

Protective Effect of 3-Benzoyl-7-Hydroxy Coumarin on Lipid Peroxidation and Minerals on Rat Liver Tissues Induced Oxidative Stress with Lead Acetate

Cihan ÇİTİL

Kafkas University, Atatürk Vocational School of Health Services, Kars, TÜRKİYE
ORCID ID: Cihan ÇİTİL: <https://orcid.org/0000-0002-3006-4035>

Received: 18.08.2022

Accepted: 03.10.2022

Published online: 07.10.2022

Issue published: 31.12.2022

Abstract: Lead is a toxic substance and damages human metabolism. Coumarin-derived substances have many effects such as antioxidant, anticancer, and antibacterial ones. In this study, the effects of 3-benzoyl-7-hydroxy coumarin on rat liver tissues under oxidative stress with lead acetate were investigated. In the study, rats were divided into 4 groups. Control group (K), Coumarin group (KUM), Lead acetate group (P) and Coumarin+Lead acetate group (KUMP) groups were formed. Malondialdehyde (MDA), lead (Pb), iron (Fe), zinc (Zn), manganese (Mn), and copper (Cu) levels were determined in the liver tissues of the rats. MDA level of P group increased compared to the other groups. A decrease was observed in the KUMP group compared to the P group MDA level. While the Pb and Fe levels of the P group increased compared to the K group, the Pb and Fe levels of the KUMP group decreased compared to the P group. As a result, it is concluded that the 3-benzoyl-7-hydroxy coumarin molecule protects the high lipid peroxidation, lead, and iron metabolism caused by lead acetate in the liver.

Keywords: Sprague-Dawley, toxic, antioxidant, malondialdehyde.

Kurşun Asetat İle Oksidatif Stres Oluşturulan Rat Karaciğer Dokuları Üzerine 3-Benzoil-7-Hidroksi Kumarin'in Lipit Peroksidasyon ve Mineraller Üzerine Koruyucu Etkisi

Öz: Kurşun, toksik bir maddedir ve insan metabolizmasına hasar vermektedir. Kumarin türevli maddelerin antioksidant, antikanser ve antibakteriyel gibi birçok etkileri vardır. Bu çalışmada, kurşun asetat ile oksidatif stres oluşturulan rat karaciğer dokuları üzerine 3-benzoil-7-hidroksi kumarin'in etkileri araştırıldı. Çalışmada ratlar 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu (K), Kumarin grubu (KUM), Kurşun asetat grubu (P) ve Kumarin+Kurşun asetat grubu (KUMP) grupları oluşturuldu. Ratların karaciğer dokularında malondialdehit (MDA), kurşun (Pb), demir (Fe), çinko (Zn), mangan (Mn) ve bakır (Cu) düzeyleri tespit edildi. P grubu MDA düzeyi diğer gruplara göre arttı. P grubu MDA düzeyine göre KUMP grubunda azalma gözlemlendi. P grubu Pb ve Fe düzeyi K grubuna göre artarken, KUMP grubu Pb ve Fe düzeyi P grubuna göre azaldı. K grubu Mn düzeyi diğer gruplara göre azaldığı gözlemlendi. Sonuç olarak kurşun asetatın karaciğerde oluşturduğu yüksek lipit peroksidasyonu, kurşun ve demir metabolizmasını 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün koruduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Sprague-Dawley, toksik, antioksidant, malondialdehit.

