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi**, 15: (2004) 91-96.
36. A. Bjorneboe, G.E. Bjorneboe, C.A. Drevon, *Absorption, transport and distribution of vitamin E*, **J. Nutr**, 120:3: (1990) 233-242.
37. E. Herrera, C. Barbas, *Vitamin E: action, metabolism and perspectives*, **J. Physiol Biochem**, 57:2: (2001) 43-56.
38. C. Anbuselvam, K. Vijayavel, M.P. Balasubramanian, *Protective effect of operculina turpet humagaint 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene induced oxidative stress with reference to breast cancer in experimental rats*, **Chemico-Biological Interactions**,

168: (2007) 229-236.

39. R. Padmavathi, P. Senthilnathan, D. Chodon, D. Sakthisekaran, *Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene-induced breast cancer in female sprague dawley rats*, **Life Sciences**, 78: (2006) 2820-2825.
40. H.J. Kayden, M.G. Traber, *Absorption, Lipoprotein transport and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans*, **J. Lipid Res**, 343: (1993) 343-58.
41. S. Yanbeyi, *Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri*, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, 1999.
42. G. Sigounas, A. Anagnostou, M. Steiner, *Dl-alpha-tocopherol induces apoptosis in erythroleukemia, prostate, and breast cancer cells*, **Nutr. Cancer**, 28: (1997) 30-35.
43. Y. He, M.M. Root, R.S. Parker, T.C. Campbell, *Effects of carotenoid-rich food extracts on the development of preneoplastic lesions in rat liver antioxidant status*, **Nutr. Cancer**, 27: (1997) 238-244.
44. A. Yalçın, *Antioksidanlar*, Klinik Gelişim, 11: (1998) 342-46.
45. A.N. TUFAN, *Tahıllarda spektrofotometrik toplam antioksidan kapasite tayini ve antioksidan bileşenlerin kapiler elektroforezle saptanması*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi İstanbul 2012.
46. S.K. Powers, J.L. Leeuwenburgh, *Exercise training induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity*, **Med Sci Sport. Ex.**, 31: (1999) 987-97.
47. G.F. Gaetani, S. Galiano, L. Canepa, A.M. Ferraris, H.N. Kirkman, *Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes*, **Experimental and Clinical Research in Hematology**, 73:1: (1989) 334-339.
48. G. Erenel, D. Erbaş, A. Arıcıoğlu, *Serbest radikaller ve antioksidan sistemler*, **Gazi Tıp Dergisi**, 3: (1992) 243-250.
49. İ. Akkuş, *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Mimoza Yayınları 38: (1995) 5-115.
50. S. Fırat, *Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon glutatyon peroksidaz, glutatyon- s-transferaz düzeyleri ve nasetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi*, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Ankara, 1997.
51. C. Michiels, M. Raes, O. Toussaint, J. Remacle, *Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for Cell survival against oxidative stress*, **Free Radic Biol Med**, 17(3): (1994) 235-48.
52. İ. Gülçin, *Determination of antioxidant activity, characterization of oxidative enzymes, and investigation of some in vivo properties of nettle (Urtica Dioica)*, PhD Thesis, Atatürk University Turkey, 2002.
53. B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*, 4. Edition. **New York: Oxford University Press**, 2007.
54. A. Meisler, M.E. Anderson, *Glutathione*, **Ann. Rev. Biochem.** 1: (1983) 711-760.
55. G.N. Landis, J. Tower, *Superoxide dismutase evolution and life span regulation*, **Mech. Ageing Dev**, 126: (2005) 365-379.

