

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***CYCLAMEN GRAECUM* LİNK. EKSTRAKLARININ AKTİF BİLEŞENLERİNİN  
KARAKTERİZASYONU, ANTİOKSİDAN VE HİSTOLOJİK ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hülya METİN**

**Anabilim Dalı : BİYOLOJİ**

**Programı : BOTANİK**

**Danışman: Prof.Dr. Ramazan MAMMADOV**

**Haziran, 2012**

## YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 091461014 nolu öğrencisi Hülya METİN tarafından hazırlanan “*Cyclamen graecum*.Link.C Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan ve Histolojik Etkilerinin Belirlenmesi” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV (PAÜ)



(Jüri Başkanı)

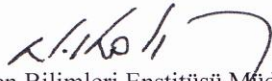
Jüri Üyesi : Yrd.Doç. Dr. Nazan KESKİN (PAÜ)



Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mehmet Emin DURU (Muğla Üniversitesi)



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 07/08.12.2012 tarih ve ...191.27.... sayılı kararıyla onaylanmıştır

  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
Prof. Dr. Nuri KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerin de bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim

İmza



Öğrenci Adı Soyadı: Hülya METİN

## ÖNSÖZ

*Cyclamen graecum*. Link. Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan ve Histolojik Etkilerinin Belirlenmesi” adlı yüksek lisans tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen danışmanın sayın Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV’a, Doç. Dr. Mehmet Emin DURU (Muğla Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü) ve tez çalışmalarım süresince verdikleri destekten dolayı Pamukkale Üniversitesi tüm bölüm hocalarıma, arkadaşım Çiğdem AYDIN ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmayı maddi yönden destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı’na teşekkürlerimi sunarım. Bu tezin hazırlanmasında bana maddi ve manevi en büyük desteği sağlayan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Haziran, 2012

Hülya METİN

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET.....	X
SUMMARY.....	xi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Çalışma Materyalinin Botanik Özellikleri.....	2
1.1.1 Primulaceae (Çuhaçiçeğigiller).....	2
1.1.2 <i>Cyclamen</i> L. ....	3
1.1.3 <i>Cyclamen graecum</i> Link. ....	5
1.2 İçerik Tanımlamaları .....	6
1.2.1 Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) .....	6
1.3 Antioksidanlar .....	7
1.3.1 Serbest radikaller .....	8
1.3.2 Antioksidan etki tipleri .....	10
1.3.3 Antioksidan savunma sistemleri .....	12
1.3.3.1 Endojen (doğal) antioksidanlar .....	12
Enzimler .....	13
Süperoksit dismutaz (SOD).....	13
Katalaz.....	13
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) .....	14
E Vitamini (Tokoferol ).....	14
C Vitamini (Askorbik Asit).....	15
A Vitamini (Retinol) .....	16
â-Karoten (Pro-vitamin A) .....	16
1.3.3.2 Eksojen antioksidanlar (ilaçlar).....	16
1.4 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	17
1.4.1 Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini.....	18
1.4.2 DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi .....	18
1.4.3 Tiyobarbitürik asit metodu (TBA).....	19
1.4.4 Demir-tiyosiyonat metodu .....	19
1.4.5 β-Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite).....	19
1.5 Toplam Fenol Miktar Tayini (Folin-ciocalteu yöntemi) .....	20
1.6 <i>Cyclamen graecum</i> Link Türünün Fitokimyasal Yapısında Bulunan Bazı Organik Maddeler.....	20
1.6.1 Alkaloidler .....	20
1.6.1.1 Kimyasal yapı.....	21

1.6.1.2 Kullanım alanları.....	23
1.6.2 Saponozitler .....	23
1.6.2.1 Kimyasal yapı.....	23
1.6.2.2 Kullanım alanları.....	25
1.7 İnsan Trake'sinin Anatomi ve Histolojisi .....	25
1.8 Sıçan Trake'sinin Anatomi ve Histolojisi .....	27
1.9 <i>Cyclamen</i> ile Yapılan Kimyasal Çalışmalar .....	28
1.10 Çalışmanın Amacı .....	29
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>30</b>
2.1 Materyal.....	30
2.1.1 Bitkisel materyal .....	30
2.2 Yöntemler .....	32
2.2.1 İçerik tanımlama yöntemleri.....	32
2.2.1.1. Katı faz ekstraksiyonu.....	32
2.2.1.2 İnce tabaka kromatografisi .....	33
2.2.1.3 Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi şartları .....	33
2.2.2 Antioksidan aktivite analiz yöntemleri .....	34
2.2.2.1 Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi .....	34
2.2.2.2 Serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi.....	34
2.2.3 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi.....	35
2.2.4 Histolojik yöntemler .....	35
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>37</b>
3.1 İçerik Analiz Sonuçları.....	37
3.2 Antioksidan Aktivite Sonuçları .....	47
3.2.1 Toplam antioksidan aktivite sonuçları.....	47
3.2.2 Serbest radikal giderim aktivite sonuçları .....	49
3.3 Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu Sonuçları .....	52
3.4 Histolojik Çalışma Sonuçları.....	53
3.4.1 H&E boyama bulguları .....	53
3.4.2 PAS-H boyama bulguları.....	55
<b>4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA .....</b>	<b>57</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>62</b>

## KISALTMALAR

<b>ROP</b>	: Reaktif Oksijen Partikülleri
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Oksijen peroksit
<b>•HO</b>	: Hidroksil radikali
<b>LOO•</b>	: Lipid peroksil
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>HAT</b>	: Hidrojen atomu transferi
<b>ET</b>	: Tek elektron transferi
<b>ORAC</b>	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
<b>TRAP</b>	: Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi
<b>FCR</b>	: Folin-Ciocalteu reaktifi
<b>TEAC</b>	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
<b>FRAP</b>	: Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü
<b>DPPH</b>	: 1,1-difenil-2-pikril hidrazil
<b>CUPRAC</b>	: Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik asit metodu
<b>TCA</b>	: Trikloroasetik asit
<b>BHT</b>	: Bütillenmiş hidroksi toluen
<b>BHA</b>	: Bütillenmiş hidroksi anisol
<b>İTK</b>	: İnce tabaka kromatografisinde
<b>CGE</b>	: <i>C. graecum</i> 'un ethanol ekstresi
<b>GC</b>	: Gaz Kromatografisi
<b>GC/MS</b>	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen&Eozin
<b>GAG</b>	: Glikozaminoglikan
<b>PAS-H</b>	: Periyodik asit sift-hematoksilen
<b>CT</b>	: <i>C. graecum</i> tuber
<b>CY</b>	: <i>C. graecum</i> yerüstü
<b>l</b>	: Lümen
<b>e</b>	: Epitelyum
<b>KH</b>	: Kıkırdak Halka
<b>LP</b>	: Lamina Propria
<b>M</b>	: Mukus
<b>BD</b>	: Bağ Doku
<b>dsu</b>	: Distile Su

## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

2.1 : Bitkinin toplandığı lokaliteler .....	31
3.1 : <i>C. graecum</i> 'un etanol ekstresinin Kimyasal Bileşimi.....	38
3.2 : <i>Cyclamen graecum Link.</i> ekstraktlarının $\beta$ _karoten-linoleik asit sistemindeki antioksidan aktiviteleri (%).....	47
3.3 : DPPH' Yöntemi ile Ekstraktların Serbest Radikal Giderim Kapasiteleri.....	50
3.4 : <i>C. graecum</i> türüne ait etanol ve metanol ekstraktlarının 765 nm'de absorbanslarıve gallik aside eş değer konsantrasyonları.....	52



## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

1.1 : <i>Cyclamen</i> bitkisinin çiçek yapısı .....	4
1.2 : <i>C. graecum</i> bitkisi.....	6
1.3 : DPPH antioksidan madde ile reaksiyonu.....	19
1.4 : Kinolein ve İzokinolein Alkaloidleri .....	21
1.5 : Piridin ve Piperidin Halka Sistemi .....	22
1.6 : Tropan ve Nortropan Halka Sistemi .....	22
1.7 : İndol ve İzindol Halka Sistemi .....	22
1.8 : Pürin Halka Sistemi ve Kafein Alkaloidi .....	22
1.9 : Triterpenik Saponozitler ( $\beta$ – amirenol iskeleti).....	24
1.10 : Spirostanol .....	24
1.11 : Furostanol .....	25
1.12 : İnsan trakeasının önden görünümü (a) ve horizontal kesiti (b) .....	26
2.1 : <i>C. graecum</i> bitkisinin toplanması.....	30
2.2 : <i>C. graecum</i> yumrusu .....	31
2.3 : Ekstraksiyon işlemi.....	32
2.4 : Rotary evaporatörde çözücü kısmının uzaklaştırma işlemi .....	32
3.1 : <i>C. graecum</i> 'un etanol ekstresinin Silil türevinin Kromatgramı.....	39
3.2 : Etilen Glikol'un Kütle Spektrumu .....	40
3.3 : Okzalik Asit'in Kütle Spektrumu .....	40
3.4 : Benzoik Asit'in Kütle Spektrumu.....	41
3.5 : D-Riboz'un Kütle Spektrumu .....	41
3.6 : 5-Hidroksi asetik Asit'in Kütle Spektrumu .....	42
3.7 : 5-Hidroksi etanol'un Kütle Spektrumu.....	42
3.8 : Sorbapiranoz'un Kütle Spektrumu .....	43
3.9 : 2-Keto-D-glukonik Asit'in Kütle Spektrumu .....	43
3.10 : D-Fruktoz'un Kütle Spektrumu .....	44
3.11 : İnositol'un Kütle Spektrumu .....	44
3.12 : D-Altro-2-Heptuloz'un Kütle Spektrumu.....	45
3.13 : Araşidik Asit'in Kütle Spektrumu .....	46
3.14: $\beta$ -Karoten-Linoleik asit yönteminde <i>C. graecum</i> tuberlerinden hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği. ....	48
3.15: $\beta$ -Karoten-Linoleik asit yönteminde <i>C. graecum</i> yerüstü kısımlarından hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği. ....	48
3.16: $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle etanol, metanol, aseton ve benzen ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%). ....	49
3.17: DPPH yöntemi ile <i>C. graecum</i> tuber ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri. ....	51
3.18: DPPH yöntemi ile <i>C. graecum</i> yerüstü kısımlarından ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	51
3.19 : Gallik asit kalibrasyon eğrisi .....	52

<b>3.20 :</b> Şekil 3.1 : Trakenin genel histolojisi (kontrol grubu).....	53
<b>3.21:</b> Deney gruplarının (a: 0,1 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan, b: 0,3 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan) trake histolojisi. ....	54
<b>3.22 :</b> Kontrol grubunun PAS ile boyanmış trake dokusu.....	55
<b>3.23 :</b> Deney gruplarının (a: 0,1 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan, b: 0,3 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan) PAS ile boyanmış trake dokuları.....	56

## ÖZET

### **CYCLAMEN GRAECUM LINK. EKSTRAKLARININ AKTİF BİLEŞENLERİNİN KARAKTERİZASYONU, ANTİOKSİDAN VE HİSTOLOJİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Geofitlerin en önemli özelliklerinden biri soğan, tuber ve rizomlarının içerdikleri etken maddeler sayesinde tedavi maksatlı kullanılmalarıdır. Bu etken maddeler birçok hastalığın sebebi olan vücuttaki zararlı serbest radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan özelliğe sahiptirler. Geofitler arasında önemli bir cins olan *Cyclamen L.* Primulacea (Çuhaçiçeğigiller) familyasına aittir. Bu çalışmada *Cyclamen graecum* Link. türünün farklı çözücülerde (etanol, metanol, benzen, aseton) hazırlanmış ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ve trake dokusu üzerindeki histolojik etkisi değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde DPPH ve  $\beta$ -karoten-Linoleik asit yöntemi kullanılmıştır. *Cyclamen graecum* Link. ekstraktlarında en yüksek antioksidan aktivite ( $80,2 \pm 0,6$ ) yerüstü kısmının etanollü ekstraktında elde edilmiştir. *C. graecum* bitkisinin 1 mg/ml/lik hazırlanan ekstraktlar arasında en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi yerüstü kısmının etanollü ekstraktında ( $97,3 \pm 0,55$ ) bulunmuştur. Ayrıca bu ekstraktların toplam fenolik içerikleri de belirlenmiştir. Bitkinin 0,1 gr/lt ve 0,3 gr/lt ekstraktlarının oral olarak verildiği sıçanların trake dokusu mukus materyali nötral şekerlerinin yoğunluğunda, gruplar arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cyclamen*, Antioksidan Aktivite, Trake

## SUMMARY

### THE CHARACTERIZATION OF ACTIVE COMPONENTS OF *CYCLAMEN GRAECUM* LINK. EXTRACTS AND THE DETERMINATION OF THEIR ANTIOXIDANT AND HISTOLOGICAL EFFECTS

One of the most important features of Geophytes is their use for therapeutic purposes thanks to their active substances found in onions, tuber and rhizomes. These active substances neutralize harmful free radicals in the body which cause many diseases showing their antioxidant properties. *Cyclamen L.* which belongs to Primulaceae (primula) family is an important genus in Geophytes. In this study, the histological effects on tracheal tissue and antioxidant activity of extracts prepared in different solvents (ethanol, methanol, benzene, and acetone) of *Cyclamen graecum* Link. were investigated. DPPH and  $\beta$ -carotene-linoleic acid methods were used for the determination of antioxidant activity. The highest antioxidant activity ( $80.2\% \pm 0.6$ ) in the *Cyclamen graecum* Link. extracts was obtained from ethanol extracts of the above ground part. The highest free radical removal activity in-between of extracts prepared with 1 mg/ml of *C. graecum* plant was found in the ethanol extracts ( $97.3\% \pm 0.55$ ) of the above ground part. In addition, the total phenolic contents of these extracts were also determined. A significant difference could not be observed in the intensity of neutral mucosubstances of the trachea in the groups of 0,1 gr/L and 0,3 gr/L plant extracts administered orally to rats.

**Keywords:** Cyclamen, Antioxidant activity, Trachea

## 1. GİRİŞ

Türkiye jeolojik yapısı, iklimsel durumu ve Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz olmak üzere 3 farklı gen kuşağında yer alması nedeni ile zengin bir floraya sahiptir (Güner, 1994).

Ülkemiz sadece flora zenginliği değil, endemik tür zenginliği bakımından da çok önemli bir yere sahiptir (Ekim, 1990).

Yurdumuz ayrıca geofit adı altında toplanan soğanlı, rizomlu, tuberli bitki türleri açısından çok zengindir. Geofitler toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi gıda maddesi depo eden özelleşmiş toprak altı gövdeleri taşıyan otsu bitkilerdir (Çetik, 1973). Floramızın 8. cildinde yer alan petaloid monokotiller ile 6. ciltteki *Cyclamen* ve ilk cildinde yer alan *Anemone*, *Eranthis*, *Corydalis* cinslerine ait yaklaşık 500 civarında tür yurdumuzda doğal olarak yetişmekte olup bunların hemen hepsi güzel çiçekli gösterişli bitkilerdir (Ekim ve Koyuncu, 1992).

Geofitlerin bitkiler arasındaki yeri incelendiğinde, bunların Tohumlu bitkiler (Spermatophyta) bölümünde, kapalı tohumlu bitkiler (Magnoliophyta) alt bölümünde yer aldıkları görülmektedir. Bu grup bir çenekli bitkiler (Liliopsida) ve 2 çenekli bitkiler (Magnoliapsida) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Geofitler çoğunluğu “bir çenekli bitkiler” sınıfında olmak üzere, her iki sınıfta da yer almaktadır (Koyuncu, 1994).

Soğanlı, yumrulu ve rizomlu bitkilerin gelişmeleri açısından yazın, sıcak ve kurak aylar, kışın da soğuk ve karlı aylar elverişsiz dönemlerdir. Bitkiler bu elverişsiz ayları toprak altında uyku halinde geçirirler. İlkbahar ve sonbaharda yağmurların başlaması ve sıcaklığın normale dönmesi ile hızlı bir gelişme göstererek, çiçek ve tohum oluştururlar. Geofitlerin toprak altı kısımları, yedek besin depo eden kısımlarıdır. Bu nedenle geofitler, bu organların toprağa dikilmesiyle kolayca üretilbilirler (Koyuncu, 1994).

Geofitlerin en önemli özelliklerinden biri soğan, yumru ve rizomlarının içerdikleri etken maddeler sayesinde tedavi maksatlı kullanılmasıdır. Geofitlerle tedavi çok eski zamanlara dayanmaktadır (Demirhan, 2001).

Türkiye’de bulunan geofit bitki türleri, tarla açmalar ve aşırı otlatma, sanayileşme, tarımsal mücadele, orman yangınları, kara yollarının yol genişletme ve yeni yol açma faaliyetleri, izinsiz toplayıcılar, ayrıca da ihraç ürünü olarak kullanılması nedeniyle tehdit altındadır. Halen bilinçsizce yapılan gerek toplanması açısından, gerekse yukarıda belirttiğimiz faktörlerden dolayı büyük bir doğa tahribatının olması söz konusudur. Bunun için bu durumdaki bitkilerin korunması ve kültüre edilmesi, hem ülkemizdeki gen kaynaklarının korunması, hem de iyi adapte oldukları ortam şartlarında üretime gidilmesi yolunda önerilerin bulunduğu bildirilmektedir.