1. Giriş

Kurşun, toksik bir maddedir ve endüstride yoğun olarak kullanılmaktadır. İnsan ve hayvan metabolizmasını olumsuz olarak etkilemektedir. İnsanlar bu toksik maddeyi solunum, içme suyu ve yiyecekler yoluyla metabolizmasına alır (Fischbein, 1992; Xiang et al., 2010). Kurşun toksisitesi özellikle kan, böbrek ve karaciğer dokularında etkilidir. Uzun dönem kurşun toksisitesine maruz kalınmada karaciğer dokusu yüksek düzeyde hasar görür (Lockitch, 1993; Patra et al., 2001; Özkaya et al., 2016). Kurşunun neden olduğu karaciğer hasarı birkaç mekanizma ile açıklanmıştır. Kurşun, hepatik biyotransformasyon ve aktiviteyi, kolesterol metabolizmasını ve nükleik asit sentezindeki değişikliklerden kaynaklanabilecek hepatosit fonksiyon bozukluğunu indüklemektedir (Mudipalli, 2007; Abdel Moneim et al., 2011). Kurşunun karaciğer hücrelerinde biriktiği; hücresel alanda nekroz ve hidropik dejenerasyon gibi yapısal düzensizliklere neden olduğu bildirilmiştir (Özkaya et al., 2016). Ayrıca kurşun ile indüklenen hepatotoksitenin reaktif oksijen türlerini arttırdığı öne sürülmüştür (Aykin-Burns et al., 2003; Abdel Moneim et

al., 2011). Kurşun, lipit peroksidasyona neden olmaktadır. Ayrıca, kurşunun antioksidan enzim aktivite sistemine negatif etkileri vardır (Oyagbemi et al., 2014; Özkaya et al., 2018).

Kumarinler polifenolik yapıya sahiptir ve "2H-1-benzopyran-2-one" yapısındadır. Bu yapılar bitkilerde yoğun olarak bulunduğu gibi laboratuvar şartlarında da sentezleri yapılmaktadır (Venugopala et al., 2013). Kumarinlerin kimyasal yapıları yoğun π -konjuge bağ sistemlerine sahiptir. Özellikle molekülün ana iskeletine farklı konumlarda ve farklı türden fonksiyonel grupların bağlanması moleküle önemli işlevsellikler kazandırır. Ayrıca, kumarinlerin fotofiziksel, kimyasal ve spektroskopik gibi özelliklerinin değişmesine ve farklı uygulama alanlarının gelişmesine katkı sağlamaktadır (Kurt & Koca, 2016; Kurt et al., 2016; Kurt & Topsoy, 2017; Kurt et al., 2019). 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülü hidroksikumarinler yapısındadır. Hidroksikumarinler fenolik yapıda olup serbest radikalleri temizlemede etkilidir. Antioksidan özelliği olan bu yapıların metal şelatör yapma özellikleri de bulunmaktadır (Lien et al., 1999).

Kumarin molekülleri tarçın, sinameki yaprağı, yeşil çay ve hindiba gibi birçok bitki yapısında bulunmaktadır (Skehan et al., 1990). Bu moleküllerin antikoagülan (Poole & Poole, 1994), anti_HIV (Patil et al., 1993; Spino et al., 1998), antibakteriyel (Rosselli et al., 2009), antioksidan (Whang et al., 2005), antihipertansif (Crichton & Waterman, 1978), antitüberküler (Shin et al., 2010), antikonvülsan (Baek et al., 2000), antifungal (Teng et al., 1994), antihiperglisemik (Fort et al., 2000), antiinflamatuvar (Piller, 1975) ve antikanser (Luo et al., 2011) özellikleri vardır.

İnsan metabolizmasında minerallerin düzeyleri çok önemlidir. Özellikle enzimlerin yapısında kofaktör rolünde yol alırlar. Ayrıca antioksidan etkileri de mevcuttur. Minerallerin metabolizmada eksikliği ve fazlalığı hastalıklara yol açar (Yang et al., 2016).

Oksidatif strese karşı fraxin, esculetin ve agosyllin (Venugopala et al., 2013) gibi kumarinlerin etkinliği çalışılmış olup, 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün ise oksidatif strese karşı etkinliğinin çalışmadığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda kurşun asetat ile oksidatif stres oluşturulan sıçan karaciğerlerinde lipid peroksidasyon düzeyi ve mineral düzeyleri üzerine 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün etkinliği araştırıldı.