56. C.L. Rabideau, *Pesticide mixtures induce immunotoxicity: potentiation of apoptosis and oxidative stres*, **Blacksburg**, 185, Virginia
57. P. McGoff, A.C. Baziotis, R. Maskiewicz, *Analysis of polyethylene glycol modified superoxide dismutase by chromatographic, electrophoretic, light scattering, chemical and enzymatic methods*, **Chem. Pharm. Bull**, 36:8: (1988) 3079-3091.
58. R.J. Reiter, *Oxidative damage in the central nervous system, Protection by melatonin*, **Progress in Neurobiology**, 56: (1998) 359-384.
59. H. Tunçmen, *Pestisid Kalıntısı Bulunan İçme Sularıyları Beslenen Hayvanlarda Kan Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Düzeyleri*, Yüksek Lisans Tezi Süleyman Demirel Üniversitesi Isparta, 2004.
60. D.R. Davila, D.P. Davis, K. Campbell, J.C. Cambier, L.A. Zigmond, S.W. Burchiel, *Role of alterations in Ca^{2+} - associated signaling pathways in the immunotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons*, **J. Toxicol. Environ. Health** 45: (1995) 101-126.
61. H. Erer, M.M. Kıran, *Tümörlerin meydana geliş sebepleri*, Veteriner Onkoloji Kitabı, Konya, Damla Ofset A.Ş, ISBN 975-971, 35:38 (2000).
62. K. Frenkel, *Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidatif DNA damage*, **Pharmac. Ther**, 53: (1992) 127-166.
63. A. Karakaya, *Polisiklik aromatik hidrokarbonlara maruz kalan bir grup İşçide hücresel immün fonksiyonların incelenmesi*, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (98-03-00-07), 2003.
64. E.L. Cavalieri, E.G. Rogan, *The approach to understanding aromatic hydrocarbon carcinogenesis the central role of radical cations in metabolic activation*, **Pharmacology Therapeutics**, 552: (1992) 183-99.
65. M.R. Guerin, *Energy sources of polycyclic aromatic hydrocarbons*. In: *gelboin hv ts'o pop (editors), polycyclic hydrocarbons and cancer: chemistry*, Molecular Biology and Environment. Academic Press, New York, 1-42. 1978.
66. K. Batçioğlu, A.A. Karagözler, I.C. Öztürk, M. Genç, A. Bay, F. Öztürk, N. Aydoğdu, *Comparison of chemopreventive effects of vitamin E plus selenium versus melatonin in 7,12- Dimethylbenz[a]anthracene-induced mouse brain damage*, **Cancer Detection and Prevention**, 29: (2005) 54-58.
67. U.N. Das, *Is metabolic syndrome xan inflammatory condition?* **Exp Biol Med**, 227:11: (2002) 989-97.
68. V.G. Desai, D. Casciano, R.J. Feuers, A. Aidoo, *Activity profile of glutathione dependent enzymes and respiratory chain complexes in rats supplemented with antioxidants and treated with carcinogens*, **Biochemistry and Biophysics**, 394:2: (2001) 255-64.
69. P.M. Voorhoeve, *Micro RNAs: Oncogenes, tumor suppressors or master regulators of cancer heterogeneity?*, **Biochimica et Biophysica Acta** 1805: (2010) 72-86.
70. S. Ruacan, *Karsinogenez, Klinik Onkolojinin Biyolojik Temelleri*, XV. Ulusal Kanser Kongresi, Nisan, 23, Antalya, 5-11, 2003.
71. A. Garza-Ortiz, *Design, synthesis, characterization and biological studies of ruthenium and gold compounds with anticancer properties*, PhD thesis,

Leiden Institute of Chemistry, Faculty of Science, Leiden University, in Dutch, 2008.