Ayrıca geofitler hayvanlar tarafından da zarar görebilir. Ancak bu bitkiler bu açıdan diğer bitkilere oranla daha avantajlı olup, soğan, yumru ve rizom gibi depo ve vejetatif gelişme organlarının toprak altında olması doğal bir korunma sağlamaktadır. Hatta sahip oldukları özel koku, tat veya içerdikleri zehirli bileşikler onların hayvanlar tarafından yenmelerine engel olmaktadır (Koyuncu, 1994).

Ülkemizde geofit bitkilerin dış satımları genel olarak doğal olanların sökülmesine dayanmaktadır. Üretilerek ihraç edilen miktar, üretimin daha pahalı olmasından dolayı doğadan sökülme ile yapılan ihracattan daha düşük düzeydedir (Koyuncu ve Ekim, 1984).

Tüm bu faktörler doğal floranın değişmesine ve endemik bitki türlerinin yok olmasına veya yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalmasına neden olmaktadır (Semiz ve Çiçek, 2001).

## **1.1 Çalışma Materyalinin Botanik Özellikleri**

### **1.1.1 Primulaceae (Çuhaçiçeğigiller)**

Primulaceae familyası çoğunluğu Kuzey Yarımkürede ve özellikle Alpin bölgelerde yayılış gösteren 28 cins ve 1000 kadar tür içerir. Ülkemizde 9 cins ve 40 türü bulunur. Bu familya üyelerinin genel özellikleri bir veya çok yıllık otsu, nadiren yarı çalimsı bitkilerdir. Yapraklar almaşık, karşılıklı veya hepsi tabanda, genellikle basit yaprak kenarları düz veya nadiren derin lobludur. Çiçek sapları yapraksız veya çiçekler sapla yaprak arasına girmiş, halka dizilişli veya salkım şeklinde, spika, umbella veya panikula durumunda, genellikle braktelidir. Stamen 5, çiçekler biseksüel, bazen heterostili gözlenir. Korolla genellikle bileşik petalli (gamopetal) ve aktinomorf, nadiren yoktur. Stamenler epipetal, korolla loblarıyla karşılıklı.

Staminotlar bazen mevcut, ovaryum genellikle üst durumlu, plasentalanma serbest-sentral. Stigma baş şeklinde. Meyve 5 yarıkla açılan kapsula veya piksidyumdur. Tohumlar çok veya az sayıdadır. Bu familyaya ait kayıtlı 9 cins vardır: *Primula*, *Dionysia*, *Androsace*, *Hottonia*, *Cyclamen*, *Lysimachia*, *Glaux*, *Anagallis*, *Samulus* (Davis, 1978).

### 1.1.2 *Cyclamen* L.

*Cyclamen* cinsinin ülkemizde doğal halde 10 türü yetişir. Bu türlerin bir kısmı ilkbaharda bir kısmı ise sonbaharda çiçek açar.

#### İlkbaharda çiçek açan türler

- ✓ *C. persicum* Miller.
- ✓ *C. repandum* Sm. In Sibth & Sm
- ✓ *C. pseud – ibericum* Hildebr.
- ✓ *C. coum* Miller.
- ✓ *C. trochopteranthum* O. Schwarz
- ✓ *C. parviflorum* Pobed.

#### Sonbaharda çiçek açan türler

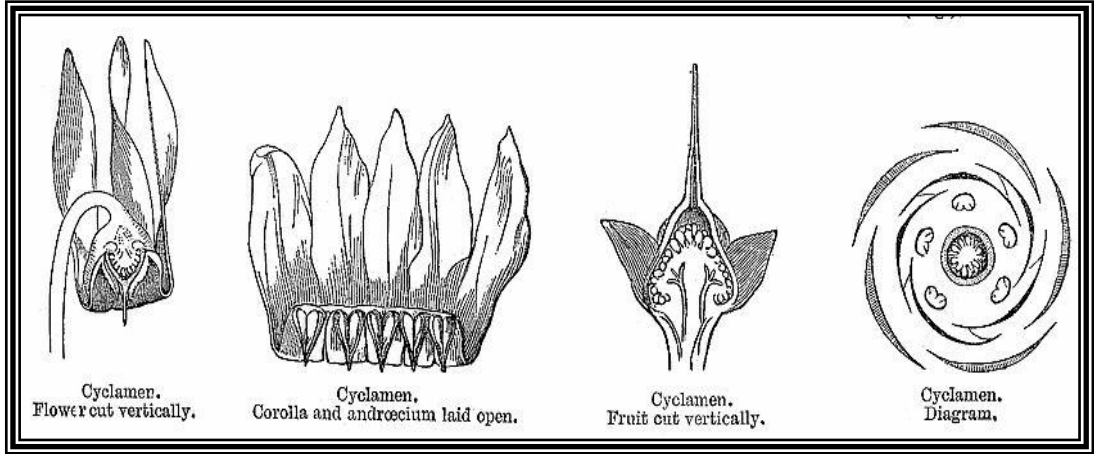
- ✓ *C. graecum* Link.
- ✓ *C. cilicicum* Boiss & Heldr.
- ✓ *C. mirabile* Hildebr.
- ✓ *C. hederifolium* Aiton.

#### Bu türlerden endemik olanlar şunlardır

- ✓ *C. repandum* Sm-in Sibth. & Sm.
- ✓ *C. parviflorum* Pobed
- ✓ *C. pseud-ibericum* Hildebr
- ✓ *C. trochopteranthum* O. Schwarz
- ✓ *C. cilicicum* Boiss & Heldr.
- ✓ *C. mirabile* Hildebr.

Bundan dolayı 6 endemik türle Anadolu bir *Cyclamen* cennetidir (Ekim ve ark., 1991).

Bu cinsin genel özellikleri ise yumru ve toprak altı gövdesi çok yıllık otsu bitkilerdir. Yapraklar uzun saplı, oval, dairemsi veya kordat tabanlı, tam veya farklı şekillerde dişli, dişler arası revolüt. Çiçekler tek başlarına ve öne doğru eğiktir. Çiçek sapları uzundur, genellikle meyva olgunlaşırken spiral şeklinde kıvrılır. Kaliks tam, 5 lobludur. Korolla kısa ve yarı küre şeklinde tüplü eflatun pembe veya beyaz renklidir. Lobları geriye kıvrıktır veya nadiren antere yapışıktır, 5 stamenlidir. Stamenler 5 adet ve korolla'nın tabanındadır, filamentler çok kısa, anterler ise geniş olup, koni oluşturacak şekilde birbirlerine yaklaşmıştır. Ovaryum üst durumludur, stilus ince ve genellikle anterlerden uzundur. Kapsül geniş ve büyük, tepeden veya değişik yerlerden 5 yarıkla açılır (Şekil 1.1). Tohumlar ıslak ve yumuşaktır, yapışkan bir salgı ile kaplıdır ve genellikle tek tek'tir (Davis, 1978).



Şekil 1.1 : *Cyclamen* bitkisinin çiçek yapısı

*Cyclamen* ismi latince “kuklamis”, “kuklamiren” sözcüklerinden türetilmiştir. Latince “kuklos” veya “cyclos” daire anlamına gelmektedir. *Cyclamen* ismi bu bitkilere M.Ö. 370-285 yılları arasında yaşayan Theophrastus tarafından verilmiştir. Bitkiye bu ismin verilmesinin sebebi ise toprak altı yumrularının yuvarlak, yaprakların daire şeklinde olmasından veya meyva saplarının daire şeklinde helezonlar yaparak toprağa doğru uzanmasından dolayıdır (Tanker ve ark., 1984).

Bu cinste yer alan türler ülkemizin değişik yörelerinde “domuz ekmeği, domuz turpu, domuz ağırşığı, dağ menekşesi, siklamen, tavşan kulağı, deve tabanı, buhur otu, buhur meryem, yer somunu, dana göbeği, kır menekşesi, köstebek, köstüköpen, köstüköpeği, kuskusa, menekşe kökü, tavşan paçası, topalak isimleri ile tanınırken Avrupa dillerinde ise “morrón de cochón, savbnot, sowbread, ciclaminó, pan de



puerco'' isimleri ile tanınmaktadır. Bu isimlerden de anlaşılacağı üzere domuzlar bu bitkinin yumrularını fazlaca tüketmektedir. (Baytop, 1994; Tanker ve ark., 1984).

*Cyclamen* türleri yaprak ve çiçeklerinin güzelliğinden dolayı sevilen bir süs bitkisi olup, bu amaçla yetiştirilen bir çok kültür formu vardır. Ayrıca ülkemizde doğal olarak yetişen türlerin bir kısmı da tabiattan sökülerek süs bitkisi olarak başta Hollanda olmak üzere Avrupa ülkelerine ihraç edilmektedir (Ekim ve ark., 1991).

*Cyclamen* türlerinin özellikle sonbaharda çiçek açan türlerinin dış satımının yapılması ve Güneybatı Anadolu'da yapılması nedeniyle bu bölgelerde yapılan araştırmalarda 5-15 yıldır sökülme yapılmasına rağmen, bitkinin gözle görülebilir bir tahribata uğramadığı ve halen bol miktarda olduğu gözlenmiştir. Yapılan araştırmada, bitkinin münavebe ile toplanmasından ve özellikle sık çalı altında yetişen örneklerin kolayca sökülmemesinden dolayı bitkinin kendini yenilemesi kolaylaşmaktadır (Ekim ve ark., 1991).

### **1.1.3 *Cyclamen graecum* Link.**

Yumrular küresel ya da oval, çatlaklı, mantarimsıdır. Kökler merkezden aşağı yüzeylere yayılır kalınlaşır ve geri kıvrılır. Sonbaharın sonlarına doğru çiçeklenir, yapraklar çiçeklerden sonra ortaya çıkar. Kordat çok az köşelidir, 3-14 cm uzunluğunda ve genişliğindedir, marjini çok hafif kalınlaşır ve kabuk bağlar, dentrikulattır. Korolla soluk pembe nadiren beyaz, loblar 2 cm uzunluğunda ve auriculate'tır. Loblar koyu kırmızı renktedir. Korolla 2 ya da 3 damarlıdır. Meyve pediselleri tabandan ya da ortadan düzensiz şekilde dağılır. Bitki 10 cm kadar boylanır. Doğada rahatlıkla bulunabilen bir çeşittir.

- Yayıllık alanları: *Pinus brutia* ormanları, makilik alanlar, kireçli kayalıklardır.
- Yetiştirme yüksekliği: 1-100 m



Şekil 1.2 : *C. graecum* bitkisi

## 1.2 İçerik Tanımlamaları

### 1.2.1 Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS)

Numune doğrudan kütle spektrometresinin iyonlaşma kaynağına verilebileceği gibi, çoğunlukla iyonlaşma kaynağı ile son bulan bir kromatografik teknik de kullanılabilir. Kütle spektrometresi ile birlikte kullanılabilen tekniklere örnek olarak gaz kromatografisi (GC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve kapiler elektroforez (CE) verilebilir. Kütle spektrometresi ile tespit edilebilen bileşik gaz fazında verilmeli ve saf olmalı, yani karışım halinde olmamalıdır. Pek çok gerçek örnek ise karışım olduğu için bunları ayırmak ve buharlaştırmak için kullanılacak en uygun yöntem kütle spektrometresini gaz kromatografisine bağlamaktır. Bileşenler uçucu olmayan bir sıvı ile kaplı GC kolonundan, kaynama noktalarına ve kolon-taşıyıcı gaz etkileşimlerine göre ayrılırlar. Gaz faz ile etkileşim ne kadar fazla ise ayırım o kadar hızlıdır. Bileşenin, enjeksiyon portundan dedektöre ulaşmaya kadar geçen süre olarak tanımlanan alıkonma zamanı da kendisine özgüdür. GC ile elde edilen şiddete karşı zaman dedektör sinyali eğrisi, bileşenlerin elüsyonunu simgeler ve kromatogram olarak adlandırılır. Kromatogramdaki her pik de bir bileşeni simgeler. Pik alanı karışımındaki bileşenin miktarını simgelerken; alan ile konsantrasyon arasında normal şartlarda lineer bir ilişki söz konusudur GC-MS; kompleks karışımların ayrımı, tespit ve tayinlerinin yapılabildiği bir tekniktir. Bu nedenle de molekül kütlesi düşük olan yüzlerce bileşiğin analizi için idealdir. Bir bileşiğin GC-MS ile analiz edilebilmesi için termal olarak kararlı ve yeterince uçucu olması gerekmektedir. Ayrıca fonksiyonel gruplu bazı bileşiklerin, veri kalitesini etkileyecek adsorpsiyon problemlerini önlemek için, analiz öncesi türevlendirme gibi bazı kimyasal modifikasyonları gerekebilmektedir. Örnekler organik çözücüde

çözölmüş olarak verildiği için de toprak, sediment, doku gibi örneklerin organik çözücüye alınması için çeşitli teknikler gerekir. Örnek, GC girişine enjekte edilir; buharlaşır ve taşıyıcı gaz (genellikle helyum) ile kolondan süpürölür. Örnek bileşenleri, kolon dolgu maddesi (durgun faz) ve taşıyıcı gaz (hareketli faz) ile etkileşimlerine göre ayrılırlar (Seven, 2006).

### **1.3 Antioksidanlar**

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek vücudun onlardan etkilenmemesini veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Serbest radikallerin seksen farklı hastalığa neden olabileceği söylenmekte, enfeksiyon dışı olan bu hastalıkların başında kalp ve beyin damarlarının tıkanmasına bağlı hastalıklar, kanserler ve artirit gelmektedir.

Antioksidanlar hepimizin bildiği vitamin C, vitamin E ve A vitamininin öncü maddesi olan betakaroten, bitki ve sebzelerin genelde renkli maddelerini oluşturan flavonoidler ve bunlardan elektron alan selenyum, çinko gibi maddelerdir. Serbest radikaller, en dış yörüngede bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığına kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışan atomlardır. Serbest radikal yaratan kaynaklar radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir.

Genelde oksijen, hidrojen ve hidroksi tipinde olan bu serbest radikaller elektron açıklarını elektron verme özelliği yüksek olan antioksidanlardan sağlarsa bir başka biyomolekülü indirgememiş olurlar ya da serbest radikaller tarafından etkilenmiş biyomoleküller, antioksidanlardan elektron alarak yenilenebilir.

Teorik olarak mümkün görünse de antioksidanların vücudun tüm bölümlerine mesela beyin, omurilik sıvısına, kemik iliği veya bazı dokulara, kanda bulunduğu konsantrasyonda girmesi mümkün değildir. Bunun yanı sıra, antioksidanlar elektron aldıklarında bu elektronları verebilecekleri başka akseptörlerinde yanlarında bulunması gerekir. Belki bu nedenle doğal olarak alınan birbirine benzer ve bir arada bulunan antioksidanlar ilaç gibi alınan saf ve bir tip antioksidanlardan daha

değerlidir. Antioksidanlar açısından zengin olan beslenme alışkanlıklarında bazı hastalıkların az görünmesi söz konusudur. Fransızlarda kalp hastalığının, Güneydoğu Asya'da yaşayanlarda meme kanserinin az bulunması gibi.

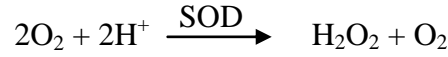
### 1.3.1 Serbest radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip olan atom ya da moleküllerdir. Bu tür atom ya da molekül, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, genel olarak (R•) simgesi ile gösterilir. Serbest radikaller; canlı organizmada çeşitli (anabolik ve katabolik) reaksiyonlar sonucunda meydana gelebilirler ve devamlı olarak endojen antioksidanlarla etkisizleştirilmeye çalışılırlar. Böylece, sağlıklı bir organizmada daima bir denge oluşur. Ancak, serbest radikalın oluşum hızı savunma mekanizmasını aşarsa, yani biyolojik sistemlerdeki oksidatif denge bozulursa, çok sayıda ölümcül hastalığın (astım, damar tıkanıklığı, kronik akciğer, şeker, beyin damar hasarı, kalp, hipertansiyon, grip, miyokardial enfarktüsü, zatüre, vb. hastalık) oluşumunu tetikleyen ve oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar (Scheibmeir ve ark., 2005; Ünlü, 2001).

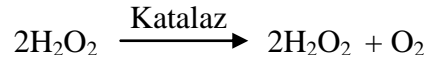
Yaşayan organizmalardaki önemli serbest radikaller: hidroksil (OH•), süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), azot oksit (NO•) ve peroksil (RO<sub>2</sub>•)'dir. Peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>), hipoklorik asit (HOCl), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), singlet oksijen <sup>1</sup>Δg (genelde <sup>1</sup>O<sub>2</sub> olarak yazılır) ve ozon (O<sub>3</sub>) gibi maddeler serbest radikal değildir. Ancak bu maddeler canlı organizmalarda kolaylıkla serbest radikal reaksiyonların oluşumuna neden olabilirler. Reaktif oksijen türleri (ROS) terimi; sadece O<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO•, RO<sub>2</sub>• ve OH• radikalleri için değil aynı zamanda ONOO<sup>-</sup>, HOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, <sup>1</sup>Δg ya da <sup>1</sup>O<sub>2</sub> ve O<sub>3</sub> gibi radikal olmayan türleri de kapsayacak biçimde kullanılır (Aruoma, 1998; Fang ve ark., 2002).

