

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

Yasemin ÇELİK^{1*}, İsmail KÜÇÜKKURT²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Afyonkarahisar/TURKEY

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TURKEY

Corresponding author e-mail: celikyasemin@hotmail.com

Bu Makale aynı isimli doktora tezinden özetlenmiş olup; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 12. SAĞ. BİL.15 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖZ

Fabacea familyasına ait endemik bir bitki olan *Thermopsis turcica* ülkemizde *Thermopsis* cinsini temsil eden tek türdür. Yapılan çalışma ile *Thermopsis turcica* bitkisinden elde edilen ekstraktların antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada, 3- 4 aylık 250-350 gr ağırlığındaki Wistar Albino ırkı toplam 74 adet erkek rat kullanıldı. Ratlardan 64 tanesi antioksidan aktiviteyi, 10 tanesi ÖD₅₀ dozu belirlemek için kullanıldı. Ratlar, her grupta 8 adet olacak şekilde 8 gruba ayrıldı. *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstraktlar, belirlenen ÖD₅₀ dozunun yaklaşık % 1'i, % 2'si ve % 4'ü oranlarında alınarak gruplandırılmada belirlenen şekilde, günlük tek doz halinde eş zamanlı olarak gastrik gavaj yoluyla 30 gün boyunca uygulandı. Çalışma sonunda hayvanlardan, kan ve karaciğer, böbrek doku örnekleri alındı. Kan ve doku örneklerinden Malondialdehit (MDA), Redükte Glutasyon (GSH), Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), ve plazma Antioksidan Aktivite (AOA) değerlerine bakıldı. Çalışmada, *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ve su ekstraktlarının ratlara uygulanması sonucu öldürücü doz 50 (ÖD₅₀) > 2000 mg/kg olarak bulundu. Tam kan MDA seviyesinde görülen düşük değer ile tam kan ve doku örneklerinde belirlenen düşük GSH değerlerinin özellikle sulu ekstraktlarda görülmesi bitkinin antioksidan etki üzerine olumlu etkisinin olduğunu göstermektedir. Ancak, plazma AOA değerlerinin her iki ekstraktta da düşük bulunması yeterli bir antioksidan etki oluşmadığı kanaatine varmamızı sağlamıştır.

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

Investigation of the Antioxidant Effects of Extract Obtained from *Thermopsis turcica* Plant in Rats

ABSTRACT

Thermopsis turcica, the endemic plant that belongs to fabaceae family, is only species that represents the type of *Thermopsis* in our country. Antioxidant effect of extracts obtained from plant *Thermopsis Turcica* is being aimed by this study. In the study, 3- 4 months, weighing 250-350 g male Wistar albino rats were used in a total of 74. 64 of them were used to determine antioxidant activity, 10 of them were dose of ÖD₅₀. Rats were divided into 8 groups and in each group there were 8 of them. The prepared extracts from the upper parts of the plant *Thermopsis turcica* that specified ÖD₅₀ dose of about % 1, % 2 and % 4 in the rates, identified in the single daily doses which were based on groups, was performed simultaneously continued for 30 days by gastric gavage. At the end of the study, intracardiac blood, kidney and liver tissue samples were taken from the animals. From the samples, MDA, GSH, SOD, CAT and AOA levels were measured. The lethal dose 50 (ÖD₅₀) > 2000 mg/kg was found by ethanol and water extracts performance that were prepared from the upper parts of the plant *Thermopsis turcica* in the study. Lower values seen in whole blood MDA and were determined GSH low values in whole blood and tissue samples those were especially seen in aqueous extracts of the plant has positive effects on antioxidant effect. However, plasma AOA low values in both extracts caused an opinion about sufficient antioxidant effect didn't occur.