72. D.A. Günes, A. Florea, F. Splettstoesser, D. Büsselberg, *Co-Application of arsenic trioxide (As_2O_3) and cisplatin (cddp) on human Sy-5y neuroblastoma cells has differential effects on the intracellular calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$) and cytotoxicity*, **Neurotoxicology**, 30: (2009) 194-202.
73. B.B. Aggarwal, D. Danda, S. Gupta, P. Gehlot, *Models for prevention and treatment of cancer: Problems vs promises*, **Biochemical Pharmacology**, 78: (2009) 1083-1094.
74. E. Sırma, *Bitkisel flavonoid silimarin ve fenolik asit stilbenoid resveratrolün karaciğer kanseri hücrelerindeki antikanser etkilerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknik Enstitüsü Gebze, 2013.
75. F. Wang, *Cancer cell culture-methods and protocols*, *In vitro cell. dev. biol.*, (langdon, s.p.), *methods in molecular medicine series*, human press, **Totowa, New Jersey**, 39: (2003) 476-480,
76. B. Michalke, *Platinum speciation used for elucidating activation or inhibition of Pt-containing anti-cancer drugs*, **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 1: (2010) 1-9.
77. A. Kaplan, *Dipirido [3,2-a:2',3'-c] fenazin ile platin(II) ve altın(III) komplekslerinin antiproliferatif ve sitotoksik etkilerinin in vitro araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Eskişehir, 2010.
78. S. Korkmaz, *Paklitaksel, Kersetin ve Berberinin A549, HeLa, HT-29, MCF-7 ve NIH3T3 Hücre Kültürlerinde Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi*, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Eskişehir, 2002.
79. Y. Cai, Q. Luo, M. Sun, H. Corke, *Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional chinese medicinal plants associated with anticancer*, **Life Sciences**, 74: (2004) 2157-2184.
80. M.A. Mosaddik, *In Vitro Cytotoxicity Of Tanshinones Isolated From Salvia Miltiorrhiza Bunge Against P388 Lymphocytic Leukemia Cells*, **Phytomedicine**, 10: (2003) 682-685.
81. J. H. Park, Y. K. Park, E. Park. *Antioxidative and antigeno-toxic effects of garlic (*Allium sativum* L.) prepared by different processing methods plant foods*, **Hum Nutr.** 64: (2009) 244-249.
82. M. Daoud, N. Dilsiz, H. Gumushan, G. Ulakoğlu, M. Bitiren, *Antitumor activity of an ethanol extract of nigella sativa seeds*. **Biologia Bratislava**. 59: (2004) 735-740,
83. Y. Shulka, P. Taneja, *Antimutagenic effects of garlic extract on chromosomal aberrations*, **Cancer Letters**. 176: (2002) 31-36.
84. S. Kasuga, N. Uda, E. Kyo, M. Ushijima, N. Morihara, Y. Itakura, *Pharmacologic activities of aged garlic extract in comparison with other garlic preparations*, **Journal of Nutrition**, 131: (2001) 1080-1084.
85. F. Luh, C.C. Sue, C.S. Yu, Chen, S.C, G.W. Chen, J.G. Chung, *Diallyl disulfide (DADS) Induced apoptosis undergo caspase-3 activity in human bladder cancer T24 cells*. **Food Chem Toxicol**, 42: (2004) 1543-1552.
86. A. Arora, K. Seth, Y. Shukla, *Reversal of P-glyco protein mediated multi*

- drug resistance by diallyl sulfide in K562 leukemic cells and in mouse liver, **Carcinogenesis**. 25: (2004) 941-949.
87. Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü (GTHİM), TDS'nin Korunması ve Geliştirilmesi Projesi, Tunceli 2011,
 88. P. Hirscheegger, J. Jakše, P. Trontelj, B. Bohanec, *Origins of Allium ampeloprasum horticultural groups and a molecular phylogeny of the section Allium (Allium: Alliaceae)*” **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 54 (2010) 488-497.
 89. J.G. Dubouzet, K. Shinoda, *Relationships among old and New world alliums according to its DNA sequence analysis*, **Theor. Appl. Genet.** 98: (1999) 422-33.
 90. O. Özkan, S. Gül, A. Kart, A. Çiçek, K. Kılıç, *In Vitro antimutagenicity of A. tuncelianum ethanol extract against induction of chromosome aberration by mutagenic agent mitomycin C*, **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.** 19: (2013) 259-262.
 91. Ö. Yumrutaş, S. Saygıdeğer, M. Doğan, *The in vitro antioxidant activity of A. tuncelianum: An endemic*, **Journal of Applied Biological Sciences**. 3: (2009) 61-64.
 92. R. Taşkın, U. Özgen, M. Babacan, E. Tuncel, M. Koyuncu, *Comparative study on antimicrobial activities of garlic and some allium species*, **Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University**, 26:2 (1997) 1015-3918.
 93. A. Sökmen, M. B. Jones, M. Ertürk, *The invitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants*, **Journal of Ethno Pharmacology**, 67: (1999) 79-86
 94. A.E. Greenberg, R.R. Trussell, L.S. Clesceri, M.A.H. Franson, *Standard methods for the examination. water and wastewaters*, Apha Awwa Wpcf. 16th ed., p. 300, Washington DC, 1985.
 95. A. Hara and N.S. Radin, *Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent*, **Anal Biochem**, 90:1 (1978) 420-426.
 96. W.W. Christie, *Gas Chromatography and Lipids*. The Oily Press. Glasgow, UK. 1990.
 97. D. Huang, B.Ou, R.L. Prior, *The chemistry behind antioxidant capacity assays, Reviews*, **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 53: (2005) 1841-1856.
 98. S. Mathew, T.E. Abraham, *In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extracts assayed by different methodologies*, **Food and Chemical Toxicology**, 44: (2006) 198-206.
 99. K. Güçlü, M. Altun, M. Özyürek, S.E.Karadem, R. Apak, *Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulfited-dried malatya apricot (Prunus Armeniaca) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods*, **Int. J. of food Sci. and Tec.**, 41:(2006) 76-85.
 100. N.J. Miller, A.T. Diplock, C. Rice-Evans, M.J. Davies, V. Gopinathan, A. Milner, *A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates*, **Clin. Sci.**, 84: (1993) 407-412.
 101. N. Smirnoff, Q.J. Cumbes, *Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Compatible Solutes*, **Phytochemistry**, 28: (1989) 1057-1060.