Süper oksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ve hidroksil (OH•) radikali, genellikle bir canlı organizmada en fazla oluşan reaktif oksijen türleridir (Wilson ve ark., 2001). Hidroksil (OH•) radikali, serbest radikaller arasında en reaktif olanıdır. Bu radikal lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan süreçle, hücre membranlarına ve lipoproteinlere zarar verir (Droge, 2002).

Süper oksit iyon radikali; polipeptitler, şekerler ya da nükleik asitlerle doğrudan tepkimeye girmez ve onun lipitleri peroksitleme yeteneği tartışmalıdır. Ortamdaki peroksit radikali denklemde verilen dismutasyon reaksiyonu ile azalır.



Süper oksit dismutaz (SOD) enzimleri, biyolojik sistemlerde diğer hidrojen peroksit uzaklaştırma enzimleri (glutasyon peroksidazlar ve katalazlar) ile birlikte çalışarak, süperoksitin bir elektronunu uzaklaştırarak hidrojen peroksit ve oksijen oluşumunu hızlandırmak için bu reaksiyonu katalizlerler. Bütün bu enzimler için dönüştürme hızı en yüksek olan enzim katalaz enzimidir. Katalazın bir molekülü ile bir dakika içinde yakalşık olarak altı milyon hidrojen peroksit molekülün; aşağıda denklemde gösterilen reaksiyonla suya ve oksijene dönüştürebilir (Valko ve ark., 2006).

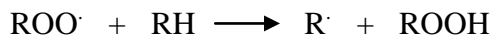
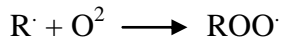


Reaktif oksijen türlerine en hassas molekülün, hücre membranının ana bileşeni olan lipitler olduğu düşünülmektedir. Canlı organizmada yeterli miktarda bulunan reaktif bir ajan, lipit peroksidasyonunu başlatabilir. Reaktif ajan yağ asidinin hidrojenlerinden birini kopararak radikal oluşumuna ve oluşan bu radikalde komşu yağ asitlerinden birinin protonunun koparır ve yeni bir radikalın oluşumuna sebep olur. Bu şekilde devam eden reaksiyonlar sonucunda ortamdaki radikal konsantrasyonu artar ve sonuç olarak da lipit peroksidasyonu meydana gelir. Oksidasyon mekanizması: (1) Başlangıç basamağı (lipit serbest radikal oluşumu), (2) Yayılma (peroksil radikali ve yeni lipit radikal oluşumu) basamağı ve (3) Sonlanma (radikal olmayan türlerin oluşumu) basamağı tepkimelerinden oluşmaktadır (İbadova, 2006).

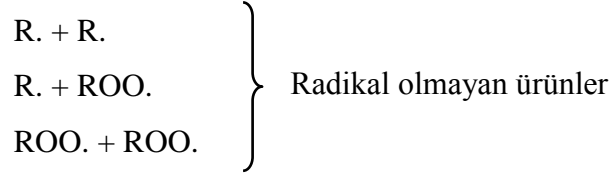
1) Başlangıç basamağı reaksiyonları;



2) Yayılma basamağı reaksiyonları;



### 3) Sonlanma basamağı reaksiyonları;



Yaş ilerledikçe insanların savunma mekanizmaları zayıfladığından, vücudun serbest radikal dengesi bozulmaktadır. Çünkü vücudun doğal antioksidanları olan endogenaz enzimlerin üretim miktarı azalmaktadır. Bu yüzden dengenin yeniden sağlanması için antioksidan içerikli doğal besinlerin alınması önem kazanmaktadır. Doğal yollardan aldığımız besinlerde bulunan ve antioksidan özelliğe sahip olan maddeler (doğal antioksidanlar), serbest radikallerin etkilerini nötralize ederek, kanser ve kalp hastalıkları gibi toplumda erken ölümlerin başlıca nedenleri olan hastalıkları ve erken yaşlanmaya neden olan zincir reaksiyonlarının oluşumunu önlemekte veya geciktirmektedir (Floyd, 1990).

Son yıllarda sentetik antioksidanların (BHA, BHT, PG, TBHQ, NDGA, vb.) kendilerinin ya da buldukları ortamda oluşturdukları yan ürünlerinin kanserojen olduğu veya negatif sağlık etkilerine neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Namiki, 1990; Pokorny, 1991). Bunun doğal sonucu olarak da doğal kaynaklı antioksidanlara olan eğilim gittikçe artmaktadır.

Baharatlar asırlardan beri insanoğlunun ilgisini çekmiş olup, birçok hastalığın tedavisinde, dini törenlerde, tat ve koku maddeleri üretiminde kullanılmıştır. Günümüzde, baharatlardan ya da bunlardan izole edilen antioksidan etkili maddelerden; gıda endüstrisi (gıdalara tat, lezzet ve renk vermek, raf ömrünü uzatmak), eczacılık (tentür, şurup), parfümeri ve kozmetik sanayi vb. gibi birçok endüstri alanında geniş bir şekilde faydalanılmaktadır (Türker ve Bayrak, 1997).

#### 1.3.2 Antioksidan etki tipleri

Antioksidan ajanlar oksidan moleküllere karşı etkilerini aşağıdaki yollarla gösterirler:

- i. Scavenging (süpürücü/temizleyici) etki gösterenler: Yani radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale

getirirler. Örnek olarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GP) gibi enzimleri ve metal bağlayıcı bazı proteinleri verebiliriz.

**ii.** Quencher (giderici) etki gösterenler: Oksidanlarla etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini söndüren ve inaktif hale getiren bileşiklerdir. Örnek olarak, vitaminler (A, C ve E vitaminleri), flavonoidler, mannitol ve antosiyuanidinler verilebilir.

**iii.** Chain breaking (zincir kırıcı) etki gösterenler: Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Örnek olarak bazı vitaminler, ürik asit, bilirubin ve albümin gösterilebilir.

**iv.** Repair (tamir edici) etki gösterenler: Bu grupta DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Canlılar da mekanizmalar sonucu oluşan serbest radikaller, çoğu zaman lipid oksidasyonuna ve buna bağlı olarak da hücre ölümüne neden olmaktadır. Antioksidan bir madde bu oksidasyonun çeşitli aşamalarında yukarıda özetlenen mekanizmalar yoluyla koruyucu özelliğe sahip maddelerdir. Sentetik olarak üretilebildiği gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilir. Bu tür maddeler, oluşan serbest radikalleri ya doğrudan temizleyerek ya da bu türlere elektron veya hidrojen aktarımı yaparak etkisiz hale getirir. Genel anlamda iki tür antioksidant madde tanımlanır. Birincil antioksidant maddeler, zincir kırma tepkimeleri oluşturan veya serbest radikal temizleyen türlerdir. İkincil antioksidant maddeler veya koruyucu antioksidan maddeler ise, metallerin aktivasyonunu azaltıcı lipit hidroperoksitlerin istenmeyen uçucu türlere parçalanmasını engelleyen, tekli oksijen yakalayan yada birincil antioksidantların yeniden üretimini sağlayan türlerdir. Ayrıca mekanizmalardaki bu çeşitlilik pek çok maddenin araştırılmasına olanak sağlamıştır.

Gıdalardaki bitkisel ve hayvansal yağların oksidatif yıkımı, sekonder potansiyel toksik bileşiklerin oluşumuyla besin kalitesini ve güvenilirliğini düşürerek tat ve koku bozunumundan sorumludur. Antioksidantların ilavesi besinlerin lezzetini, rengini korumak ve vitaminlerin yıkımını engellemek için gereklidir. Gıdaların korunumunda kullanılan çoğu yaygın sentetik antioksidantlar bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve ter-bütül hidrokinon (TBHQ)'dur. Gıdalarda antioksidant olarak tokoferoller de kullanılır. Raporların BHT ve BHA'nın toksik olduğunu göstermesi ve tüketicinin gıda katkı

maddelerinin güvenilirliği hakkında bilinçliliğinin artması nedeniyle; düşük etkisi, yüksek maliyeti olmasına rağmen tokoferol gibi alternatif, doğal ve güvenilir daha fazla gıda antioksidantlarının tanımlanması gerekmiştir (Sherwin, 1990; Wanasundara ve Shahidi, 1998).

### **1.3.3 Antioksidan savunma sistemleri**

Reaktif oksijen veya nitrojen türlerini oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar ‘antioksidanlar’ olarak bilinirler.

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.

Antioksidanlar hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler. Antioksidan savunma sistemleri endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere iki guruba ayrılabilir (Konukoğlu, 2000).

#### **1.3.3.1 Endojen (doğal) antioksidanlar**

##### **1- Enzimler**

- a) Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- b) Süperoksid dismutaz
- c) Katalaz
- d) Glutatyon-S-transferaz
- e) Hidroperoksidaz

##### **2-Enzim olmayanlar**

- a) Lipid fazda bulunanlar
  - E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)
  - $\beta$ -karoten
- b) Sıvı fazda (Hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar.
  - C vitamini (Askorbik asit)
  - A vitamini (retinol)
  - Melatonin



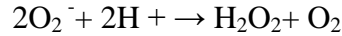
- Ürat
- Sistein
- Seruloplazmin

### **Enzimler**

Bunlar süpürücü etki gösterirler yeni radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Bu enzimler süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, mitokondrial sitokromoksidaz, glutatyon, S-transferaz ve hidroperoksidaz (Konukoğlu, 2000).

### **Süperoksit dismutaz (SOD)**

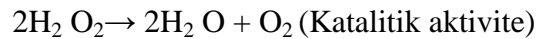
Bu enzim süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak detoksifiye eder. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim SOD'dur. SOD'lar aşağıdaki reaksiyonu katalizleyen metaloenzimlerin bir ailesidir (Konukoğlu, 2000; Allen, 1995).



SOD'un Cu/Zn, Fe veya Mn içeren izoenzimleri vardır. Bu izoenzimler bitki hücrelerinin çeşitli kompartımanlarında bulunur. Bütün bitkilerin kloroplastlarında Cu/Zn-SOD bulunurken Fe-SOD bazı türlerin kloroplastlarında bulunur. Mn-SOD izoenzimi fotoinhibitör şartları altında fotooksidasyondan koruma sağlamada Cu/Zn-SOD'dan daha az etkilidir (Konukoğlu, 2000; Allen, 1995).

### **Katalaz**

Katalaz enzimi neredeyse aerobik hücrelerin peroksizomlarında mevcut olup serbest radikalleri oluşturmaksızın hidrojen peroksidi moleküler hidrojen ve suya dönüştürerek hidrojen peroksidin zararlı etkisinden hücreyi korur. Yüksek konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonunu sağlar.

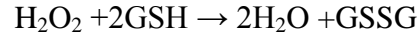


Peroksidaz aktivitesine sahip olmasına ek olarak bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak; diğerini de oksijen veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Kan, kemik iliği, mukoz membran, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarda bulunmaktadır. Beynin katalaz aktivitesi oldukça düşüktür. Katalaz

hidrojen peroksida karşı rölaf olarak düşük aktivite gösterir. Fizyolojik koşullarda hidrojen peroksidin ortadan kaldırılmasındaki rolü önemli değildir. Düşük hızlarda hidrojen peroksidin oluştuğu durumlarda ya da yüksek elektron alıcısı derişimlerin de peroksidatif tepkime ile hidrojen peroksid oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (Chaudere ve Ferrari-Ilıou, 1999).

### **Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)**

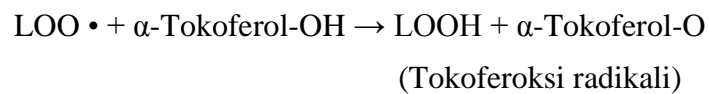
Düşük konsantrasyonlarda oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonunu sağlar. GSH-Px bu reaksiyonu katalizler.



Katalaz ve GSH-Px süperoksit radikali tarafından inhibe edilirken, SOD hidrojen peroksit tarafından inhibe edilir (Chaudere ve Ferrari-Ilıou, 1999).

### **E Vitamini (Tokoferol )**

Tokoferol yapısında olup farklı izomerleri vardır.  $\alpha$ -Tokoferol,  $\beta$ -Tokoferol,  $\gamma$ -Tokoferol,  $\delta$ -Tokoferol geniş doğal dağılımı ve en büyük biyolojik aktiviteyi gösterir. Antioksidan aktivitesi en büyük olan  $\alpha$ -Tokoferoldür. Yapısında bulunan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. En yüksek vitamin E konsantrasyonu mitokondri ve mikrozoamlar gibi membranca zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan vitamin E hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyucu savunma elemanıdır. Bir molekül vitamin E 100 molekül yağ asidinin peroksidasyonunu önleyebilir. Vitamin E oksijenperoksit ( $\text{O}_2^-$ ), hidroksil radikali ( $\bullet\text{HO}$ ), singlet oksijen ( $\text{O}_2$ ), lipid peroksil ( $\text{LOO}\bullet$ ) radikallerini ve diğer radikalleri temizler. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Lipid peroksil radikallerini yıkarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir (Halliwell, 1995).



Oluşan tokoferoksi radikali ( $\alpha$ -tokoferol-O) stabildir ve kendi kendine peroksidasyonu başlatmak için yeterince reaktif değildir. Glukronik asitle oksidasyona uğrayarak safra yolu ile atılır (Halliwell, 1995).

E vitamini bitkisel yağlarda, hayvan etlerinde, kuruyemişte, keten tohumunda bulunur. Diyetle yağda çözülmüş olarak bulunur. Yağın sindirimi sırasında açığa çıkar ve pasif difüzyonla emilir (Halliwell, 1995).

Hayvanlarda yapılan deneylerde vitamin E kas distrofisi kendiliğinden düşük bazı hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği anlaşılmıştır. Vitamin E eksikliği ayrıca hayvanlarda türden türe değişik rahatsızlıklar ortaya çıkarmıştır. Örneğin erkek farelerde kısırlık, dişi farelerde düşük, civcivlerin damarlarında yapı bozukluğu gibi sorunlar görülebilir. Vücudun bütün dokularında bulunur. Vitamin E eksikliği, kas yorgunluğu ve zayıflığı, vitamin E fazlalığı ise hipertansiyon ve bağırsak kramplarına yol açar. E vitamini vücutta oksijenin en iyi şekilde kullanılmasına yardım eder. Yaşlanmaya karşı etkilidir. Kalp rahatsızlıklarına karşı etkilidir, cildin elastikiyetini korur.

### **C Vitamini (Askorbik Asit)**

Kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan bir ketolaktondur. Yapısı karbonhidratlardan heksozlara benzer. Heksonoikasidin laktonudur. Hayvanların çoğu C vitamini sentezini kendisi yapabilir fakat insanlar yapamazlar. C vitamini vücutta hidroksilasyon reaksiyonları, demir emilimi antioksidan olarak görev alır. Kollojen sentezi için gereklidir. Kollojen glisin (%33), prolin (%10), hidroksiprolin (%10), hidroksilizin (%5)'den oluşur. C vitamini kollojen yapısında yer alan hidroksiprolin sentezini sağlayan prolin hidroksilazdaki demirin indirgenmesinde görev alır. Hidroksilasyon bozukluğunda; kırık, dentin, kemiklerdeki intrasekiler bağ doku proteinlerinin sentezi bozulur. C vitamini eksikliğinde; kemik büyümesi geriler, kan damarları kolay zedelenir, skorbit hastalığı oluşur, yaralar geç iyileşir, diş gelişimi bozulur, diş eti kanamaları olur, kapiler damarların zedelenmesine bağlı petesi ve ekimozlar görülür. Çocuklarda C vitamini eksikliği sonucu Barlow hastalığı görülür, kurbağa ayağı pozisyonu görülür, diş etleri şişer ve kanar. C vitamini hayvansal besinlerde bulunmakla beraber en çok yabani gül tohumu, limongiller, kuş üzümünde bulunur. Taze sebze ve meyvelerde, özellikle portakal greyfurt, turuncgillerde, çiğ lahana,

domates ve şalgamda bulunur. Vücutta depolanmadığından, her gün düzenli olarak alınması gerekir (Halliwell, 1995).

### **A Vitamini (Retinol)**

15 C'lu doymamış zincirli bir alkoldür. Alkol olduğu için genellikle ester oluşturur, yüksek karbonlu yağ asitleri ile esterleşmiş durumdadır. Bunlar hava oksijeni, sıcaklık, ışık etkisi, katalizörler gibi fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı dayanıklıdır (Halliwell, 1995).

Bu vitaminin özellikle göz sağlığı, cilt ve bağışıklık sistemi üzerinde önemli olduğu bilinmektedir. Büyüme döneminde çok gerekli olan bu vitamin, hamilelik ve emzirme dönemleri için de önem taşımaktadır. Hücrelerin yeniden yapılanmasında rol oynamaktadır (Halliwell, 1995).