2. Materyal ve Metod

2.1. Deneysel Hayvanlar ve Deneysel Protokol

Çalışmanın deney protokolü Adıyaman Üniversitesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Etik kurul karar no:2020/066). Deney hayvanlarının bakım ve uygulamaları ulusal ve uluslararası yasalara uygun olarak yapıldı. Deneyde 28 adet yetişkin (250±10 gr) *Sprague-dawley* erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar Adıyaman Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezinde temin edildi. Sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı. Bu gruplar Kontrol (K), 3-benzoil-7-hidroksi kumarin (KUM), Kurşun asetat (P) ve Kurşun asetat+3-benzoil-7-hidroksi kumarin (KUMP) gruplarıdır. Kurşun asetat 500 ppm olacak şekilde içme sularına karıştırılarak sıçanlara uygulaması yapıldı (Bennet et al., 2007). Kumarinler ile ilgili çalışmalarda uygulanan doz aralığı 10-35 mg/kg düzeylerindedir (Khan et al., 2004a). Bu nedenle çalışmada sıçanlara 20 mg/kg olacak şekilde gün aşırı oragastrik uygulaması yapıldı. Deneysel uygulamalar 30 gün boyunca sürdü. Deney uygulamaları tamamlanınca sıçanlara servikal dislokasyon uygulanarak elde edilen karaciğer dokuları çıkartıldı. Dokular deneysel uygulamalara kadar -80°C'de muhafaza edildi.

2.2. Karaciğer Dokusu Homojenizasyonu

Karaciğer dokuları 0.1 M potasyum fosfat tamponu, 0.15 M KCl, 1mM EDTA ve 1 mM DTT çözeltisinde 1:4 total doku ağırlığı oranında olacak şekilde homojenizasyonu gerçekleştirildi. Homojenizasyon işlemi Heidolph RZ 2021 markalı cihazla yapıldı. Homojenatlar 4°C'de 30 dakika süresince 15.000 g devrinde Hettich ROTINA 420 R cihazında gerçekleştirildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar elde edildi. Elde edilen süpernatantlarda lipid peroksidasyon düzeyini teşkil eden malondialdehit (MDA) düzeyleri tespit edildi.

2.3. Malondialdehit Düzeyleri Tespiti

MDA düzeyi Placer et al. (1966)'un belirttiği yöntemle göre yapıldı. 500 µL homojenat üzerine % 15 trikloroasetik asit, %0.375 thiobarbitrik asit ve 0.25 N HCl (1:1:1,w/v) olacak şekilde ilave edildi. Karışım su banyosunda 100°C'de 30 dakika ısıtıldı. Karışım oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 15 dakika 15.000 g devirde santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant örnekleri mikropilaya kuyucuklarına aktararak 532 nm'de MDA düzeyleri tespiti yapıldı. MDA düzeyleri (nmol/g ıslak doku ağırlığı) olarak ifade edildi (Placer et al., 1966).

2.4. Karaciğer Dokusu Mineral Analizleri

Sıçanların karaciğer dokularındaki kurşun (Pb), demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn) ve mangan (Mn) düzeylerinin ölçümü, İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrofotometrisi (ICP-MS) cihazında yapıldı. Karaciğer dokuları (250 mg) %65'lik 5 mL HNO₃ ile mikrodalgada parçalandı. Elde edilen çözeltideki mineral düzeyleri ICP-MS cihazında yapıldı (Özkaya & Türkan, 2021). Mineral düzeyleri ppb olarak verilmiştir.

2.5. 3-Benzoil-7-Hidroksi Kumarin Molekülü Sentezi

3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülü sentezi için, etil benzoil asetat (3.844 g), 2,4-dihidroksibenzoil (2.762 g), 50 mL aseton ve üç damla piperidin bir magnetik karıştırıcı üzerinde 2 saat süreyle reflaks edildi. Karışım aşırı metanol içine aktararak 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün çökmesi sağlandı. Bu molekül etanolde kristallendirilerek saflaştırıldı (Kurt et al., 2018).

3. Bulgular

Karaciğer dokusu mineral ve MDA düzeyleri Tablo'1 de gösterilmiştir. P grubu Pb ve Fe mineral düzeyleri K grubuna göre arttığı tespit edildi (p<0.001). KUMP grubu Pb ve Fe düzeyleri P grubuna göre azaldığı gözlemlendi (p<0.001). Tüm grupların Zn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi (p>0.05). K grubu Mn düzeyleri diğer gruplara göre düşük çıktığı saptandı (p<0.05, p>0.001). Tüm grupların Cu düzeyleri arasında istatistiksel fark olmamasına rağmen, P grubu Cu düzeyinin diğer gruplara göre nispi oranda arttığı gözlemlendi (p>0.05). P grubu MDA düzeyi diğer gruplara göre yüksek çıktığı tespit edildi (p<0.001). KUMP grubu MDA düzeyi P grubuna göre azaldığı gözlemlendi (p<0.001).