102. R.L. Prior, *Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage*. **Am. J. Clin. Nutr.** 78: (2003) 570-578.
103. T.C.P. Dinis, V.M.C. Madeira, L.M. Almeida, *Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers*, **Arch Biochem Biophys**, 315: (1994) 161-169.
104. B.C. Almroth, J. Sturve, A. Berglund, L. Forlin, *Oxidative damage in eelpout (zoarces viviparus), measured as protein carbonyls TBARS, as biomarkers*. **Aquatic Toxicology**, 73: (2005) 171-180.
105. B.S. Wang, S.S. Lin, W.C. Hsiao, J.J. Fan, L.F. Fuh, P.D. Duh, *Protective effects of an aqueous extract of Welsh onion green leaves on oxidative damage of reactive oxygen and nitrogen species*. **Food Chem**, 98: (2006) 149-157.
106. S. Maiti, S. K. Bhutia, *Antiproliferative and immunostimulatory protein fraction from edible mushrooms*, **Environ Toxicol Pharmacol**, 26(2): (2008) 187-191.
- G. Fotakis, J.A. Timbrell, *In vitro cytotoxicity assays: Comparison of*
107. *LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride*, **Toxicology Letters**, 160: (2006), 171-177.
108. H. Luck, *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie, Academic Press., New York, USA. (1963), 885-888.
109. R.A. Lawrance, R.F. Burk, *Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver*. **Biochem Biophys Res Commun**, 71(4): (1976) 952-58
110. J.M. McCord, I. Fridovich, *Superoxide dismutase: An enzymic function for Erythrocyte (Hemocytin)*, **The J of Biological Chemistry**, 22: (1969) 6049-6055.
111. P. Theodorus, H. Sies. *Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples*, **Met. Enzymol**, 77: (1981) 373-383.
112. M.M. Bradford, *A rapid and sensitive method for the quantitation of Microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*, **Anal. Biochem**, 72: (1976) 248-254.
113. A.J. Buege, S.D. Aust, *Microsomal lipid peroxidation*. **Methods Enzymol**, 52: (1978) 302-310.
114. M. Evren, M. Apan, C. Albayram, *Sarımsağın antimikrobiyel özellikleri*, Türkiye 9. Gıda Kongresi Bolu, 9:1 (2006) 2-4.
115. S. Akkan, *Tunceli Sarımsağının (A. tuncelianum, Kollmann, Özhatay, Matthew, Şiraneci 1995) pullu sazan (Cyprinus Carpio, Linnaeus 1758)'ın immun sistemi üzerine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Tunceli Üniversitesi Tunceli, 2013.
116. G. Kozan, *Kastamonu ve Denizli yerel bitkisinin (Allium Sativum L.) uçucu yağlarının kimyasal bileşimi, antibakteriyel ve antioksidan aktivitesinin karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Denizli, 2012.
117. S.N. Lee, N.S. Kim, and D.S. Lee, *Comparative study of extraction techniques for determination of garlic flavor components by gas chromatography-mass*