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

GİRİŞ

Thermopsis turcica Taksonomik açıdan Sarı meyan veya Eber sarısı (*Thermopsis turcica*), bitkiler aleminin *Fabaceae* (baklagiller) familyasının *Thermopsiodeae* tribusundaki *Thermopsis* cinsi içinde yer alır. Bu cins içerisinde 25 tür bulunur. *Thermopsis turcica*, *Thermopsis* cinsini temsil eden ülkemizdeki tek türdür ve endemik bir bitkidir (Davis ve ark. 1988, Tezcan 2008). Rizomlu, dik, çok yıllık, otsu bir bitkidir. Tür ilk defa 1983'te Kit Tan, Vural & Küçüköyük tarafından tanımlanmıştır (Davis ve ark. 1988). *Thermopsis turcica* (*Fabaceae*)'nın morfolojisi, anatomisi ve ekolojisi üzerine yapılan çalışmalarda, bitkinin toprak üstü ve toprak altı organlarında mikro elementlerden Mn, Fe, Zn, Cu, Pb ve makro elementlerden P, Na, N, K olduğu belirlenmiştir. Demirin toprak üstü organlara göre, toprak altı organlarda daha yoğun olduğu belirlenmiştir (Sinan 2002, Tezcan 2008). Dolayısıyla bitkisel gıdaların koruyucu etkilerinin, hücreleri doğal oksidasyon reaksiyonlarından koruduğu ve bunu taşıdıkları antioksidan özellikte olan maddelerden sağladıkları bilinmektedir (Dündar ve Aslan 2000). Yapılan çalışmada *Thermopsis turcica* bitkisinin belirtilen özelliklerinden dolayı toprak üstü kısımlarından hazırlanan Etanollü ve Sulu ekstraktların antioksidan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bilgilerin sağlığı korunması ve geliştirilmesi başta olmak üzere, *Thermopsis turcica* bitkisinin henüz belirlenmemiş diğer özellikleri ile ilgili yapılacak çalışmalara önemli bir temel ve literatür kaynağı oluşturacağı düşünülmektedir.

MATERYAL ve METOD

Thermopsis turcica Bitkisinin Temini

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

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

Thermopsis turcica Etanol ve Su Ekstraktlarının Hazırlanması

Thermopsis turcica bitkisinin toprak üstü kısımlarından 50 gr tartıldı ve blendır cihazı ile öğütüldü. Toz haline getirilmiş *Thermopsis turcica* bitkisinin toprak

üstü kısımlarından 50 gr alınarak 2 l'lik balonlar içinde; Etanol ekstraktı için numunenin yirmi katı kadar etanol (1000 ml) ve Su ekstraktı için distile su (1000 ml) eklenerek soğutma sistemi kuruldu. Bu şekilde 50 °C sıcaklıktaki su dolu kabın içinde 24 saat bekletildiler. Karışımlar oda sıcaklığına getirilerek soğutuldu, tülbent bezinden süzülüp kaba atıklar atıldı. Daha sonra elde edilen ham çözeltiler süzgeç kâğıdından süzüldü. Süzülmüş ekstraktlardan rotary cihazında 50°C'de etanol ve su ayrı ayrı uzaklaştırıldı (Şerbetçi 2007). Sonrasında, yeşilimsi siyah renkte, nemli, yapışkan özellikte % 16 oranında bir Etanol ekstraktı ve sütlü kahverenginde, nemli, yapışkan özellikte % 12 oranında Su ekstraktı elde edildi. Elde edilen ekstraktlar %0.5'lik CMC (Karboksimetil Selüloz) / distile su solüsyonunda çözdürülerek deney için kullanıldı.

Öldürücü Doz 50 (ÖD₅₀) Belirlenmesi

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

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

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

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

Tek doz halinde gastrik gavaj yoluyla aynı gün ve saatte uygulandı. Uygulama sonrası, 48 saat süresince ratların genel klinik durumları ve davranışları takip edildi. Değerlendirmede; ratlara uygulanan dozlarda hiçbir hayvan ölmedi ise ÖD₅₀ dozu ratlara verilen en yüksek dozdan büyük ve ratlara uygulanan dozların birinde ölüm olursa ÖD₅₀ dozu, ratın öldüğü o dozdan büyüktür şeklinde yorumlandı OECD (2001).

Hayvan Materyali

Bu çalışmada, 3- 4 aylık, 250-350 gr ağırlığındaki Wistar Albino ırkı toplam 64 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar deneme süresince polysülfon ve sterilize edilebilen şeffaf kafeslerde barındırılarak, 24±1 °C derece sıcaklıkta, 12:12 aydınlık - karanlık siklusunda ve düzenli havalandırılan ortamda bulunduruldu. Ratlar standart rat yemi ile beslendi. Bu çalışma için, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 117-12 referans nolu çalışma onayı alındı.