Doğal A vitamini kaynakları; süt ürünleri, ciğer, balık ve yumurtadır. Günlük doz olarak, kadınlar için 600 mikrogram, erkekler için 700 mikrogram olarak belirlenmektedir. Bir porsiyon ciğerde günlük dozun sekiz katı bulunmaktadır (Halliwell, 1995).

### **â-Karoten (Pro-vitamin A)**

Oksitlenmeye karşı etkili olan bu vitamin, vücudu değişik kanser çeşitlerine karşı korur. Ayrıca vücut tarafından A vitaminine dönüştürülebilir. Bunun gerçekleşmesi için vücudun lipit, E vitamini, çinko ve selenyuma ihtiyacı vardır.

Doğal beta karoten kaynakları; yeşil, turuncu ve kırmızı sebzeler ve meyvelerdir. Bunlar arasında havuç, acı biber, kabak, ıspanak, kayısı, kavun ilk sıradadır (Halliwell, 1995).

### **1.3.3.2 Eksojen antioksidanlar (ilaçlar)**

- 1-Ksantin oksidaz inhibitörleri
- 2-NADPH oksidaz inhibitörleri
- 3-Rekombinant süperoksit dismutaz
- 4-Trolox-C (E vitamini analogu)
- 5-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler
- 6-Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları

7-Demir redoks döngüsünün inhibitörleri

8-Nötrofil adezyon inhibitörleri

9-Sitokinler

10-Barbitüratlar

11-Demir şelatörleri

#### **1.4 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri**

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

a) Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)

b) Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

HAT-esaslı analiz yöntemlerinin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir ve kantitasyon kinetik eğrilerden türetilir. HAT-esaslı yöntemler genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidandan oluşur.

ET esaslı yöntemler reaksiyon sonunun indikatörü olarak bir oksidan (aynı zamanda reaksiyonu takip etmek için prob olarak kullanılır) ile redoks reaksiyonunu içerir. HAT ve ET esaslı yöntemler bir örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal (veya oksidan) süpürücü kapasitesini ölçmeye dönüktür. HAT analiz yöntemleri:

a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,

b) Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC),

c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP),

d) Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir.

ET esaslı analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimi ile bağlantılıdır. ET esaslı analiz yöntemleri:

a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi,

b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü,

- c) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü,
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- e) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- f) CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) yöntemi olarak sıralanabilir.

Çalışmalarda en fazla kullanılan yöntemler ise:

- Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini
- DPPH ile serbest radikal süpürücü etki tayini
- Demir-tiyosiyonat metodu
- Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)
- $\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (total antioksidan aktivite) (Tunalıer ve ark., 2004).

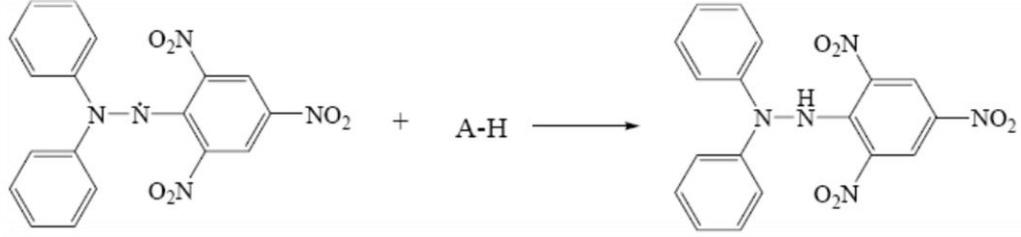
#### **1.4.1 Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini**

BHT ve çalışmada elde edilen ekstraların lipit peroksidasyonuna karşı etkileri, yağlarda bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan bozunma ürünlerinin su içine absorbe edilerek suyun iletkenliğinin değişmesi prensibine göre çalışan Ransimat cihazı ile test edilmesidir (Tunalıer ve ark., 2004).

#### **1.4.2 DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi**

Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin (Şekil 1.3) antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölçümlerinin yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları (Brand-Williams ve ark., 1995) yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır. Yöntemin esası; antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Kırmızı renkli DPPH radikali 515 nm’de maksimum absorpsiyon verir. DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların

varlığıyla radikalın rengi kırmızıdan sarıya döner. Bu yöntem antioksidanların radikal süpürme kabiliyetlerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir. Antioksidan etkinliği araştırılmak istenen bitkisel ekstraların DPPH radikalini temizleyici etkisi ve bu ekstraların DPPH ile oluşturdukları rengin 517 nm'de ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır (Blois, 1958).



Şekil 1.3 : DPPH antioksidan madde ile reaksiyonu

#### 1.4.3 Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)

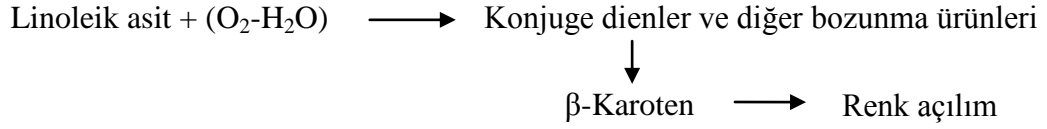
Hazırlanan örnek ekstresine trikloroasetik asit (TCA) ve tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltileri ilave edilerek karıştırılıp, 532 nm'de spektrofotometrede absorbansı okunma esasına dayanmaktadır.

#### 1.4.4 Demir-tiyosiyonat metodu

Uygun çözücü içerisinde hazırlanan örnek çözelti üzerine amonyum tiyosiyonat çözeltisi ilave edilmiştir. Bu karışım üzerine (0.1 ml %3.5'lik) hidroklorik asit çözeltisi içerisinde hazırlanmış ( $2 \times 10^{-2}$  M) demir iki klorür çözeltisi konulup bir süre sonunda 500 nm'de spektrofotometrede absorbansı okunmuştur.

#### 1.4.5 $\beta$ -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite)

$\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi iki şekilde uygulanabilir: Agar difüzyon ve spektroskopik yöntem. Her iki yöntem de linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda çözeltide  $\beta$ -karotenin kaybolan karakteristik sarı renginin absorbansı 470 nm'de UV-spektrofotometrede kaydedilerek sonuçlar standart olarak kullanılan sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılarak verilmektedir (Wettasinghe ve Shaididi, 1999).



### 1.5 Toplam Fenol Miktar Tayini (Folin-ciocalteu yöntemi)

Bu yöntem 1999'da Singleton ve ark. tarafından önerilmiş ve daha sonra farklı uygulayıcılar tarafından geliştirilmiştir. Folin-Ciocalteu reaktifi (Folin Fenol Reaktifi veya Folin-Denis reaktifi) fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde kullanılır. Yöntem test edilen materyalin reaktifin oksidasyonunu inhibe etmesi için gerekli miktarını ölçer (Vinson ve ark., 2005). Ancak bu reaktifin sadece total fenolik bileşik miktarını ölçmediği ve örnek içinde mevcut tüm indirgen maddelerle de reaksiyon vereceği bilinmektedir. Bu nedenle reaktifin sadece örnekteki fenolik bileşik düzeyini değil örneğin total indirgeme kapasitesini de ölçtüğü konusunda tartışma vardır (Ikawa ve ark., 2003). Buna rağmen Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğinin tayininde kullanılan standart bir yöntemdir. Ayrıca bu reaktifin ilaç analizinde (Rao ve ark., 1978), idrar gibi biyolojik örneklerde (Roura ve ark., 2006), gıda ürünlerinde (Mogalhaes ve ark., 2006) fenolik bileşik düzeyi veya indirgeme kapasitesi ölçümleri için genişletilmiş veya modifiye edilmiş uygulamaları vardır.

### 1.6 *Cyclamen graecum* Link Türünün Fitokimyasal Yapısında Bulunan Bazı Organik Maddeler

#### 1.6.1 Alkaloidler

Alkaloidler, insan ve hayvan organizmasında karakteristik fizyolojik etkilere sahip ve genellikle bitkilerde bulunan N içeren kompleks yapıda bazlardır. Bilinen alkaloid sayısı 3000'den fazladır. Bitkilerde alkaloid oranı %0.01-%10.00 arasında değişir (Koç, 2002).

İlk bulunan alkaloid 1803 yılında keşfedilen morfindir. Bu keşiften sonra alkaloid türevi maddelere ilgi artmış ve birçok yeni alkaloid izole edilmiş ve tedavide kullanılmaya başlanmıştır. Alkaloidlerin tam bir tanımını yapmak gerekirse;



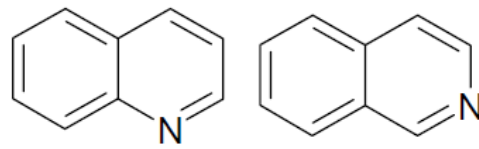
bitkilerden elde edilen az miktarda bile çok yüksek fizyolojik ve farmakodinamik aktivite gösteren halka içinde bir veya daha fazla N atomu taşıyan az veya çok bazik reaksiyon gösteren maddelerdir (Tanker ve Tanker, 1998).

En fazla alkaloid dikotillerde bulunmaktadır. Sıcak bölge bitkileri alkaloid bakımından zengindirler. Alkaloidler bitkinin her organında bulunabilmektedir. Ancak her bitkide bulunduğu yer farklıdır. Bitkide nadiren bir alkaloid bulunur. Genel olarak bitkide birbirine benzeyen alkaloidler birlikte bulunmasına karşılık nadiren bir alkaloid taşıyan bitkilerde bulunmaktadır (Tanker ve Tanker, 1998).

### 1.6.1.1 Kimyasal yapı

Alkaloidler kimyasal olarak amonyağa benzer bileşiklerdir. Molekülünde oksijen bulunanlar genellikle sıvı, uçucu ve kuvvetli kokuludur. Diğerleri ise katıdır. Genel olarak suda az, organik çözücülerde ise çok çözünürler. Genel olarak acı bir tatları vardır (Cordell, 2000).

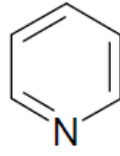
Alkaloidler çok çeşitlidir. Kimyasal yapılarına göre Pseudo Alkaloid (heterosiklik azot halkası içerenler ancak azot kaynağı aminoasit değildir), Proto Alkaloid (azot halka içinde değil, yan zincirlerde bulunur) ve Gerçek Alkaloidler (heterosiklik azot halkası içerenler ancak azot kaynağı aminoasittir) Alkaloidleri; Kinolein ve izokinolein alkaloidleri (kinin, eroin, morfinnaskopin, kodein vs.), piperidin alkaloidleri, piperidin ve piridin alkaloidleri (nikotin vs.), tropan alkaloidleri (atropin, kokain vs.), pirolizin ve kinolizin alkaloidleri, indol alkaloidleri (Vincristin, vinblastin, striknin vs.), imidazol alkaloidleri, purin alkaloidleri (kafein vs.) ve steroidal alkaloidleri kimyasal olarak sınıflandırabiliriz (Tanker ve Tanker, 1998).



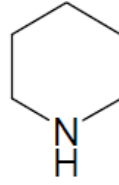
Kinolein

Izokinolein

Şekil 1.4 : Kinolein ve izokinolein alkaloidleri

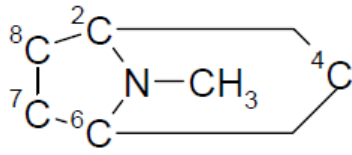


Piperidin

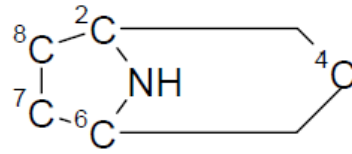


Piridin

Şekil 1.5 : Piridin ve piperidin halka sistemi

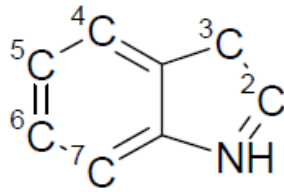


Tropan

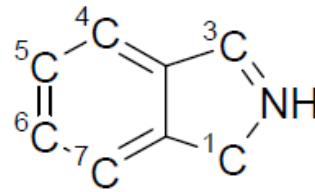


Nortropan

Şekil 1.6 : Tropan ve nortropan halka sistemi

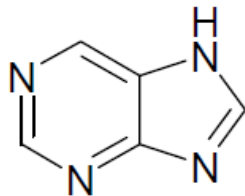


Indol

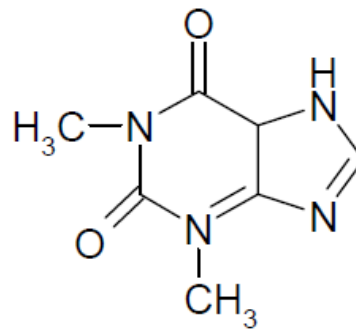


Izoindol

Şekil 1.7 : İndol ve izoindol halka sistemi



Purin



Kafein

Şekil 1.8 : Pürin halka sistemi ve kafein alkaloidi

### **1.6.1.2 Kullanım alanları**

Alkaloidlerin kullanım alanları çok geniştir. Çok öncelerden beri tedavide kullanılmaktadır. Çünkü çok az miktarlarda bile çok yüksek fizyolojik aktiviteye sahiptir. Değişik alkaloid grupları antienflamatuar, antispazmodik, antibakteriyal, göz tedavisinde, kusturucu, hipnotik olarak, analjezik, kanser tedavisinde, afrodisyak, yüksek tansiyonun önlenmesinde, fare zehiri, halüsinojenik, psikoregülatif ve insektisid olarak kullanılmaktadır (Tanker ve Tanker, 2003).

### **1.6.2 Saponozitler**

Bitkilerde bulunan bazı heterozitlerin sudaki çözeltileri çalkalanınca kalıcı köpük meydana getirir. Bu tip heterozitlere saponozit adı verilmektedir. Saponozitler bitkiler aleminde çok yaygın maddelerdir. Scrophulariaceae, Liliaceae, Dioscoreaceae, Caryophyllaceae, Leguminosae gibi familyalar, etken maddesi saponozit olan drogları ihtiva eder (Tanker ve Tanker, 2003).

Saponozitler, amorf, kokusuz, renksiz, tahriş edici lezzette maddelerdir. Genellikle kaynar metanol ve etanolde çözünür, soğutulunca çöker. Kan zehiri olduklarından hemoliz özelliğine sahiptir (Tanker ve Tanker, 2003).

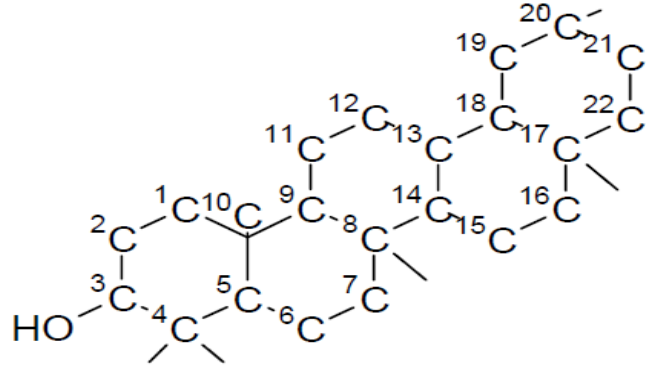
#### **1.6.2.1 Kimyasal yapı**

Bu heterozitlerin yapısında oz olarak genellikle glukoz, bazen galaktoz, arabinoz, ksiloz, ramnoz ve hatta bazen de bir uronik asit olan glukoronik asit bulunur (Tanker ve Tanker, 2003).

Saponozitlerin aglikonuna sapogenol denir. Sapogenoller polisiklik maddelerdir. İçerdikleri sapogenollerin yapısına göre saponozitler ikiye ayrılırlar:

1. Steroidal Saponozitler (C27)
2. Triterpenik Saponozitler (C30)

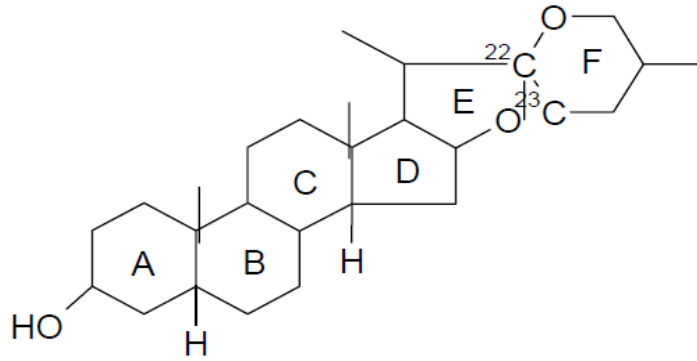
Doğada bulunan saponozitlerin büyük bir kısmı triterpenik saponozitler grubuna dahildir. Bugün 120'den fazla triterpen bilinmektedir. Aglikon 30 karbonludur ve pentasiklik yapıdadır. Nadiren de tetrasiklik yapı gözlenir. Asidik yapıdaki saponozitlerin hepsi bu gruba dahildir. 360 °C'de dehidrojenasyonla pentasiklik bir hidrokarbür verirler. Bu sapogenoller pek çok bitkide bulunan  $\beta$ -amirenol (Şekil 1.9) ile aynı iskeleti taşıır (Tanker ve Tanker, 2003).