- spectrometry. **Analytica and Bioanalytical Chemistry**, 377: (2003) 749-756.
118. L. Jirovetz, W. Jäger, H.P. Koch, and G. Remberg, *Investigations of volatile constituents of the essential oil of Egyptian garlic (Allium sativum L.) by means of GC-MS and GC-FTIR. Lebensmittel-Untersuchung und- Forschung*, 194: (1992) 363-365.
 119. R.Z. Chekki, A. Snoussi, I. Hamrouni and N. Bouzouita, *Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (Allium sativum) essential oil and ethanol extract*, **Med. J. Chem.**, 3:4 (2014), 947-956.
 120. V.M. Dembitsky, S.A. Lafi and L.O. Hanus, *Occurrence of sulfur-containing fatty acids in Allium sativum* **Natural Product communication**, 2(7): (2007), 771-774.
 121. B. Ağbaş, D. Karakuş, R. Adigüzel, S. Keser, E. Demir, *TDS'nin (A. tuncelianum) toplam antioksidan özelliklerinin ve kuru madde içeriğinin normal sarımsak (A. sativum) ile karşılaştırılması*, **Tunceli Üniversitesi Bilim ve Gençlik Dergisi** 1: (2013) 2148-0273.
 122. R.T. Narendhirakannan, K. Rajeswari, *In vitro antioxidant properties of three varieties of Allium sativum L. extracts*, **E. J. Chem.**, 7: (2010) 573-579.
 123. S. F. Othman, S. Z. Idid, M. S. Koya, *Antioxidant Study of Garlic and Red Onion: A Comparative Study*, **P. J. Trop. Agric**: 34:2 (2011) 253-261.
 124. N. Matsuura, Y. Miyamae, K. Yamane, Y. Nagao, Y. Hamada, N. Kawaguchi, T. Katsuki, K. Hirata, S. Sumi, H. Ishikawaz, *Aged garlic extract inhibits angiogenesis and proliferation of colorectal carcinoma cells*, **J. Nutr.** 136: (2006): 842–846.
 125. J.G. Chung H.F. Lu, C.C. Yeh, K.C. Cheng., S.S. Lin., J.H. Lee, *Inhibition of N-acetyl transferase activity and gene expression in human colon cancer cell lines by diallyl sulfide*. **Food and Chemical Toxicology**. 42: (2004)195-202.
 126. C. Carrillo, M. M. Cavia and S. R. Alonso-Torre, *Antitumor effect of oleic acid; mechanisms of action. A review*, **Nutr Hosp.** 27(5): (2012),1860-1865.
 127. J.A. Menéndez, L. Vellon, R. Colomer, R. Lupu, *Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erbB-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification*. **Ann Oncol.** 16: (2005) 359-71.
 128. J.A. Menéndez, M. Barbacid, S. Montero, E. Sevilla, E. Escrich, M. Solanas *Effects of gamma-linolenic acid and oleic acid on paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells*. **Eur J Cancer.** 37 (3): (2001) 402-13.
 129. M. Turan, A. Sökmen, K. Karadayı, Z. Polat, M. Şen, *Sivas yöresine özgü bazı bitki özütlerinin anti neoplastik etkileri*, **C. Tıp Dergisi**, 32: (2010) 9-18.
 130. A. Singh, Y. Shulka, *Antitumour activity of diallyl sulfide on polycyclic aromatic Hydrocarbon-induced mouse skin carcinogenesis*, **Cancer Letters**. 131: (1998) 209-214.
 131. F. Ö. K. Solmaz, *7,12-DMBA ile indüklenen rat karaciğer dokusunda çeşitli sarımsak ekstraktlarının koruyucu etkilerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Malatya, 2011.