4. Tartışma

Bu çalışmada, kurşun asetat ile oksidatif stres oluşturulan sıçan karaciğer dokuları üzerine 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün lipid peroksidasyon ve bazı mineraller üzerine etkinliği araştırıldı. Çalışmada, kurşun asetat verilen grubun MDA düzeyi kontrol grubuna göre yüksek çıktığı tespit edildi. Kumarin grubu MDA düzeyi kontrol grubuyla istatistiksel fark gözlenmezken, kombinasyonlu grubun MDA düzeyi kurşun asetat grubundan düşük çıktığı gözlemlendi.

Kurşun, metabolizmadaki dokularda oksidatif stresi arttırarak antioksidan savunma sistemini olumsuz etkilemektedir. Ayrıca, dokulardaki mineral metabolizmasının işlevselliğini bozmaktadır. Hücresel faaliyetler için eser elementlere ihtiyaç duyar (Alonso et al., 2004; Mansouri & Cauli, 2009).

Sıçanlara 500 ppm düzeyinde 8 hafta süresince kurşun asetat uygulaması sonucunda karaciğer

dokusunun MDA düzeyinin arttığı rapor edilmiştir (Wang et al., 2012; Yoloğlu, 2017).

Tablo 1. Karaciğer Dokusu Mineral ve MDA Düzeyleri

Table 1. Liver Tissue Mineral and MDA Levels

Mineraller	K	KUM	P	KUMP
Pb	61.62±3.22	0.10±0.02 ^z	1682.82±62.17 ^c	1345.41±63.57 ^{cz}
Fe	102735.02±1799.22	106244.92±1838.25 ^z	120946.81±948.65 ^c	95708.16±2706.18 ^z
Zn	30304.25±551.98	28535.76±377.48	28641.77±300.82	29834.86±795.51
Mn	2138.92±114.05	2536.85±61.31 ^a	2801.55±75.78 ^c	2759.11±76.09 ^c
Cu	5391.27±357.76	5340.40±150.75	5803.15±71.50	5332.67±205.08
MDA	45.78± 4.12	48.51±6.75 ^z	96.64±8.56 ^c	61.23±5.78 ^{az}

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

P grubuna göre karşılaştırma. x: p <0.05, y: p <0.01, z: p <0.001

Anlamsal farkın olmaması: p>0.05

Başka bir çalışmada, 4 hafta süresince 500 ppm kurşun asetat uygulaması yapılan erkek sıçanların karaciğer dokusu MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir (Özkaya et al., 2016; Yoloğlu, 2017).

Kurşun toksisitesi ile ilgili önemli bir çalışmada, kurşunun sıçan karaciğer dokularında süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve singlet oksijen düzeylerini önemli düzeyde arttığı belirtilmiştir. Ayrıca, protein, lipit ve amino asitlerin önemli düzeyde hasar gördüğü bildirilmiştir (Liu et al., 2011; Liu et al., 2012; Yoloğlu, 2017).

Son yıllarda yapılan önemli bir çalışmada, kurşun asetat 500 ppm olarak, 20 gün süresince sıçanlara uygulanmıştır. Deneysel sonuçlarında sıçanların karaciğer dokularında MDA düzeyi artarken antioksidan enzimlerden glutatyon redüktaz (GR), Glutatyon S-transferaz ve karboksil esteraz (Ces) enzim aktivitelerinin önemli düzeyde azaldığı rapor edilmiştir (Özkaya et al., 2018).