### $\beta$ - amirenol

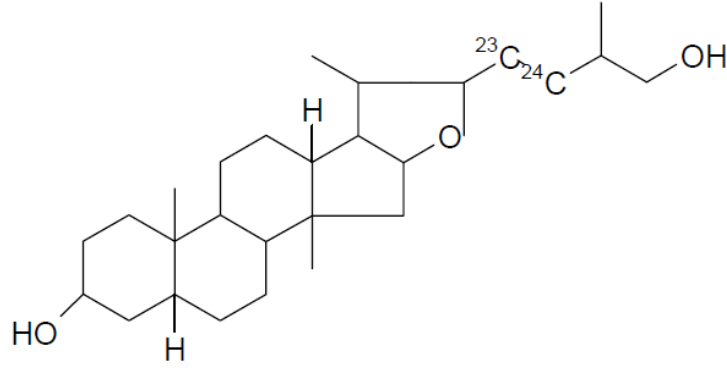
Şekil 1.9 : Triterpenik Saponozitler ( $\beta$  – amirenol iskeleti)

Steroidal saponozitler ise 360 °C’de selenyum muamelesi sonucu bir metil siklopentanofenantren halkası verir. Bu saponozitler iki tipte bulunur; spirostanol ve furostanoldur. Furostanol heterozitleri daha çok bitkinin asimilasyon organlarında bulunurken, spirostanol heterozitleri ise daha çok kök, yumru ve tohumlarda bulunur (Sakar ve Tanker, 1991).



### Spirostanol

Şekil 1.10 : Spirostanol



Furostanol

Şekil 1.11 : Furostanol

### 1.6.2.2 Kullanım alanları

Saponozitler yüzey gerilimini azaltır ve dahilen refleks yolu ile bronş salgısını çoğaltır. Teknik alanda ise temizleyici ve emülsiyon yapıcı olarak kullanılır (Tanker ve Tanker, 2003).

Bazı saponozitler damar permeabilitesini ve kapiller fragilitesini azaltır. Ödem önleyici ve ödem boşaltıcı etkileri vardır. Bazıları ise spazmolitik, diüretik ve ekşpektoran olarak kullanılır (Tanker ve Tanker, 2003).

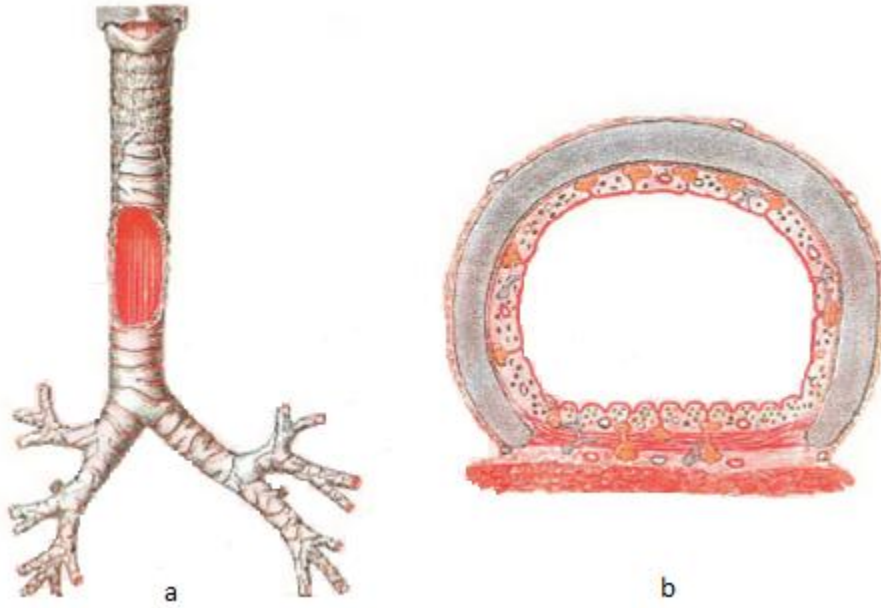
### 1.7 İnsan Trake'sinin Anatomi ve Histolojisi

Trake, larinks ile ara bronşlar arasında uzanan, fonksiyonel olarak ventilasyon için hava yolu sağlayan, solunum sisteminin bir bölümüdür. Krikoid kıkırdağın alt kenarından başlar ve karinada sonlanır (Şekil 1.12). En üstteki trakeal halkanın bir kısmı krikoid kıkırdağın altına girmiştir. Üst hava yolundaki tek dairesel kıkırdak krikoiddir. Servikal trake 6-7 cm, torasik trake 5-6 cm olmak üzere erişkin trakesi 10-13 cm (ortalama 11 cm) uzunluğundadır. Normal trakenin çapı erkeklerde 13-25 mm, kadınlarda 10-21 mm arasında değişmektedir (Aboussouan ve ark., 1994). Ortalama 4 mm yükseklikte ve 2 mm kalınlıkta olan 18-22 kıkırdak halka vardır (Grillo ve Mathisen, 1991). Trakeal halkaların kıkırdak parçası arkadaki membranöz kısım ile birlikte "C" şeklini oluşturur. Arka membranöz duvar özefagusu gevşek bir bağ dokusu ile bağlıdır (Weber ve Grillo, 1992).

Trakenin arka duvarındaki (trake ve özefagusun ortak duvarı) transvers yerleşimli düz kas, lümeni hafifçe daraltabilir ve kıkırdakların dışı doğru esnemelerine bir

dereceye kadar karşı koyabilir. Bu gerilimler ile intra- ve ekstraluminal basınçlar arasındaki denge, trakenin şeklini ve lümen büyüklüğünü sağlar. İnspirasyon lümende genişlemeye yol açar, bu durum en fazla arka duvarda belirgindir. İnspirasyonda lümen sirküler bir şekil alır, ekspirasyonda ise hilal şeklindedir (Arjmand ve Spector, 1996).

Genç erişkinlerde trake hareketlidir ve üst servikal ve mediastinal faysal kılıflar içinde bulunur. Boynun hiperekstansiyonu sırasında trakenin %50'sinden fazlası servikal bölgede yer alır. Fleksiyonda ise trake hemen hemen bütünüyle toraksa yerleşebilir. Trake krikoid kıkırdak seviyesinde subkütanöz yerleşimli iken, karina düzeyinde prevertebral pozisyonundadır. Yaşlanma ile kıkırdakta kalsifikasyon gelişir, trakeal hareket kısıtlılığı, intratorasik yerleşimde artma ve trakeal duvarların esnekliğinde azalma ortaya çıkar (Arjmand ve Spector, 1996).



Şekil 1.12 : İnsan trakeasının önden görünümü (a) ve horizontal kesiti (b)

Trakenin histolojik yapısında mukoza, submukoza, muskularis ve adventisya yapıları vardır. Mukozada yalancı çok katlı silyalı silindirik epitel vardır. Bu epitelde submukozal tubuloasiner bezler ve goblet hücreleri dağılmıştır. Silya, dakikada 1000'den fazla titreşir ve mukus örtüsünü dakikada 1-1.5cm hareket ettirir. Mukozal onarımın hızı 24 saatte 1 milimetre kadardır ve subepitelyal marjinal hücrelerin taşınmasıyla meydana gelir. Enfeksiyon, nekroz ve yabancı cisimler mukozal

onarımı engellerler. Trakeal kıkırdaklar zedelendiklerinde yenilenmezler, ancak kalsifikasyon yada fibrozla iyileşirler (Arjmand ve Spector, 1996).

### **1.8 Sıçan Trake'sinin Anatomi ve Histolojisi**

Sıçan trakesi 1. trakeal kıkırdaktan trakeal bifurkasyona kadar uzanan 33 mm uzunluğunda bir tüptür. "C" şeklinde, 3 mm genişliğinde ve 1.4-2 mm kalınlığındaki yaklaşık 24 kıkırdak halkadan oluşur. Trakenin iç yüzeyini respiratuar epitel döşer. Mukoza içerisinde dağılmış gland ve lenf folikülleri bulunur. Silialı epitele ek olarak goblet hücreleri ve mikrovillus taşıyan hücreler de bulunur (Hebel ve Stromberg, 1976).

İnsan trakesine olan benzerliği ve çalışma kolaylığı nedeniyle çalışmamızda sıçanları kullandık.

Solunum yolu **mukusu** fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından viskoz bir solüsyondur ve farklı hücreler tarafından salgılanır (Samet ve Cheng, 1994). Bu iş için özelleşmiş hücreler goblet hücreleridir ve bu hücreler esas olarak trake de, az sayıda bronşlardaki epitel hücreleri arasında yerleşim gösterirler (Wheater ve ark., 1979). Klara hücreleri küçük solunum yollarında çok yoğun olarak bulunan hücre tipi olup, solunum yolu epitelinde goblet hücrelerine farklılaşma yeteneği gösterirler (Sleigh ve ark., 1988). Ayrıca seröz hücreler de salgılarıyla mukus bileşimine katkıda bulunurlar (Forrest ve Lee, 1991). Salgılanan mukusun %95'i su, % 2'si musinler (glikoproteinler), %1'i salgı ve serum proteinleri, % 1'i lipidler ve % 1'i organik tuzlardan oluşur (Boat ve Cheng, 1980; Tharnton, 1990). Solunum yolları mukusunun fonksiyonları; dış etkenlere karşı koruyucu tabaka oluşturmak, solunum yollarında yenilenmeyi sağlamak, vizkoelastikiyeti sayesinde inspire edilmiş hava ile akciğer içine alınmış olan materyalin temizlenmesini sağlamak ve tutularak taşınmasında "biyolojik taşıyıcı kemer" gibi rol oynamaktır (Samet ve Cheng, 1994).

Musinler, protein bir omurgaya O-glikozid bağlarının yüzlerce oligosakkarid zincirlerle bağlanmasıyla oluşan yüksek moleküler glikokonjugat kümeleridir (Rose, 1992). Musinler, mukus örtünün heterojen molekülleri olup, solunum sekresyonunun esas bileşenleridir (Rose, 1992; Jones, 1977). Respiratorik kanal mukus glikoproteinleri yüksek karbohidrat içeriğe sahip moleküllerdir (Boat ve Cheng, 1980). Musinler, sülfat ya da siyalik asitler gibi asidik gruplarının içeriğine bağlı

olarak nötral ve asidik gruplar olarak sınıflandırılır (Jones, 1977). Asidik musinler, mukozal olarak bağ dokusu ve epitelden köken alırlar. Bunlar güçlü sülfatlı bağ doku musinleri, güçlü sülfatlı epitelyal musinler, zayıf sülfatlı epitelyal musinler (sulfomusin), sialomusinler ve sülfatlı sialomusinlerdir. Bağımsız heksos grupları ile ilişkili çeşitli heksosaminleri içeren nötral musinler, asidik olmayan reaktif grupları bulundurulur. Bunlar epitelyaldır ve solunum kanalı goblet hücrelerinden salgılanırlar (Bancroft ve ark., 1996).

Bu çalışmada, *C. graecum* bitkisinin 0,1 gr/lt ile 0,3 gr/lt ekstraktlarının, sıçanlarda trake mukus maddesinin nötral şekerleri yoğunluğu üzerine etkisinin histokimyasal yöntem ile araştırılması amaçlanmıştır.

### 1.9 *Cyclamen* ile Yapılan Kimyasal Çalışmalar

*Cyclamen* türleri ile yapılan çalışmalarda *C. pseud-ibericum* Hildebr. *C. neopolitanum* Tenn. ve endemik bir tür olan *C. cilicicum* Boiss. and Hildebr var. *intaminatum* üzerinde yapılan çalışmalarda bu bitkilerin yayılışı, morfolojik ve bazı anatomik karakterleri incelenerek, saponozitleri izole edilmiş ve hidroliz edilerek sapogenoller ile ozları teşhis edilmiştir. Araştırmalar sonucunda saponozitlerin, siklamiretin izomerlerinin, glukoz, arabinoz ve ksiloz ile oluşturduğu heterozitler olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda ozların bağlanma sıraları da incelenmiştir (Tanker, 1965a, b; Tanker ve Türköz, 1984). Yapılan başka bir çalışmada *Cyclamen coum* yumrularından NMR triterpenoid saponin - coumoside A Cs~H9202v - 3/3-O- {D-glucopyranosyl-(1-6)-L-arabinopyranosyl-(1-2)]-fi-D-glucopyranosyl-(1-4)-[D-gluc-pyran-sy-(-2)]-c-L-arabin-pyran-sy-} -6c-hydr-xy-3-28-Mact-ne-ean-2-ene) izole edilmiştir (Rosemary, 1999). Bu bileşenler bitkiye yüksek antioksidan özellik vermektedir (Yaylı, 1998). Başka bir çalışmada ise *Cyclamen persicum* <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C-NMR spektroskopi yöntemleri ile yumru ve yaprak içerikleri öğrenilerek anthocyanin, peonidin 3-O-a-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-b-D-glucopyranosid flavon bileşikleri izole edilmiştir. Bu bileşenler aktif bileşenlerdir (Rosemary, 1999). Siklamen yumru ve yapraklarının triterpen-glikozid bileşenleri içerdikleri kanıtlanmıştır. Bu açıdan çalışmaların birisinde *Cyclamen repandum*'un yumrularının metanollü çözeltilerinde GC-MS yöntemi ile triterpen-glikozidler belirlenmiş ve bu bileşenlerin insan THP-1 makrofajları üzerinde etkili oldukları öğrenilmiştir (Dall'Acqua, 2010). Farklı kimyasalların ve besi ortamının etkisi ile



*C. persicum*'un embriyolojik süspansiyon kültürü üzerinde uygulanabilecek değişiklikleri yapılmış ve çalışmalarda sakkaroz besi ortamındaki embriyonik hücrelerde 2-4 gün içinde hızlı değişimin meydana geldiği bildirilmiştir. *Cyclamen europaeum* L. 'nin terapötik ajan olarak sinüzit tedavisinde mukus membran üzerindeki etkileri ortaya konmuştur. Ayrıca, *Cyclamen repandum* S. et S.'in ağrı ve enflamasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Speroni ve ark., 2007). Son yıllarda yapılan bir çalışmada 14 *Cyclamen* türünün yumrularından elde edilen saponinlerin genelde cyclamin, deglukocyclamin I, deglucocyclamin II olduğu bildirilmiş, *C. graecum* bitkisinden ise yeni bir saponin olan isocyclamin izole edilmiştir (Reznicek ve ark., 1989). *Cyclamen persicum*, *C. purpurascens*'in çiçeklerindeki uçucu bileşikleri ve onların hibritleri gaz kromatografi yöntemiyle aydınlatılmıştır (İshizaka ve ark., 2002). *C. mirabile* ve *C. coum*'dan elde edilen saponin sıçanlara enjekte edilerek uterus kontraktıl aktivitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır (Çalış ve ark., 1997). *Cyclamen* ekstratı nazal mukozada ozmotik etki göstererek musin salgısını artırır, mukoza ödemi ve konjestiyonunu azaltır (Fabre, 2007).

*Cyclamen* içeriğinde yer alan saponinler, nazal mukozada mukus ve nöropeptit salgılanmasını artırır. Bu yüzden bitki ekstratı, rinosinüzit tedavisinde kullanılan burun spreyleri içeriğinde yer almaktadır ([www.nasodren.com/publicmat](http://www.nasodren.com/publicmat)).

### **1.10 Çalışmanın Amacı**

Bu çalışmada Primulaceae familyasının *Cyclamen* L. cinsine ait olan *Cyclamen graecum* Link. C. ekstraktlarının aktif bileşenlerinin karakterizasyonuna, antioksidan etkisine ve histolojik etkilerine bakılmıştır. Antioksidant etki incelemesinde bitkinin çeşitli kimyasallarla (etanol, metanol, aseton ve benzen) çıkarılan ekstraktlarının antioksidant etkileri hesaplanmıştır. En son olarak ise *Cyclamen graecum* Link. C. ekstraktlarının ve etken maddelerin histolojik etkileri belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Bitkisel materyal

Arazi çalışmaları kapsamında projede yer alan türlerinin alternatif lokaliteleri ilgili kaynaklar (Davis, 1984; Duman ve ark., 2002; Çelik ve ark., 2004; Varol, 2006) taranarak tespit edilmiştir ve bu türlerin çiçeklenme dönemleri, yayılış gösterdikleri lokaliteler, habitatları ve yükseklikleri doğrultusunda bir arazi çalışması planı hazırlanmıştır. Bu arazi planı sayesinde türler doğru zaman ve lokalitelerden toplanmıştır. Arazi çalışmaları sırasında farklı lokalitelerden toplamak suretiyle her bitki türünden yer altı ve yer üstü kısımlar birlikte olmakla 1.5-2 kg. yaş kitle toplanmıştır (Tablo 2.1). Bu işlemler yapıldığı zaman ekolojik dengenin bozulmaması ve endemik türlerin tahrip edilmemesi durumuna özen gösterilmiştir.



Şekil 2.1 : *C. graecum* bitkisinin toplanması

Tablo 2.1 : Bitkinin toplandığı lokaliteler

TÜR	İSTASYON
<i>Cyclamen graecum</i> Link.	C3 Antalya: Kemer, Kemer 1. Girişi, sağ taraftaki <i>Pinus brutia</i> orman altları; 30 m.
<i>Cyclamen graecum</i> Link.	C3 Antalya: Kemer, Kemer – Kumluca yolunun yaklaşık 5. km’si, sağ taraftaki <i>Pinus brutia</i> orman altları; 50 m.