Çalışma Grupları

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

Kontrol Grubu; Yalnız standart rat yemi ile beslendi. CMC Grubu; Standart rat yemi ve % 0.5'lik CMC ile beslendi. Deney grupları standart rat yemi ile beslendi ve *Thermopsis turvica* etanollü ekstraktından belirlenen ÖD50 dozunun, Etanollü (E 25) Grubu; yaklaşık % 1'i (25 mg), Etanollü (E 50) Grubu; yaklaşık % 2'si (50 mg), Etanollü (E 100) Grubu; yaklaşık % 4'ü (100 mg) verildi. *Thermopsis turvica* Sulu ekstraktından belirlenen ÖD50 dozunun; Sulu (S 25) Grubu; yaklaşık % 1'i (25 mg), Sulu (S 50) Grubu; yaklaşık % 2'si (50 mg), Sulu (S 100) Grubu; yaklaşık % 4'ü (100 mg) verildi. *Thermopsis turvica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstraktlar, günlük tek doz halinde eş zamanlı olarak gastrik gavaj yoluyla uygulandı. Gastrik gavaj uygulamaları 30 gün boyunca devam etti. Denemenin sonunda, bir gece öncesinden aç bırakılan ratlar 10 mg/kg Xylazine HCl ve 50 mg/kg Ketamin HCl enjeksiyonu ile genel anesteziye alındı. Ratların canlı ağırlıkları belirlenerek intrakardiyak kan alımını takiben karaciğer ve böbrek doku materyalleri alınıp ötanazileri yapıldı. Doku örnekleri çalışılincaya kadar -20 °C'de saklandı.

Kan örnekleri 3000 rpm'de, +4°C'de, 10 dk santrifüj edildikten sonra plazmaları ayrıldı, eritrositler ve plazmalar 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine alındı, doku örneklerinin ise homojenizasyonu yapılarak denemenin sonunda bu kan ve doku örneklerinden MDA, GSH, SOD, CAT ve AOA tayini yapıldı.

Biyokimyasal Analizler

Tam kan MDA düzeyleri, Draper ve Hadley'in çift kaynatma yöntemi kullanılarak belirlendi. (Draper ve Hadley 1990). Dokuda MDA tayini ise, (Okhawa ve ark. 1979)'nın metoduna göre belirlenmiştir.

GSH tayini için, doku örnekleri ve tam kan kullanıldı. (Beutler ve ark. 1963)'nın metodu uygulandı.

SOD Aktivitesinin tayini için, eritrosit paketi ve doku örnekleri kullanıldı. (Sun ve ark. 1988)'nin metodu uygulandı.

CAT enzim aktivitesi için, analiz materyali olarak eritrosit paketi ve doku örnekleri kullanıldı. (Luck 1955, Aebi 1984)'nin metodu uygulandı.

AOA tayini için, analiz materyali olarak plazma kullanıldı, spektrofotometre (Shimadzu UV-1601 marka) cihazı ile yapılan ölçümde (Koracevic ve ark. 2001)'nin metodu uygulandı.

İstatistiksel Analizler

Yapılan çalışma da elde edilen bulgular SPSS 20,0 istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart hata (SD) ile ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında ANOVA (Analysis of Variance) kullanıldı ve ikili karşılaştırmalar Duncan posthoc testi ile değerlendirildi. Ayrıca, çalışmada verilere normal dağılım testlerinden Kolmogorov-Simirnov testi uygulanarak verilerin normal dağılım gösterdiği

belirlendi ($p \geq 0,05$). İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$, $p < 0,01$ ve $p < 0,001$ değerleri kullanıldı.

BULGULAR

Öldürücü Doz 50 (ÖD₅₀)

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

Kan Antioksidan Aktivite Değerleri

Tam kan MDA seviyesinde K ve CMC gruplarına göre sulu ekstrakt verilen gruplarda istatistiki olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($p < 0,001$). Tam kan GSH seviyesinde K ve CMC gruplarına göre E25 grubunda ve tüm sulu ekstrakt verilen gruplarda artış belirlendi ($p < 0,001$). Bunun yanında eritrosit SOD aktivitesinin K ve CMC gruplarına göre tüm deneme gruplarında artan değerler göstermiştir ($p < 0,001$). Katalaz aktivitesi ise K ve CMC gruplarına göre özellikle etanolla ekstrakte edilen tüm gruplarda artarken, sulu ekstraktlı gruplardan sadece S100 grubunda istatistiki olarak anlamlı bir artma olduğu belirlendi ($p < 0,001$). Plazma AOA değeri de K ve CMC gruplarına göre tüm deneme gruplarında azalan değerler göstermiştir ($p < 0,001$) (Tablo 1).