Çalışmamızda kurşun-asetatın arttırdığı MDA düzeyini 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün azalttığı tespit edildi. Ayrıca, kurşun asetat grubunun Pb, Fe ve Mn düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi. Kombinasyonlu grubun Pb ve Fe düzeylerini kurşun asetat grubuna göre azalttığı tespit edildi. Bireysel kumarin grubundan Pb düzeyinin ise kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi. Ayrıca, kurşun grubu Cu düzeyi diğer gruplara göre nispi oranda arttığı tespit edilirken, kombinasyonlu grubun Cu düzeyi ise kontrol grubu seviyesine düştüğü gözlemlendi. Yapılan birçok çalışmada, kurşun maruziyetine kalmış hayvan dokularında (böbrek, karaciğer ve beyin) kurşun seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (Xia et al., 2010; Mehana et al., 2012; Özkaya et al., 2018).

Kurşun uygulanan sıçan karaciğer, kalp ve testis dokularında Fe düzeyinin arttığı bildirilirken, karaciğer ve kalp dokularında Cu ve Zn düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel fark olmadığı rapor edilmiştir (Aksu et al., 2017).

Çalışmada 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün kurşun asetatın peroksidan etkilerine karşı

lipit peroksidasyon ve bazı mineral düzeylerine karşı antioksidan özellikler sergilediğini göstermektedir. 3-benzoil-7-hidroksi kumarin'in karaciğer dokularında hem Pb ve Fe konsantrasyonlarını düzelttiğini hem de MDA düzeylerine pozitif etki gösterdiğini tespit ettik.

Kumarinlerin antioksidan aktiviteleri serbest radikalleri temizleme ve metal iyonlarını şelatlama kabiliyetlerinden kaynaklanmaktadır. Kumarinlerin bu özellikleri moleküler yapılarından kaynaklanmaktadır (Khan et al., 2004b).

Kumarinlerin yapılarında bulunan hidroksi, asetoksi ve metoksi grupları antioksidan kapasitelerini arttırmaktadır. Bu fonksiyonel gruplar kumarinlerin detoksifikasyon fonksiyonları için önemlidir (Khan et al., 2004b).

Yapılan bir çalışmada kumarin özelliği yapısındaki esculetin ve scaparonone'nin hepatoprotektif etkileri olduğu rapor edilmiştir (Atmaca et al., 2011).

Yapılan başka bir çalışmada ferrik nitrotriasetat (Fe-NTA) ile oluşturulan oksidatif strese karşı 1,2- benzopiron kumarin molekülün etkisi araştırılmıştır. Fe-NTA'nın dokularda MDA düzeyini arttırdığı ve antioksidan enzim sistemini olumsuz etkilediği bildirilirken, 1,2- benzopiron molekülünün Fe-NTA'nın oluşturduğu bu olumsuz etkileri düzelttiği rapor edilmiştir (Khan et al., 2004b).

Ayrıca birçok çalışmada, kumarinlerin çeşitli oksidatif stres ajanlarına karşı antioksidan etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Tseng, 1991; Wu et al., 2007; Lin et al., 2008).

Karbondotetraklorür'ün sıçan karaciğerlerinde oluşturduğu hasarlara karşı bazı kumarinlerin antioksidan etki göstererek karaciğer hasarını engellediği rapor edilmiştir (Atmaca et al., 2011).

Fraxin, esculetin, agasillin, osthol ve grandivittin gibi kumarinlerin serbest radikalleri süpürücü etkileri bildirilmiştir (Venugopala et al., 2013).

Sonuç olarak, kurşun asetatın neden olduğu yüksek lipit peroksidasyonu, kurşun ve demir metabolizmasını olumsuz etkilemiş olup, bu negatif etkiyi 3-benzoil-7-hidroksi kumarin molekülünün düzelttiğini düşünmekteyiz.

Teşekkür: Bu çalışmada, Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA, Prof. Dr. Murat KOCA ve Prof. Dr. Adnan KURT'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Etik kurul onayı: Bu çalışma, hayvan deneylerinin etik standartlarına uygun olarak yapılmıştır. Çalışma için yasal araştırma etik kurul onay izinleri Adıyaman Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Etik kurul karar no:2020/066).