Bitkiler araziden toplandıktan sonra (5-10 adet) morfolojik özelliklerini çok fazla kaybetmeden herbaryum kurallarına göre preslenmiştir (Şekil 2.2). Bitkilerin toprak üstü ve toprak altı kısımları gölgede kurutulduktan sonra toprak üstü kısımları blender ile parçalanarak, yumrular küçük parçalara bölünerek analize hazır hale getirilmiştir.



Şekil 2.2 : *C. graecum* yumrusu

Toz halinde olan bitki örnekleri, su banyosu cihazı kullanılarak ( 55<sup>0</sup>C ) renk açılıncaya kadar (yaklaşık 4–6 saat) çeşitli çözücülerin (metanol, etanol, aseton ve benzen) ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur (Şekil 2.3). Her bir örnek için 800-1200 gr. kuru bitki kalıntısı (yaprak ve yumru) ve 20 ml. çözücü kullanılmıştır (Feresin ve ark., 2000).



Şekil 2.3 : Ekstraksiyon işlemi

Elde edilen karışım filtre edilerek süzölmüş ve çözeltilinin yapısındaki çözücü madde rotary evaporatörde 50 °C'de uçurulmuştur (Şekil 2.4). Her bir ekstrenin yapısındaki su Freeze Dryer makinesinde dondurularak çekilmiştir. Ekstreler aktivite (antioksidan ve histolojik çalışmalarda) tayini çalışmalarında kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.4 : Rotary evaporatörde çözücü kısmının uzaklaştırma işlemi

## 2.2 Yöntemler

### 2.2.1 İçerik tanımlama yöntemleri

#### 2.2.1.1. Katı faz ekstraksiyonu

Antioksidan aktivite gösteren *Cyclamen graecum* Link etanol ekstraktının istenmeyen bileşenlerden ayırma (temizleme), yoğunlaştırma ve ileriki analiz aşamaları için katı faz ekstraksiyon yöntemi kullanıldı.

Ekstre az miktarda uygun çözücüde kloroform: metanol: dsu (8:2:0.2) çözülerek adsorban ile karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan karışım dibine az miktarda pamuk yerleştirilmiş, ekstre miktarına uygun olarak seçilmiş ve boyunun 2/3 oranında silika jel ile doldurulmuş kolonun üst kısmına paketleme yöntemiyle yerleştirildi. Elüsyona kloroform: metanol: dsu (8:2:0.2) ile başlandı ve ekstre kolondan geçene kadar elüsyona devam edildi.

### **2.2.1.2 İnce tabaka kromatografisi**

İnce tabaka kromatografisinde (İTK), silika jel hazır plaklardan (20 x 20 cm) yararlanıldı. Maddeleri saflaştırmak için preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı.

### **2.2.1.3 Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi şartları**

*C.graecum*'un etanol (CGE) ekstresinden elde edilen fraksiyonların bileşenlerinin belirlenmesi için Muğla Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü GC, GC/MS laboratuvarında bulunan Varian 2100 GC/MS cihazı kullanıldı. Bileşenler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek kütle spektrumları alındı. Bileşenlerin yapılarının belirlenmesinde Nist 2005 kütüphane verileri ve "Eight Peak Index of Mass Spectra" adlı spektroskopi atlasları kullanıldı. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve kovats indeks değerleri hesaplanarak yapıların doğruluğu desteklendi.

#### **➤ GC Çalışma Şartları**

Kolon : DB-1 0.32 µm (30 m x 0.25 mm ID)

Taşıyıcı gaz : He (15 psi)

Kolon basıncı : 100 kPa

Toplam akış hızı : 71 ml/dk

Kolon akış hızı : 1.3 ml/dk

#### **Sıcaklıklar**

Enjeksiyon : 300°C

Enjeksiyon miktarı : 0,5 µL

#### **➤ MS Çalışma Şartları**

İyon kaynağı sıcaklığı : 250°C

Elektron enerjisi : 70eV

Kütle aralığı : 10-600 m/e

## 2.2.2 Antioksidan aktivite analiz yöntemleri

### 2.2.2.1 Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Ekstraktların antioksidan aktivitesi  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenmiştir (Miller, 1991).  $\beta$ -karoten çözeltisi, 2 mg  $\beta$ -karotenin 10 ml kloroformda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözeltinin 1 mililitresine, 40 mg linoleik asit ve 400 mg Tween 20 ilave edilmiştir. Kloroform rotary evaporatörde buharlaştırıldıktan sonra 100 ml destile su ile karıştırılmıştır. Bu emülsiyonunun 4.8 mililitresi 0.2 mg örnek içeren 0.2 ml ekstrakt çözeltileri bulunan test tüplerine ilave edilmiştir. Kontrol için test tüpüne ekstrakt yerine 0.2 ml çözücü (metanol, etanol, aseton ve benzen) konulmuştur. Emülsiyon test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm'de ölçülmüştür. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakılarak,  $\beta$ -karotenin rengi kayboluncaya kadar inkübasyona devam edilmiştir (120 dakika). Toplam antioksidan aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$AA: [ 1 - (A_0 - A_t / A_0 - A_t^0) ] \times 100$$

Burada, AA antioksidan aktivite,  $A_0$  örneğin ilk absorbansı,  $A_t$  kontrolün ilk absorbansı,  $A_0^0$  örneğin 120 dk sonraki absorbansı,  $A_t^0$  kontrolün 120 dk sonraki absorbansıdır (Amin ve ark., 2006).

### 2.2.2.2 Serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Wu ve ark., 2006). DPPH'in %0.004'lük (w/v) metanolik çözeltisinin 4 ml'si, ekstraktların 1 ml (0.2-1.0 mg)'si ile karıştırıldı ve 30 dakikalık karanlık ortam oda sıcaklığında inkübasyonu sonrasında, örneklerin absorbansı 517 nm'de ölçülmüştür. Özütlelerin absorbans değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplanmıştır:

$$\text{İnhibisyon (\%)} = 100 - [(A_1 / A_0) \times 100]$$

Burada;  $A_0$  kontrolün absorbansı ve  $A_1$  örneğin absorbansıdır (Duh ve ark., 1997).

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/ml olarak belirlenen özüt derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde yapılmıştır.

### 2.2.3 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi

Ekstraktlar içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine (Tekeli, 2008) göre yapılmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asit ve çalışılan bütün örnekler, %70'lik metanol içinde 0.4 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. 0.5 ml örnek, 2.5 ml Folin Ciocalteu reaktifi (%10'luk, suda) ve 7.5 ml sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi'nde 750 nm'de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg olarak gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

### 2.2.4 Histolojik yöntemler

Bu çalışmada belirlenen türün 0.1 gr/lt ve 0,3 gr/lt ekstraktlarının trake mukus maddesi nötral şekerleri yoğunluğu üzerindeki olası etkileri histolojik yöntemlerle, ışık mikroskobu düzeyinde hayvan modeli üzerinde araştırılmıştır.

Bitkinin özellikle burun mukus salgısı üzerindeki etkisi bilgisinden yola çıkılarak, trake mukus salgısının nötral şeker yoğunluğu üzerine olası bir etkisinin olup olmadığını araştırmak amacıyla, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Biriminden temin edilen sıçanların trake dokuları kullanılmıştır. Deney için 3 grup oluşturulmuştur.

#### Gruplar:

Grup 1. Kontrol grubu: Fizyolojik su verilmiştir.

Grup 2. Deney grubu 1: 0.1 gr/lt *C. graecum* bitkisinin ekstraktı verilmiştir.

Grup 3. Deney grubu 2: 0.3 gr/lt *C. graecum* bitkisinin ekstraktı verilmiştir.

Bitkilerden elde edilen ekstraktlar, 10 hafta süresince hayvanlara oral yolla verilmiştir. 10 hafta sonunda (Bolkent ve ark., 2005) anestezi altında servikal dislokasyon yapılmış hayvanlardan alınan trakeye ait örnekler, Saint Marie tespit solüsyonu ile tespit edilmiştir. Rutin doku takibi yapılarak (dehidratasyon, şeffaflaştırma) parafin bloklar elde edilmiş ve mikrotom cihazı (Leica RM 2145) ile 5 µ'luk kesitler alınmıştır. Kesitlerin deparafinizasyonundan sonra boyama işlemlerine geçilmiştir. Çalışmada, genel histolojik yapının belirlenmesi için

Hematoksilen&Eozin (H&E); nötral şekerlerin boyanması için PAS-H (Periyodik asit şift-hematoksilen) histokimyasal boyama yöntemleri uygulanmıştır.

PAS-H boyama: PAS boyası bazal membran ve çeşitli organların epitel hücrelerinden salgılanan glikojen ve mukoz maddenin gösterilmesi için kullanılır (Çınar ve ark., 1999; Zık ve Erdost, 2002; Cerri ve Sasso-Cerri, 2003; Kodavanti ve ark., 2003). Kesitler, % 0.5 periyodik asitte 5 dakika bekletilip distile suda yıkanmıştır. Şift ayracında 15 dakika boyama yapılarak 10 dakika çeşme suyu ile yıkanmıştır. Hematoksilen ile 1 dakika zıt boyama yapıp suda yıkanmış, alkoller ve ksilolden geçirilerek kapatma işlemi uygulanmıştır. Sonuçta, çekirdekler mavi, PAS (+) olan bölgeler kırmızı-pembe boyalı olarak görülmüştür (Bancroft ve Cook, 1994; <http://www.hoslink.com/histo/6.htm>). Hazırlanan tüm preparatların Olympus BX50 ışık mikroskopunda incelenmelerinden sonra fotoğrafları alınmıştır.



### 3. BULGULAR

#### 3.1 İçerik Analiz Sonuçları

*C. graecum*'un etanol ekstraktlarının GC, GC/MS analizleri yapıldı. *C. graecum*'un kromatogramında her bir bileşenin integrasyonu CLASS-GC10 gaz kromatografisi bilgisayar programı ile yapıldı ve her bir fraksiyonun kendi içinde yüzdeleri aynı programla hesaplandı.

Bileşenlerin yapılarının belirlenmesinde Nist 2005 kütüphane verileri ve “Eight Peak Index of Mass Spectra”, “Monoterpenes” ve “Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy” adlı spektroskopi atlasları kullanıldı. Ayrıca bileşiklerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve kovatz indeks değeri hesaplanarak yapı tayini desteklendi. Buna ilave olarak aynı şartlarda standart maddeler kolonda yürütüldü ve alıkonulma zamanları ile bileşikler karşılaştırıldı.

GC ve GC/MS analizi sonucunda *C. graecum*'a ait GC kromatogramı Şekil 3.1'de verildi. *C. graecum*'dan elde edilen bileşiklerin alıkonma zamanları (dakika) ve bağıl konsantrasyonları (%) Tablo 3.1'de verildi. Teşhisi yapılırken kütle spektrumlarından yararlanılan bileşiklerin kütle spektrumları alıkonma zamanlarına göre sırası ile Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10, 3.11, 3.12 ve 3.13'de verilmiştir.

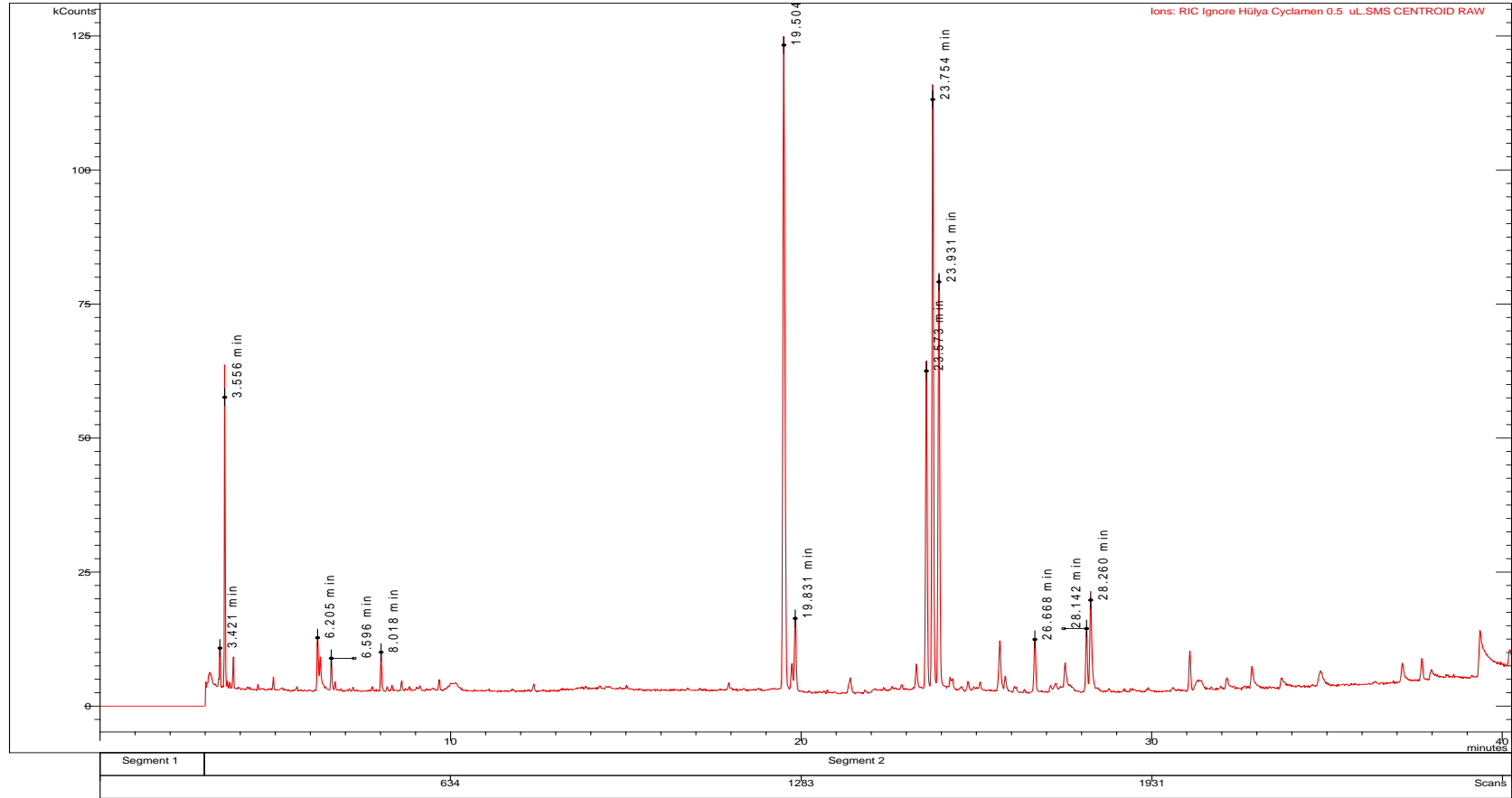
Tablo 3.1 : *C. graecum*'un etanol ekstresinin kimyasal bileşimi

No	Bileşimin Adı	Alınma Zamanı (dk)	Konsantrasyon (%)
1	Etilen Glikol	13.42	0.73
2	Okzalik Asit	3.56	6.06
3	Aydınlatılmadı	6.21	1.33
4	Benzoik Asit	6.20	0.88
5	D- Riboz	8.02	1.09
6	5-Hidroksiindol Asetik Asit	19.50	29.42
7	5-Hidroksiindol Etanol	19.83	2.37
8	Sorbopiranoz	23.57	11.77
9	2- Keto-D-glukonik Asit	23.75	22.02
10	D-Fruktoz	23.93	15.81
11	İnositol	26.67	1.98
12	D-Altro-2-Heptuloz	28.14	2.32
13	Araşidik Asit	28.26	4.21

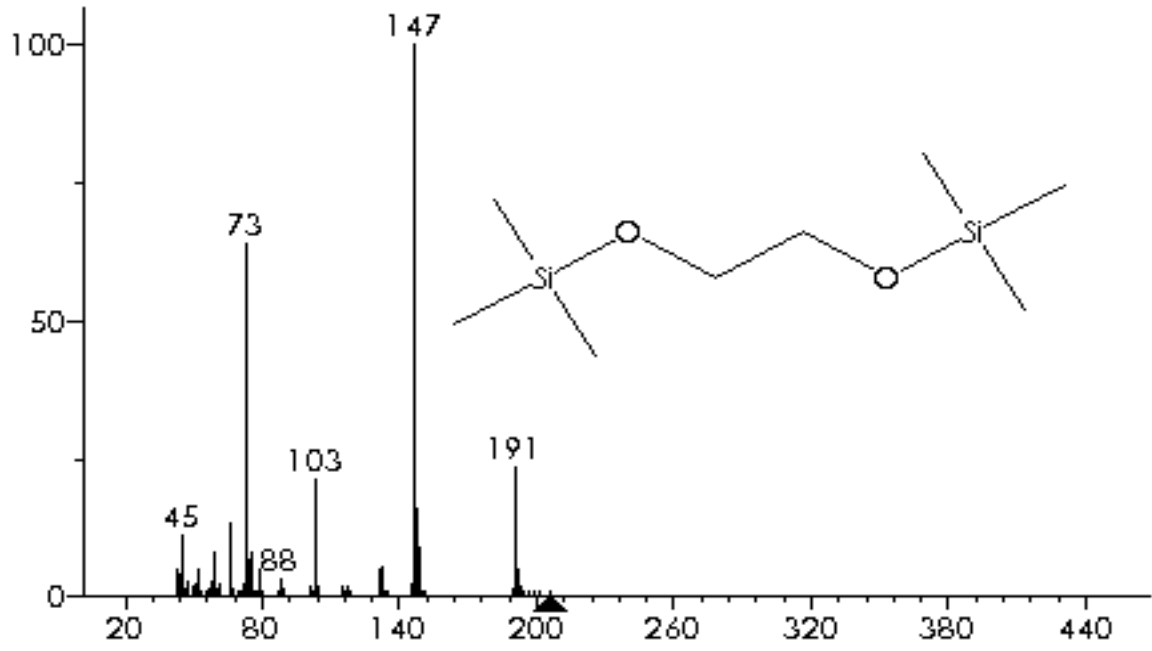
### Chromatogram Plot

File: c:\users\pc\desktop\hülya cyclamen 0.5 ul.sms  
Sample: Manual Sample  
Scan Range: 1 - 4138 Time Range: 0.00 - 64.98 min.