Doku Antioksidan Aktivite Değerleri

Karaciğer GSH seviyesi ve SOD aktivitesinde K ve CMC gruplarına göre özellikle sulu ekstrakt verilen tüm gruplarda ve E100 verilen grupta istatistiki olarak anlamlı bir artma olduğu belirlendi ($p < 0,001$). (Tablo 2).

Böbrek MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$) ancak, Böbrek GSH seviyesinde K grubuna göre S50 ve S100 gruplarında bir artma gözlemlendi ($p < 0,001$). Aynı zamanda sulu ekstrakt verilen gruplarda etanollü ekstraktlara göre önemli düzeyde azalma belirlendi ($p < 0,001$). Superoksit dismutaz aktivitesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında istatistiki olarak anlamlı bir artma olduğu saptandı ($p < 0,001$). Ayrıca, böbrek CAT aktivitesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında azalan değerler olduğu belirlendi ($p < 0,001$) (Tablo 3).

Tablo 1: *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Kan Antioksidan Aktivite Değerleri
Table 1: Blood Antioxidant Activity Values of *Thermopsis turcica* Extracts Given Rats

GRUPLAR n:8	Kan MDA (mmol/ml)	Kan GSH (mg/dl)	Kan SOD (u/mg Hb)	Kan CAT (k/ug Hb)	Plazma AOA (mmol/l)
K	15,53±0,86 ^a	21,00±1,99 ^c	7,45 ±1,31 ^d	131,54 ±5,27 ^c	1,85±0,16 ^a
CMC	14,76±0,70 ^a	21,51±2,83 ^c	7,73±0,93 ^d	132,23±4,69 ^c	1,93±0,10 ^a
E 25	15,72±1,63 ^a	24,48±2,71 ^{a,b}	16,94±4,06 ^c	242,00±110,49 ^{a,b}	1,61±0,16 ^b
E 50	15,95±1,22 ^a	22,03±1,85 ^{b,c}	18,07±5,19 ^c	259,92±90,09 ^{a,b}	1,51±0,12 ^b
E 100	15,57±1,54 ^a	22,21±3,09 ^{b,c}	18,11±4,51 ^c	279,34±3,45 ^a	1,55±0,23 ^b
S 25	11,17±1,10 ^b	24,48±2,71 ^{a,b}	22,40±7,25 ^{b,c}	185,37±70,99 ^{b,c}	1,55±0,10 ^b
S 50	10,46±1,21 ^b	25,17±2,09 ^a	24,08±6,66 ^{a,b}	197,93±67,80 ^{b,c}	1,49±0,16 ^b
S 100	10,96±0,88 ^b	25,76±1,79 ^a	28,37±6,95 ^a	223,34±77,04 ^{a,b}	1,49±0,15 ^b
P	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.
Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.

Tablo 2: *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Karaciğer Antioksidan Aktivite Değerleri.
Table 2: Liver Antioxidant Activity Values of *Thermopsis turcica* Extracts Given Rats

GRUPLAR n:8	Karaciğer MDA (mmol/ml)	Karaciğer GSH (mg/dl)	Karaciğer SOD (u/mg protein)	Karaciğer CAT (k/ug Protein)
K	0,83±0,33	8,16±0,17 ^{c,d}	2,73±0,29 ^b	0,36±0,10
CMC	0,90±0,31	8,07±0,18 ^d	2,74±0,49 ^b	0,32±0,08
E 25	0,49±0,09	8,47±0,37 ^{b,c,d}	3,25±0,49 ^{a,b}	0,34±0,27
E 50	0,50±0,23	8,92±0,64 ^{b,c}	3,32±0,73 ^{a,b}	0,48±0,04
E 100	0,71±0,51	9,00±0,25 ^b	3,50±0,24 ^a	0,30±0,27
S 25	1,05±0,52	10,78±1,03 ^a	3,77±0,87 ^a	0,26±0,25
S 50	0,99±0,52	10,81±1,11 ^a	3,77±1,13 ^a	0,23±0,13
S 100	0,77±0,28	11,25±1,18 ^a	3,88±0,29 ^a	0,27±0,26
P	0,121	0,000	0,002	0,304

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.
Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.