Çıkar çatışması: Yazar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Kaynaklar

- Abdel Moneim, A.E., Dkhil, M.A., & Al-Quraishy, S. (2011). The redox status in rats treated with flaxseed oil and lead-induced hepatotoxicity. *Biological trace element research*, 143(1), 457-467. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8882-z>
- Aksu, D.S., Sağlam, Y.S., Yildirim, S., & Aksu, T. (2017). Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice on kidney, liver, heart and testis histopathological changes, and the tissues lipid peroxidation and antioxidant status in lead acetate-treated rats. *Cellular and molecular biology*, 63(10), 33-42. <https://doi.org/10.14715/cmb/2017.63.10.5>
- Alonso, M.L., Montaña, F.P., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J., & Bedito, J.L. (2004). Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *Biometals*, 17(4), 389-97. <https://doi.org/10.1023/B:BIOM.0000029434.89679.a2>
- Atmaca, M., Bilgin, H.M., Obay, B.D., Diken, H., Kelle, M., & Kale, E. (2011). The hepatoprotective effect of coumarin and coumarin derivatives on carbon tetrachloride-induced hepatic injury by antioxidative activities in rats. *Journal of physiology and biochemistry*, 67(4), 569-576. <https://doi.org/10.1007/s13105-011-0103-5>
- Aykin-Burns, N., Laegeler, A., Kellogg, G., & Ercal, N. (2003). Oxidative effects of lead in young and adult Fisher 344 rats. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 44(3), 417-420. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-2023-4>
- Baek, N.I., Ahn, E.M., Kim, H.Y., & Park, Y.D. (2000). Furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica*. *Archives of pharmacological research*, 23(5), 467-470. <https://doi.org/10.1007/BF02976574>
- Bennet, C., Bettaiya, R., Rajanna, S., Baker, L., Yallapragada, P.R., Brice J.J., ..., & Bokara, K.K. (2007). Region specific increase in the antioxidant enzymes and lipidperoxidation products in the brain of rats exposed to lead. *Free radical research*, 41(3), 267-273. <https://doi.org/10.1080/10715760600889855>
- Crichton, E.G., & Waterman, P.G. (1978). Dihydromamma c/ob: a new coumarin from the seed of *Mammea africana*. *Phytochemistry*, 17(10), 1783-1786. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)88695-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)88695-1)
- Fischbein, A. (1992). Occupational and environmental lead exposure. In: Ed. Rom W.N. *Environmental and occupational medicine*, 2nd Ed. Boston: Little Brown & Co, 735-758.
- Fort, D., Rao, K., Jolad, S., Luo, J., Carlson, T., & King, S. (2000). Antihyperglycemic activity of *Teramnus labialis* (Fabaceae). *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 6(6), 465-467. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80075-6](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80075-6)
- Khan, N., Sharma, S., & Sultana, S. (2004a). Attenuation of potassium bromate-induced nephrotoxicity by coumarin (1,2-benzopyrone) in Wistar rats: chemoprevention against free radical-mediated renal oxidative stress and tumor promotion response. *Redox report: communications in free radical research*, 9(1), 19-28. <https://doi.org/10.1179/135100004225003860>
- Khan, N., Sharma, S., & Sultana, S. (2004b). Amelioration of ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) induced renal oxidative stress and tumor promotion response by coumarin (1,2-benzopyrone) in Wistar rats. *Cancer letters*, 210(1), 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.01.011>
- Kurt, A., & Koca, M. (2016). Synthesis, characterization and thermal degradation kinetics of poly(3-acetylcoumarin-7-yl-methacrylate) and its organoclay nanocomposites. *Journal of Engineering Research*, 4(4), 46-65.
- Kurt, A., Kaya, M., & Koca, M. (2016). Synthesis and characterization of coumarin derived surface active monomer. *Adıyaman University Journal of Science*, 6(1), 110-121.
- Kurt, A., & Topsoy, O.K. (2017). Preparation of novel coumarin cyclic polymer/montmorillonite based nanocomposites. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 90(12), 2019-2027. <https://doi.org/10.1134/S1070427217120199>
- Kurt, A., Ayhan, A.F., & Koca, M. (2018). Kumarin Türevli Kopolimerlerin Sentezi ve Karakterizasyonu. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(3), 880-887. <https://doi.org/10.16984/saufenbilder.322354>