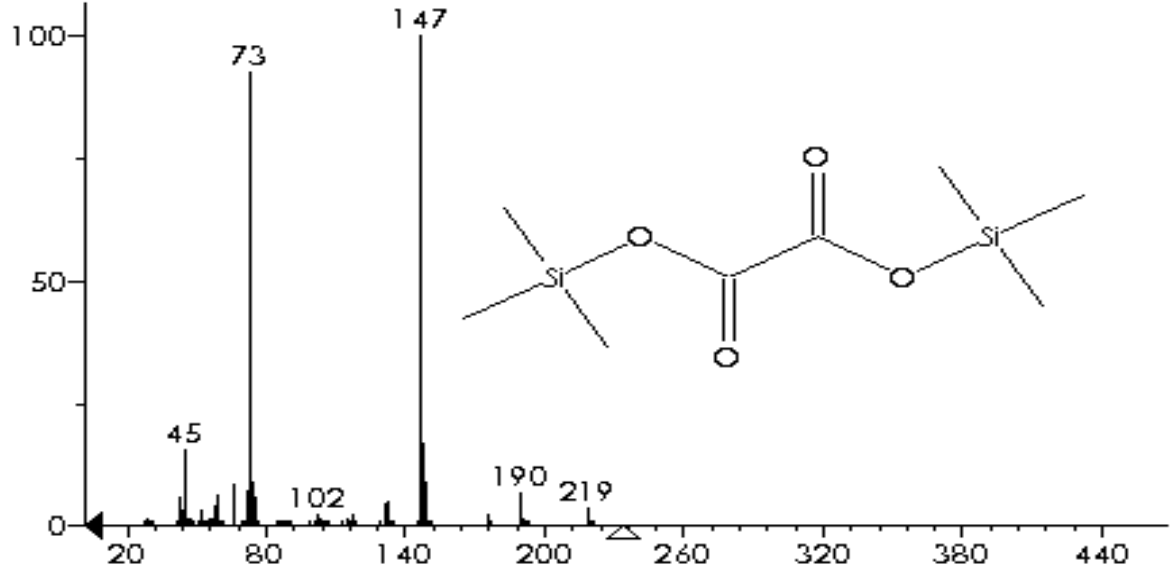
Operator: emin duru  
Date: 18.05.2011 14:30



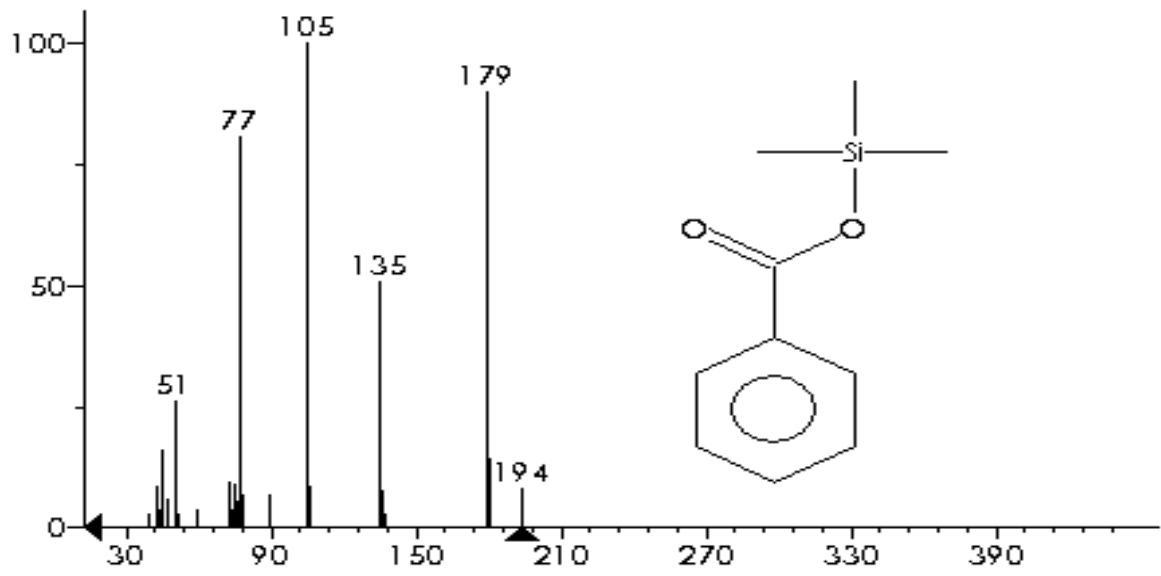
Şekil 3.2 : *C. graecum*'un etanol ekstresinin silil türevinin kromatogramı



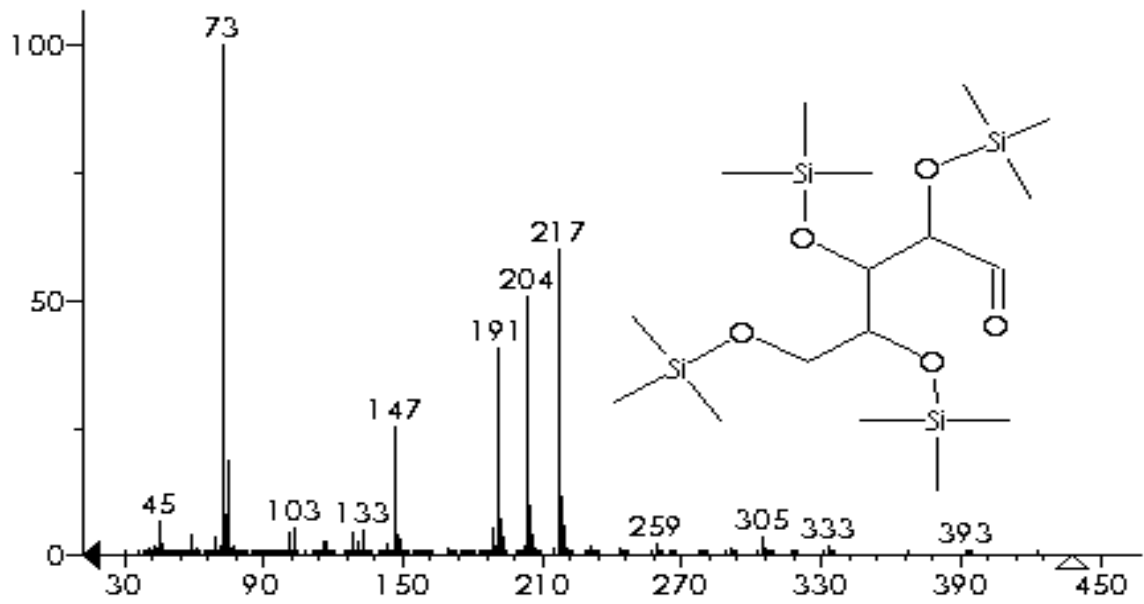
Şekil 3.3 : Etilen Glikol'un kütle spektrumu



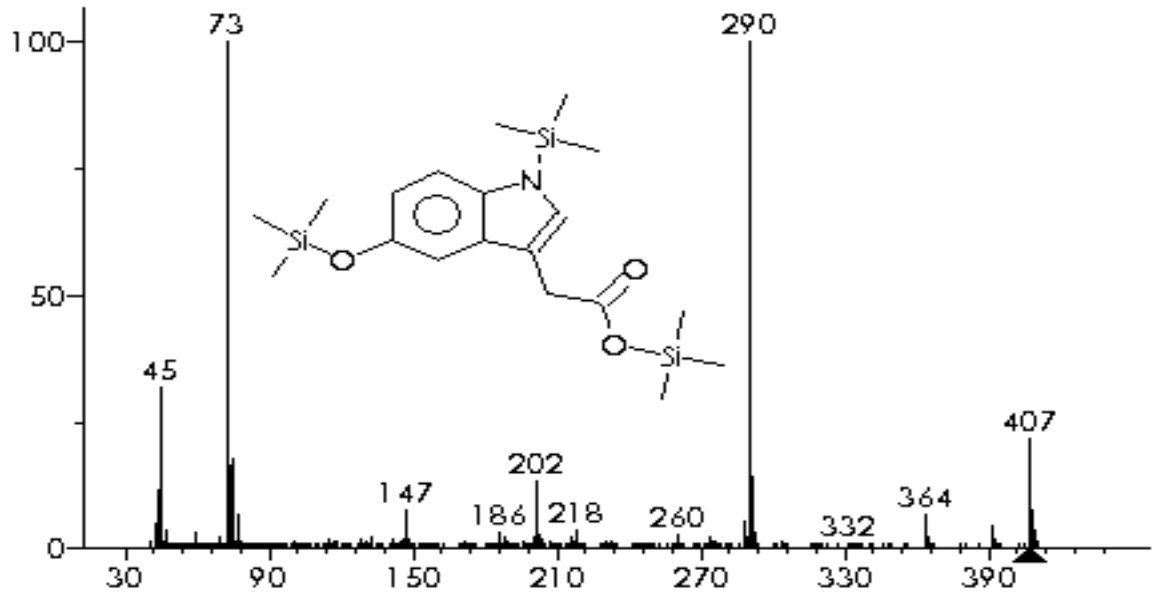
Şekil 3.4 : Okzalik Asit'in kütle spektrumu



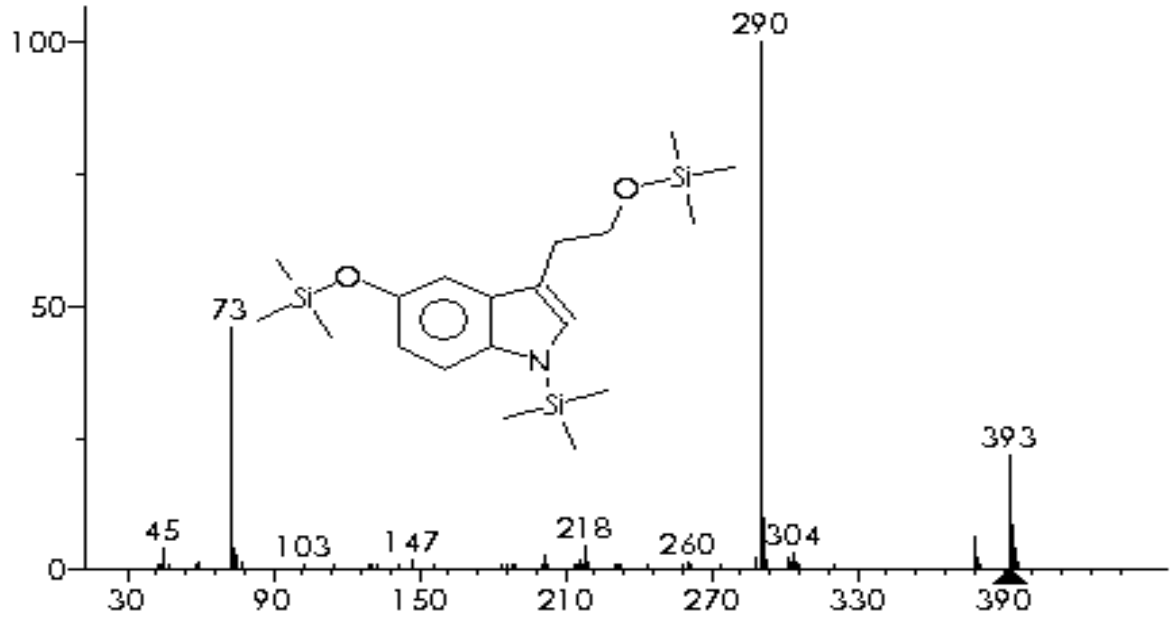
Şekil 3.5 : Benzoik Asit'in kütle spektrumu



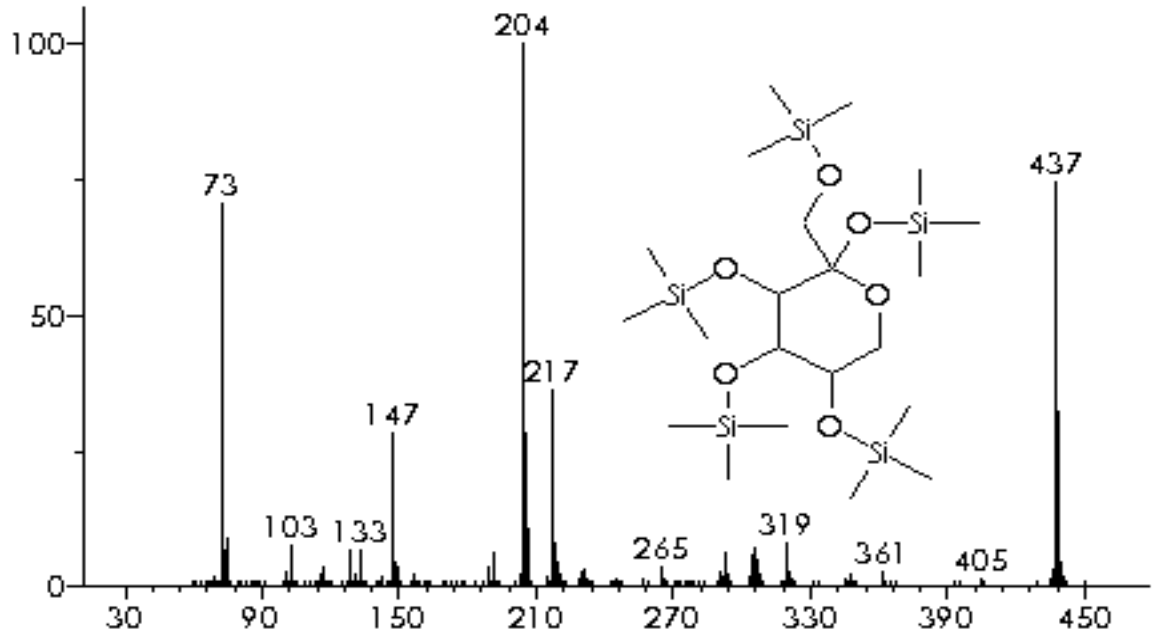
Şekil 3.6 : D-Riboz'un kütle spektrumu



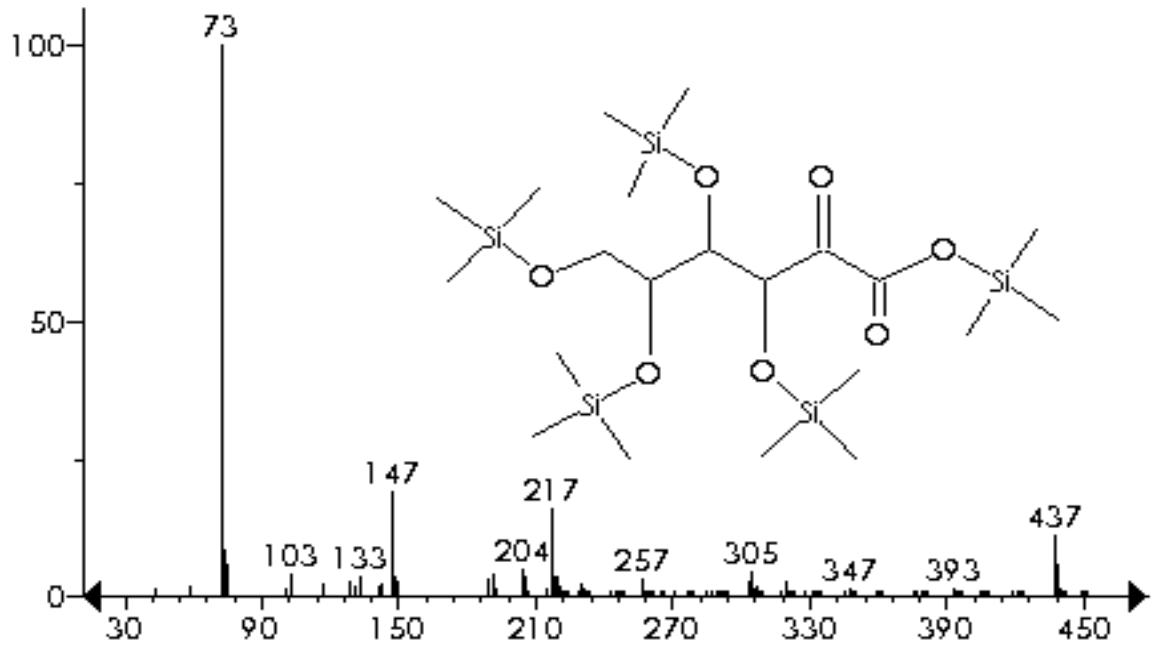
Şekil 3.7 : 5-Hidroksi Asetik Asit'in kütle spektrumu