Tablo 3: *Thermopsis turcica* Bitki Ekstraktları Verilen Ratlardaki Böbrek Antioksidan Aktivite Değerleri
Table 3: Kidney Antioxidant Activity Values of *Thermopsis turcica* Extracts Given Rats

GRUPLAR n:8	Böbrek MDA (mmol/ml)	Böbrek GSH (mg/dl)	Böbrek SOD (u/mg protein)	Böbrek CAT (k/ug Protein)
K	1,57±1,12	3,60±0,36 ^{b,c}	1,74 ±0,18 ^d	0,27±0,03 ^a
CMC	1,51±0,86	3,67±0,24 ^c	1,93±0,45 ^d	0,29±0,03 ^a
E 25	1,36±0,83	3,65±0,90 ^c	2,47±0,30 ^c	0,15±0,07 ^b
E 50	1,10±0,82	3,67±0,68 ^c	2,61±0,30 ^{b,c}	0,14±0,05 ^{b,c}
E 100	1,15±0,62	3,82±0,26 ^{b,c}	2,85±0,49 ^{a,b,c}	0,12±0,00 ^{b,c}
S 25	0,67±0,26	5,25±0,61 ^{a,b}	3,10±0,53 ^a	0,08±0,07 ^c
S 50	0,94±0,48	5,70±1,41 ^a	3,00 ±0,50 ^{a,b}	0,09±0,04 ^{b,c}
S 100	0,61±0,24	6,23±3,32 ^a	2,99±0,33 ^{a,b}	0,11±0,05 ^{b,c}
P	0,075	0,000	0,000	0,000

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.
Verilen değerler ortalama±SD olarak ifade edildi.

TARTIŞMA

Thermopsis turcica bitkisinin de dahil olduğu fabaceae familyasına ait bir bitki olan *Tamarindus İndica L.* bitkisi ile yapılan bir çalışmada hazırlanan ekstrakt obez ratlara çeşitli dozlarda (5, 25, 50 mg/kg) 10 hafta boyunca oral gavaj yolu ile uygulandı. Çalışma sonucumuzu destekler nitelikte olan bu verilere göre, deneme sonunda tüm dozlarda kontrol grubuna göre plazma MDA seviyesinde azalma olduğu belirlenmiştir (Khairunnuur ve ark. 2010). *Thermopsis turcica* bitki içeriğinde de, alkaloid, flavanoid, kumarin, radyoaktif glikozit ve steroidal bileşiklerin bulunduğu Dayan (2006) göz önüne alınırsa yapılan çalışma da sulu ekstrakt verilen grupta tam kan MDA düzeyindeki azalmanın içeriğinde bulunan bu maddelerin radikal süpürücü etkilerine bağlı olarak lipid peroksidasyonunu azaltmış olabileceği sonucuna varıldı.

Kanserli farelerde antitümör ve invivo antioksidan özelliğın değerlendirildiği bir çalışma da *Mucuna pruriens (Fabaceae)* bitkisinin metanol ekstraktı 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 0,1 ml/10 g şeklinde 14 gün boyunca farelere enjekte (i.p.) edilmiştir. Deneme sonunda kanserli fare grubuna göre bitki ekstraktı ile tedavi edilen tüm gruplarda doku GSH seviyesi anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Uygulanan doza bağlı olarak bu etkinin değişebileceği düşünülmüştür (Rajeshwar ve ark. 2005). *Thermopsis turcica* bitkisi ile direkt ilişkili bir çalışma olmamasına rağmen, aynı familya ya ait bitkiler ile yapılan çalışmalar göz önüne alındığında (Rajeshwar ve ark. 2005, Yanez ve ark. 2011, Rajaram ve ark. 2013), yapılan tez çalışmasından elde edilen sonuçlara benzer olan bu veriler, *Thermopsis turcica* bitki içeriğinde bulunan fenolik bileşikler, glikozit ve steroidal yapıların antioksidan aktivite üzerine olumlu bir etki oluşturduğunu göstermektedir.