- Kurt, A., B. Gunduz, B., & Koca, M. (2019). A detailed study on the optical properties of 3-benzoyl-7-hydroxy coumarin compound in different solvents and concentrations. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 38(2), 227-236. <https://doi.org/10.20450/mjccce.2019.1403>
- Lien, E.J., Ren, S., Bui, H.H., & Wang, R. (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3-4), 285-294. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00190-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00190-7)
- Lin, H.C., Tsai, S.H., Chen, C.S., Chang, Y.C., Lee, C.M., Lai, Z.Y., & Lin, C.M. (2008). Structure-activity relationship of coumarin derivatives on xanthine oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *Biochemical pharmacology*, 75(6), 1416-1425. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.11.023>
- Liu, C.M., Ma, J.Q., & Sun, Y.Z. (2011). Protective role of puerarin on lead-induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats. *Food and chemical toxicology*, 49(12), 3119-3127. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.09.007>
- Liu, C.M., Ma, J.Q., & Sun, Y.Z. (2012). Puerarin protects the rat liver against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(6), 575-582. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.11.016>
- Lockitch, G. (1993). Perspectives on lead toxicity. *Clinical Biochemistry*, 26(5), 371-381. [https://doi.org/10.1016/0009-9120\(93\)90113-K](https://doi.org/10.1016/0009-9120(93)90113-K)
- Luo, K., Sun, J., Chan, J.Y.W., Yang, L., Wu, S., Fung, K.P., & Liu, F. (2011). Anticancer effects of imperatorin isolated from *Angelica dahurica*: induction of apoptosis in HepG2 cells through both death-receptor-and mitochondriamediated pathways. *Chemotherapy*, 57(6), 449-459. <https://doi.org/10.1159/000331641>
- Mansouri, M.T., & Cauli, O. (2009). Motor alterations induced by chronic lead exposure. *Environmental toxicology and pharmacology*, 27(3), 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.01.003>
- Mehana, E.E., Meki, A.R., & Fazili, K.M. (2012). Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats. *Experimental and toxicologic pathology*, 64(4), 291-295. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.09.001>
- Mudipalli, A. (2007). Lead hepatotoxicity & potential health effects. *The Indian journal of medical research*, 126(6), 518-527.
- Oyagbemi, A., Saba, A., Omobowale, T., Akinrinde, A., Ogunpolu, B., & Daramola, O. (2014). Lack of reversal from lead acetate-induced hepatotoxicity, free radical generation and oxidative stress in Wistar rats (1139.17). *The FASEB journal*, 28(1 supplement). https://doi.org/10.1096/fasebj.28.1_supplement.1139.17
- Özkaya, A., Sahin, Z., Dag, U., & Ozkaraca, M. (2016). Effects of Naringenin on Oxidative Stress and Histopathological Changes in the Liver of Lead Acetate Administered Rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 30(5), 243-248. <https://doi.org/10.1002/jbt.21785>
- Özkaya, A., Sahin, Z., Kuzu, M., Sağlam, Y.S., Ozkaraca, M., Uckun, M., ... & Yologlu, S. (2018). Role of geraniol against lead acetate-mediated hepatic damage and their interaction with liver carboxylesterase activity in rats. *Archives of physiology and biochemistry*, 124(1), 80-87. <https://doi.org/10.1080/13813455.2017.1364772>
- Özkaya, A., & Türkan, K. (2021). Protective Effects of 3-benzoyl-7-hydroxy Coumarin on Liver of Adult Rat Exposed to Aluminium Chloride. *Acta chimica Slovenica*, 68(1), 222-228. <http://doi.org/10.17344/acsi.2020.6390>
- Patil, A.D., Freyer, A.J., Eggleston, D.S., Haltiwanger, R.C., Bean, M.F., Taylor, P.B., ..., & Bartus, H.R. (1993). The inophyllums, novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase isolated from the Malaysian tree, *Calophyllum inophyllum* Linn. *Journal of medicinal chemistry*, 36(26), 4131-4138. <https://doi.org/10.1021/jm00078a001>
- Patra, R.C., Swarup, D., & Dwivedi, S.K. (2001). Antioxidant effects of alpha tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology*, 162(2), 81-88. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00345-6](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00345-6)
- Piller, N.B. (1975). A comparison of the effectiveness of some anti-inflammatory drugs on thermal oedema. *British journal of experimental pathology*, 56(6), 554-559.
- Placer, Z.A., Cushman, L.L., & Johnson, B.C. (1966). Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems.