132. S.K. Banerjee, M. Maulik, S.C. Manchanda, A.K. Dinda, T.K. Das, S.K. Maulik, *Garlic-induced alteration in rat liver and kidney morphology and associated changes in endogenous antioxidant status*, **Food and Chemical Toxicology** 39 (2001) 793-797.
133. C. Borek, *Antioxidant health effects of aged garlic extract*. **The American Society for Nutritional Sciences**. 131:(2001) 3-10.
134. T. Manivasagam, P.I Subramanian, G. Suthakar, M.M. Essa, *The chemopreventive effect of diallyl disulphide on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis*, **J. Appl. Biomed.** 3:187-191 2005
135. Wu CC, Sheen LY, Chen HW, et al: *Effects of organosulfur compounds from garlic oil on the antioxidation system in rat liver and red blood cells*: **Food and Chem. Toxicol.** 39: (2001) 563-569.
136. M. Mihara, M. Uchiyama, *Determination of Malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric Asit test*, **Anal Biochem**, 86: (1978) 271-278.

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı: Kasım TAKIM

Doğum Tarihi: 20. 03. 1987.

Doğum Yeri: Erzurum

Adresi: Çöşnük mah. Çevre yolu üzeri Ebru Ap. No:16 Battalgazi/Malatya
İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
İnönü Üniversitesi Merkez Kampüsü 44280, MALATYA

E-posta: kasmtakm515@gmail.com

Eğitim Durumu:

2003-2004: Bursa Erkek Lisesi Mezunu

2004-2008: İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Lisans
Mezunu

2008-2010: İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Yüksek Lisans

2010-2015: İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Doktora

YAYINLANMIŞ BİLİMSEL ESERLERİ

Tez

1. **Yüksek Lisans Tezi:** Kiraz Yaprağı Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesinin ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi İnönü Üniversitesi 2010.

Makaleler

1. DNA damage protecting activity and invitro antioxidant potential of the methanol extract of cherry (*Prunus Avium* L). Journal of Medicinal Plant Research (JMPR/25.12.13/5350) 2014.
2. Comparison of Antioxidant Activity of *Rheum Ribes* Fruits and Seed Methanolic Extracts against Protein Oxidation and Lipid Peroxidation. Pakistan Journal of Biological Science 2015.

Bildiri ve Posterler

1. Qualitative and Quantitative Analysis By GC-MS of *A. tuncelianum* of Methanol Extract (PP-361 MESMAP-2 ABSTRACT April 22-25th, 2015 Antalya-TURKEY).
2. 0027 Determination of Antioxidant Capacity and Oxidative DNA Damage of Cherry Leaves (*Prunus Avium* L.) Ethanol Extracts. (13. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim, Kuşadası, Aydın, 2013).
3. 0312 Investigation of Ethanol Extracts of Kabaşi and Şekerpare Apricot (*Prunus Armeniaca* L.) Fruits Grown in Malatya Effect on Antioxidant Capacity and Oxidative DNA Damage (13. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim, Kuşadası, Aydın, 2013).
4. Determination of Antioxidant Capacity and Oxidative DNA Damage of Cherry Leaves (*Prunus Avium* L.) Methanol Extracts (25. Uluslararası Katılımlı Ulusal Kimya Kongresi Erzurum Atatürk Üniversitesi Dergisi 27 Haziran-2 Temmuz,

Erzurum 2011).

5. Kiraz Yaprığı (*Prunus Avium* L.) Farklı Ekstraktlarının (metano, etanol, etilasetat, sıcak su, soğuk su) Antioksidan kapasitesinin Belirlenmesi. (25. Ulusal Kimya Kongresi Erzurum Atatürk Üniversitesi 27 Haziran-2 Temmuz, Erzurum 2011).
6. Tunceli Dağ Sarımsağı Etanol Ekstraktının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu ve Antikanser Özelliğinin Antiproliferatif Aktivite ile Belirlenmesi (27. Ulusal Kimya Kongresi, 23-28 Ağustos, Çanakkale, 2015).
7. Tunceli Dağ Sarımsağı Sulu Etanol Ekstraktının Rat Kalp Dokusu Antioksidan Enzim Düzeyleri ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkisinin Belirlenmesi (27. Ulusal Kimya Kongresi, 23-28 Ağustos, Çanakkale, 2015).
8. Tunceli Sarımsağı (*A. tuncelianum*) Etanol-Su Ekstratının Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi (XIV. Ulusal. Spektroskopi kongresi 29-31 Mayıs Elazığ, 2015).
9. Cytotoxicity effect of *A. tuncelianum* of methanol extract (ISOPS-11). June 9-12, in Ankara, 2015.