Soya bitkisi (fabaceae) izoflavanoidlerinin antioksidan etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada soya izoflavanoidlerinin tüketilmesi sonucu plazma SOD aktivitesinde artma olduğu belirtilmiştir (DiSilvestro ve ark. 2005). Yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitkisinden elde edilen etanollü ve sulu ekstraktların ratlara uygulanması sonucu, SOD aktivitesinin yükselmesi, bu bitki ile aynı familyada olan diğer bitkilerle yapılan çalışmalar (Khairunnuur ve ark. 2010, DiSilvestro ve ark. 2005, Ibrahim ve ark. 2008, Raja ve ark. 2007) göz önüne alındığında, bitkinin fitokimyasal içeriğinde bulunan fenolik bileşikler ve hazırlanan ekstrakt türü ile ilgili olabileceği kanaatine varılmıştır.

Kan CAT aktivitesinin büyük ölçüde eritrositlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir Bayır (2004). Yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitkisinin etanollü ve sulu ekstraktlarının ratlara uygulanması sonucu, kanda CAT aktivitesinin yükselme nedeni, verilen doz miktarından, uygulama süresinden ve

bitki içeriğinde bulunan flavanoid, glikozidik bileşikler gibi yapılardan kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanında *Thermopsis turcica* bitki içeriği ile ilgili yeterli veri bulunmadığı için bitki içersinde bilinen maddelerin dışında, farklı bileşiklerinde CAT aktivitesi üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Soya fasülyesi (fabaceae) isoflavanoidlerinin invivo antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, farelere oral olarak 60 gün boyunca 1.08 gr/kg şeklinde isoflavanoidden zengin soya diyeti uygulanmıştır. Çalışma sonucunda fare karaciğer SOD aktivitesinde yükselme belirlenmiş ve isoflavanoidlerin bu etkiden sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Ibrahim ve ark. 2008). *Thermopsis turcica* bitki içeriğinde bulunan fenolik bileşikler in benzer bir etkiye sebep olabileceği kanaatine varıldı.

Cytisus Scoparius (fabaceae) bitkisinin farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktları (kloroform, etil asetat, metanol, hidroalkolik) ile yapılan çalışmada, ekstraktlar çalışma grubundaki ratlara çeşitli dozlarda (250-500 mg/kg) oral olarak uygulanmıştır. Hidroalkolik ekstrakt verilen ratlarda her iki dozda da rat böbrek dokusunda kontrol grubuna göre SOD aktivitesinin arttığı görülmüştür (Raja ve ark. 2007). Ayrıca, böbrek CAT aktivitesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında azalan değerler belirlenmiştir (p<0,01). *Soya fasülyesi (fabaceae)* nin in vivo ve invitro antioksidan etkisinin araştırılması ile ilgili çalışmada, etanol ekstraktı içersinde isoflavanoidler ve glikozidler belirlenmiştir. Sekiz hafta boyunca 50 mg/kg isoflavanoid ve 24 hafta boyunca 150 ve 250 mg/kg isoflavanoid uygulanmıştır. Yirmidört hafta sonunda 150 ve 250 mg/kg isoflavanoid uygulanan ratların çeşitli organlarında SOD ve CAT aktivitelerinde yükselme görülmüştür. Bu yükselmenin, ratlara yüksek dozda ve uzun süre isoflavanoid verilmesinden kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir. Bunun yanında soyadan elde edilen tofu (soya loru) ekstraktının 50 mg/kg uygulandığı ratların, 150 ve 250 mg/kg isoflavanoid uygulanan ratlara göre daha iyi bir antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Tofu içersinde bulunan isoflavan dışındaki moleküler yapıların invivo antioksidan enzimler üzerine sinerjistik bir etki göstermiş olabileceği belirtilmiştir (Liu ve ark. 2005). Yapılan çalışmada, böbrek GSH seviyesinde K grubuna göre sulu ekstrakt verilen grupta ve SOD aktivitesinde ise K grubuna göre tüm deneme gruplarında artan değerler belirlenmesinin *Thermopsis Turcica* bitki içeriğinde bulunan flavanoid'ler, kullanılan ekstrakt miktarı ve uygulama süresi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmada, böbrek GSH seviyesi ve SOD aktivitesinde K grubuna göre tüm deneme gruplarında artan değerler belirlenmesinin *Thermopsis Turcica* bitki içeriğinde bulunan flavanoid'ler,