- Analytical biochemistry*, 16(2), 359-364. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90167-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90167-9)
- Poole, S.K., & Poole, C.F. (1994). Thin-layer chromatographic method for the determination of the principal polar aromatic flavour compounds of the cinnamons of commerce. *Analyst*, 119, 113-120. <https://doi.org/10.1039/AN9941900113>
- Rosselli, S., Maggio, A.M., Faraone, N., Spadaro, V., Morris-Natschke S.L., Bastow, K.F., & Bruno, M. (2009). The cytotoxic properties of natural coumarins isolated from roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae) and of synthetic ester derivatives of aegelinol. *Natural product communications*, 4(12), 1701-1706. <https://doi.org/10.1177/1934578X0900401219>
- Shin, E., Choi, K.-M., Yoo, H.S., Lee, C.K., Hwang, B.Y., & Lee, M.K. (2010). Inhibitory effects of coumarins from the stem barks of *Fraxinus rhynchophylla* on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 33(9), 1610-1614. <https://doi.org/10.1248/bpb.33.1610>
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., ..., & Boyd, M.R. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute*, 82(13), 1107-1112. <https://doi.org/10.1093/jnci/82.13.1107>
- Spino, C., M. Dodier, M., & Sotheeswaran, S. (1998). Anti-HIV coumarins from *Calophyllum* seed oil. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 8(24), 3475-3478. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(98\)00628-3](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(98)00628-3)
- Teng, C.M., Lin, C.H., Ko, F.N., Wu, T.S., & Huang, T.F. (1994). The relaxant action of osthole isolated from *Angelica pubescens* in guinea-pig trachea. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 349(2), 202-208. <https://doi.org/10.1007/BF00169838>
- Tseng, A. (1991). *Proc. American Association for Cancer Research*, 32, Abstract No. 2257
- Venugopala, K.N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013). Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed Research International*, 963248, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2013/963248>
- Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z., & Liu, X. (2012). Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological trace element research*, 146(3), 354-359. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9268-6>
- Whang, W.K., Park, H.S., Ham, I., Oh, M., Namkoong, H., Kim, H.K., ..., & Park, Y.G. (2005). Natural compounds, fraxin and chemicals structurally related to fraxin protect cells from oxidative stress. *Experimental & molecular medicine*, 37(5), 436-446. <https://doi.org/10.1038/emm.2005.54>
- Wu, C.R., Huang, M.Y., Lin, Y.T., Ju, H.Y., & Ching, H. (2007). Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins. *Food Chemistry*, 104(4), 1464-1471. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.023>
- Xia, D., Yu, X., Liao, S., Shao, Q., Mou, H., & Ma, W. (2010). Protective effect of *Smilax glabra* extract against lead-induced oxidative stress in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 130(2), 414-420. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.025>
- Xiang, J.J., Zhai, Y.F., Tang, Y., Wang, H., Liu, B., & Guo, C.W. (2010). A competitive indirect enzyme-linked immunoassay for lead ion measurement using mAbs against the lead-DTPA complex. *Environmental Pollution*, 158(5), 1376-1380. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.01.002>
- Yang, Y., Wang, H., Guo, Y., Lei, W., Wang, J., Hu, X., ..., & He, Q. (2016). Metal Ion Imbalance-Related Oxidative Stress Is Involved in the Mechanisms of Liver Injury in a Rat Model of Chronic Aluminum Exposure. *Biological trace element research*, 173(1), 126-131. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0627-1>
- Yoloğlu, S. (2017). Kurşuna maruz kalan rat dokularında geraniol'ün etkileri (465222). Retrieved from <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/giris.jsp>.