kullanılan ekstrakt miktarı ve uygulama süresi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Fermante *soybean (fabaceae)* ekstraktının antioksidan aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, rat karaciğer dokusunda SOD, CAT ve GPx aktiviteleri artarken, böbrek dokusunda SOD ve beyin dokusunda SOD, GPx aktivitelerinde azalma görülmüştür (Hu ve ark. 2004). *Soya fasülyesi (fabaceae)* içerisinde bulunan isoflavon bileşiklerinin insan sağlığına etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüksek miktarda isoflavan tüketiminin, az miktarda isoflavon tüketimine göre plazma lipid peroksidasyonunu düşürmede daha etkili olduğu bulunmuştur. Plazma konsantrasyonu içinde bulunan isoflavon fitoöstrojen biomarkırlarının bu etkiden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir (Wiseman ve ark. 2000). *Thermopsis* genusu içinde bulunan fenolik bileşiklerin içeriği ve kalitesi antioksidan aktivite üzerinde etkilidir. Bazı meyvelerde bulunan yüksek seviyede fenolik bileşiklerin DPPH radikal absorpsiyon hızında çok hızlı bir düşüşe sebep olduğu bildirilmiştir (Choudhary ve Swarnkar 2011). *Thermopsis turcica*'nın yaprak, dal, çiçek kısımlarından hazırlanan metanol ve aseton ekstraktlarının serbest radikal süpürücü aktivite, total fenolik içerik, toplam oksidan seviye ve toplam antioksidan seviye in vitro ölçümlerine göre, *Thermopsis turcica*'nın aseton ekstraktında serbest radikal süpürücü aktivite ve metanol ekstraktında total antioksidan aktivitenin yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu etkinin ekstraktların içeriğinde bulunan fenolik madde miktarı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (Aksoy ve ark. 2013). Yapılan çalışmada, *Thermopsis turcica* bitki ekstraktları'nın her ikisinin de ratlar üzerinde plazma AOA seviyesini düşürdüğü belirlendi. Bu etkinin bitki içeriğinde bulunan alkaloid türleri ve diğer maddelerin etkileşimlerinden kaynaklanan zararlı bir durum ortaya çıkardığı ve buna bağlı olarak plazma antioksidan aktivitesini azaltıcı yönde bir sonuç oluşturabileceği kanaatine varıldı. Sonuç olarak, endemik *Thermopsis turcica* (fabaceae) bitkisi etanolü ve sulu ekstraktlarının in vivo antioksidan aktivitesinin ilk kez araştırıldığı çalışmada, sulu ekstraktlarının, etanolü ekstraktlara göre kan, karaciğer ve böbrek doku örneklerinde MDA, GSH üzerine olumlu etkileri olduğu belirlendi. Bitki içeriğinde bulunan ancak yoğunluğu, türü ve kalitesi hakkında yeterli bilgi bulunmayan fenolik bileşiklerin bu etkiden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Plazma AOA üzerinde bu olumlu etkinin görülmemesi ise yine bitki içeriğinde bulunan alkaloidler ve glikozitler gibi yapıların zararlı etkilerinden kaynaklanabileceği kanaatine varıldı. Bunun dışında çalışmada kullanılan ekstrakt türü ve ratlara uygulama süresinde antioksidan aktivite üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen veriler *Thermopsis turcica* bitkisinin antioksidan aktivite üzerine etkisinin neden kaynaklandığı ile ilgili

daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Bu sonuçların, konu ile ilgili gelecekte yapılacak çalışmalara temel oluşturması açısından önemli olduğu ve ayrıca, bitki içeriği ile ilgili yapılacak çalışmaların bitkinin sağlık alanında kullanımını açısından önemli ipuçları verebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aebi H.** Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol.* 1984; 105: 121-126.
- Aksoy L, Kolay E, Ağılönü Y, Aslan Z, Kargıoğlu M.** Free Radical Scavenging Activity, Total Antioxidant Status and Total Oxidant Status of Endemic *Thermopsis turcica*, *Saudi Journal of Biological Science.* 2013; 10: 1016.
- Bayır Y.** Usnea Longissima Ach. Liken Türünden İzole Edilen Difraktik Asit' in İndometazin Ülseri Üzerine Koruyucu Etkisi ve İn-Vivo Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2004.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM.** Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 1963; 61: 882-888.
- Choudhary RK, Swarnkar PL.** Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of india. *Natural Product Research.* 2011; 25 (11): 1101-1109.
- Davis PH, Mill RR, Tan, Kıt.** Flora of Turkey and the East Aegean Islands. University of Edinburg Press. Edinburg. 1988; 10: 112.
- Dayan S.** Endemik ve Tehlike Altındaki *Thermopsis turcica* (Fabaceae)'nın in vitro çimlenmesi ve mikroçogaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. 2006.
- Disilvestro RA, Goodman J, Dy E, Lavallo G.** Soy isoflavone supplementation elevates erythrocyte superoxide dismutase, but not ceruloplasmin in postmenopausal breast cancer survivors. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2005; 89: 251-255.
- Draper HH, Hadley M.** Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology.* 1990; 186: 421-431.
- Dündar Y, Aslan R.** Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları. Afyon. 2000.
- Hu CC, Hsiao CH, Huang SY, Fu SH, Lai CC, Hong TM, Chen HH, Lu FJ.** Antioxidant activity of fermented soybean extract. *J Agric Food Chem.* 2004; 52(18): 5735-9.

- Ibrahim WH, Habib HM, Chow CK, Bruckner GG.** Isoflavone-rich soy isolate reduces lipid peroxidation in mouse liver. *Int J Vitam Nutr Res.* 2008; 78(4-5): 217-22.
- Khairunuur FA, Zulkhairi A, Hairuszah I, Azrina A, Nursakinah I, Fazali F, Kamal MNH, Zamree MS, Kamilah KAK.** Hypolipemic and Weight Reducing Properties from Tamarindus indica L. Pulp Ekstrakt in Diet- Induced Obese Rats. *International Journal of Pharmacology.* 2010; 6(3): 216-223. ISSN 1811-7775. Malaysia.
- Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V.** Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol.* 2001; 54: 356-361.
- Liu J, Chang SK, Wiesenborn D.** Antioxidant properties of soybean isoflavone extract and tofu in vitro and in vivo. *J Agric Food Chem.* 2005; 53(6): 2333-40.
- Luck H.** Catalase. In: H.U. Bergmeyer (Eds.), *Methods in Analysis*, Academy Press, London. 1955.
- Oecd.** (2001). Guidelines for the Testing of Chemicals-425. [www.oecd.org/dataoecd, (02. 04. 2013)].
- Okhawa H, Onishi N, Yagi K.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 1979; 95: 351.
- Raja S, Ahamed HN, Kumar V, Mukherje K, Bandyopadhyay A, Mukherje PK.** Exploring the Effect of Cytisus Scoparius on Markers of Oxidative Stress in Rats. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics.* 2007; 6: 15-21.
- Rajaram K, Moushmi M, Velayutham MDP, Kumpati P, Ganasaraswathi M, Sureshkumar P.** Comparative Bioactive Studies Between Wild Plant and Callus Culture of Tephrosia tinctoria Pers. *Appl Biochem Biotechnol.* 2013; 0444-3: 12010-013. DOI 10.1007.
- Rajeshwar Y, Gupta M, Mazumder UK.** Antitumor Activity and in vivo Antioxidant Status of Mucuna pruriens (Fabaceae) Seeds against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics.* 2005; 4: 46-53.
- Sinan B.** Thermopsis turcica Kit Tan, Vural & Küçüködük (Fabaceae)'nın Morfolojisi, Anatomisi ve Ekolojisi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. 2002.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry.* 1988; 34: 497-500.
- Şerbetçi H.** Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2007.
- Tezcan S.** Thermopsis turcica (Fabaceae) Kit Tan, Vural & Küçüködük Üzerinde Anatomik, Morfolojik ve Karyolojik Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. 2008.
- Wiseman H, O'reilly JDO, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, Sanders TAB.** Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F2-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2000; 72: 395-400.
- Yanez Rmb M, Mateos MRG, Hernández MRS, León TC, Kite G.** Flavonoids and antioxidant activity of Calia secundilfora (Ort.) Yakovlev. *Rev. fitotec. Mex.* 2011; (34) 3.