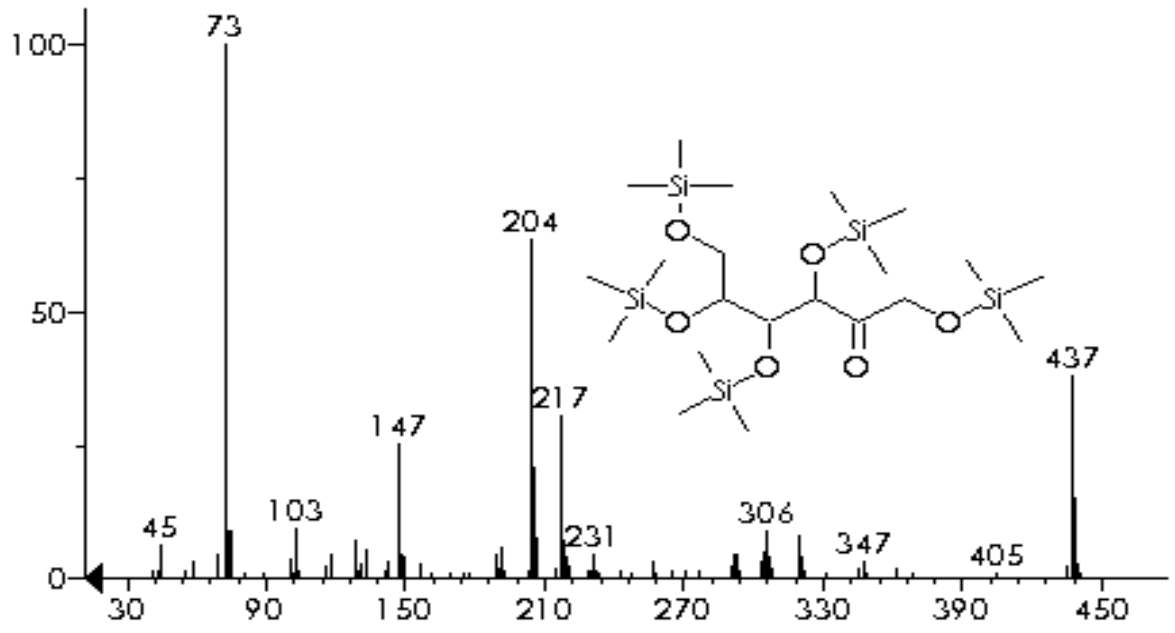
Şekil 3.8 : 5-Hidroksi Etanol'un kütle spektrumu



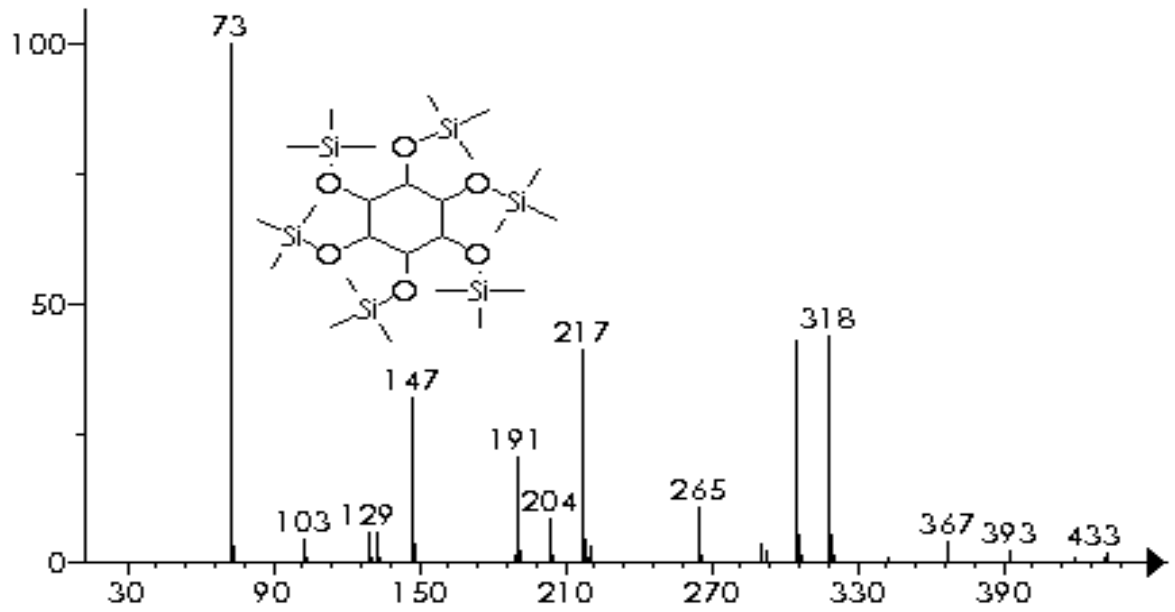
Şekil 3.9 : Sorbapiranoz'un kütle spektrumu



Şekil 3.10 : 2-Keto-D-glukonik Asit'in kütle spektrumu

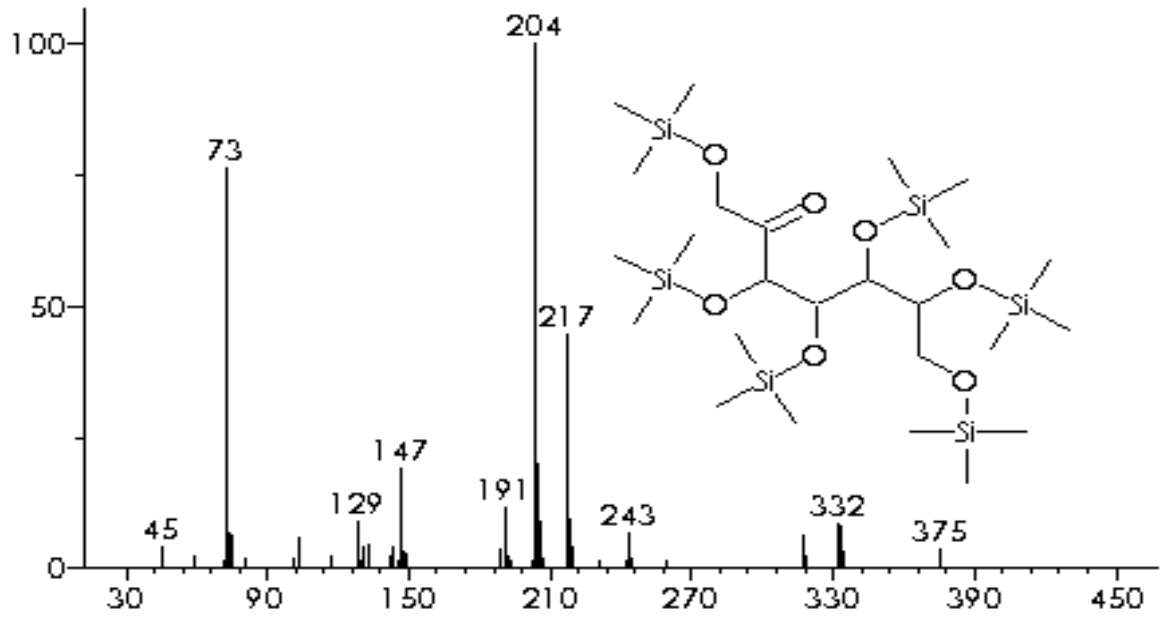


Şekil 3.11 : D-Fruktoz'un kütle spektrumu



Şekil 3.12 : İnositol'un kütle spektrumu





Şekil 3.13 : D-Altro-2-Heptuloz'un kütle spektrumu



Şekil 3. 14 : Araşidik Asit'in kütle spektrumu

## 3.2 Antioksidan Aktivite Sonuçları

### 3.2.1 Toplam antioksidan aktivite sonuçları

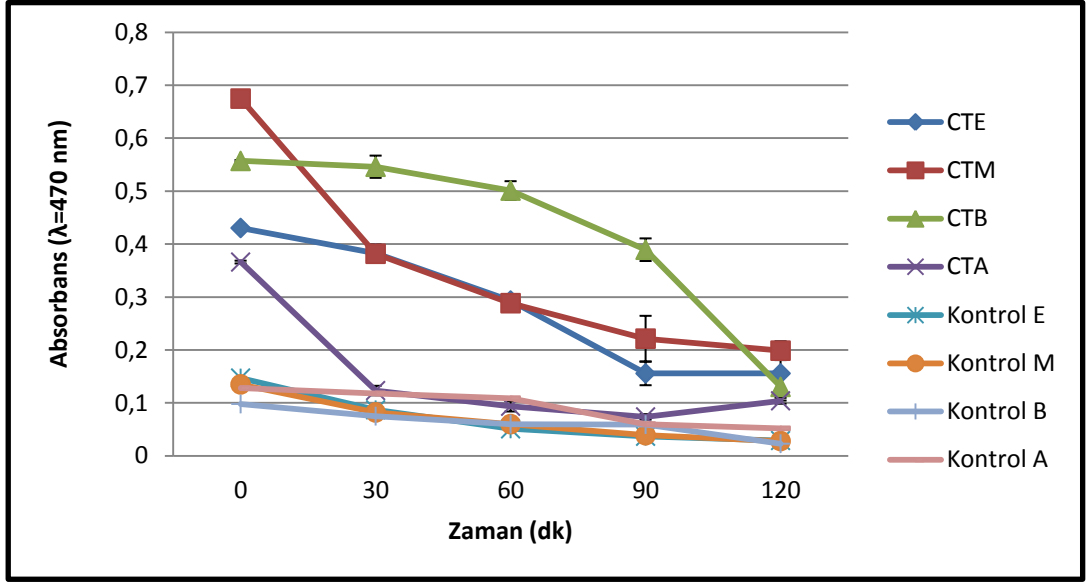
*Cyclamen graecum* bitkisinden dört farklı çözücü ile (etanol, metanol, benzen, aseton) hazırlanan ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri  $\beta$ -karoten-linoleik asit yöntemi ile belirlenmiştir (Tablo 3.2). Antioksidan aktivite karşılaştırmalarında standart olarak BHT kullanılmıştır.

Tablo 3.2 : *Cyclamen graecum* ekstraktlarının  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemindeki antioksidan aktiviteleri (%)

Bitki Ekstraktları	Toplam Antioksidan Aktivite (%)
<i>C. graecum</i> Tuber Etanol	76.6 $\pm$ 5.05
<i>C. graecum</i> Yerüstü Etanol	80.2 $\pm$ 0.6
<i>C. graecum</i> Tuber Metanol	68.2 $\pm$ 3.2
<i>C. graecum</i> Yerüstü Metanol	70.3 $\pm$ 1.09
<i>C. graecum</i> Tuber Benzen	55.7 $\pm$ 9.5
<i>C. graecum</i> Yerüstü Benzen	55.8 $\pm$ 1.06
<i>C. graecum</i> Tuber Aseton	53.9 $\pm$ 4.60
<i>C. graecum</i> Yerüstü Aseton	49.9 $\pm$ 3.5

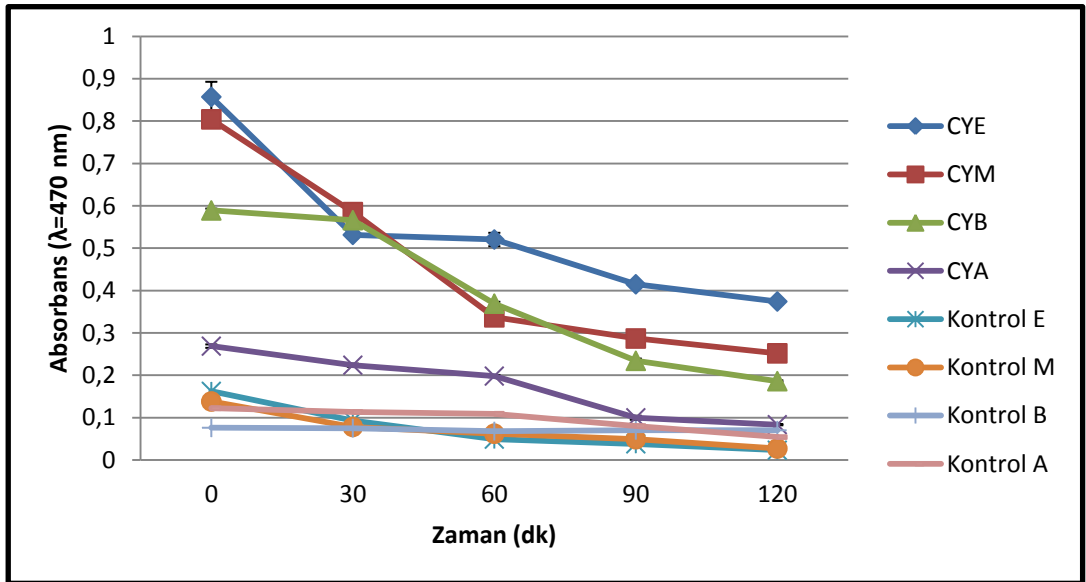
$\beta$ -karoten-linoleik asit yönteminde *C. graecum* türünün etanollü yerüstü ekstresinin en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenirken (% 80.2), en düşük antioksidan aktivite ise *C. graecum* türünün asetondaki yerüstü ekstraktında olduğu belirlenmiştir (% 49.9).

*Cyclamen graecum* bitkilerinin sırasıyla etanol, metanol, aseton ve benzen özütlerinin  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen 30, 60, 90, 120 dk absorbans değerleri Şekil 3.14, 3.15’de verilmiştir.



Şekil 3.15 :  $\beta$ -Karoten-Linoleik asit yönteminde *C. graecum* tuberlerinden hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği.

CT; *C. graecum* Tuber, CTE; *C. graecum* Tuber etanol, CTM; *C. graecum* Tuber metanol, CTB; *C. graecum* Tuber benzen, CTA; *C. graecum* Tuber aseton, Kontrol E; etanol, Kontrol M; metanol, Kontrol B; benzen, Kontrol A; aseton.

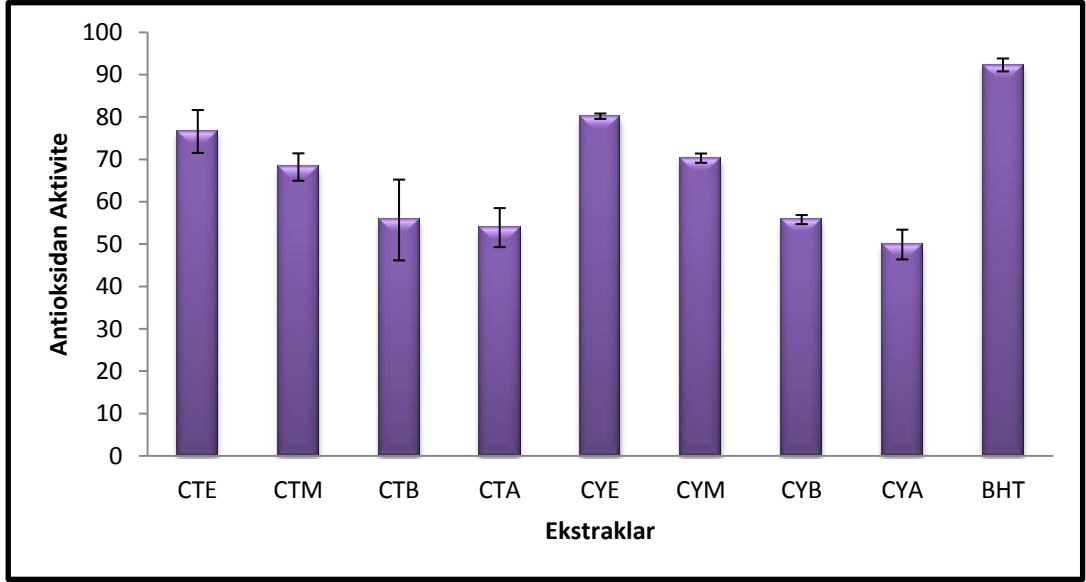


Şekil 3.16 :  $\beta$ -Karoten-Linoleik asit yönteminde *C. graecum* yerüstü kısımlarından hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği.

CY; *C. graecum* Yerüstü, CYE; *C. graecum* Yerüstü etanol, CYM; *C. graecum* Yerüstü metanol, CYB; *C. graecum* Yerüstü benzen, CYA; *C. graecum* Yerüstü

aseton, Kontrol E; etanol, Kontrol M; metanol, Kontrol B; benzen, Kontrol A; aseton.

*Cyclamen graecum* bitki türünün sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri Şekil 3.16'da verilmiştir.



Şekil 3.17 :  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle etanol, metanol, aseton ve benzen ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%).

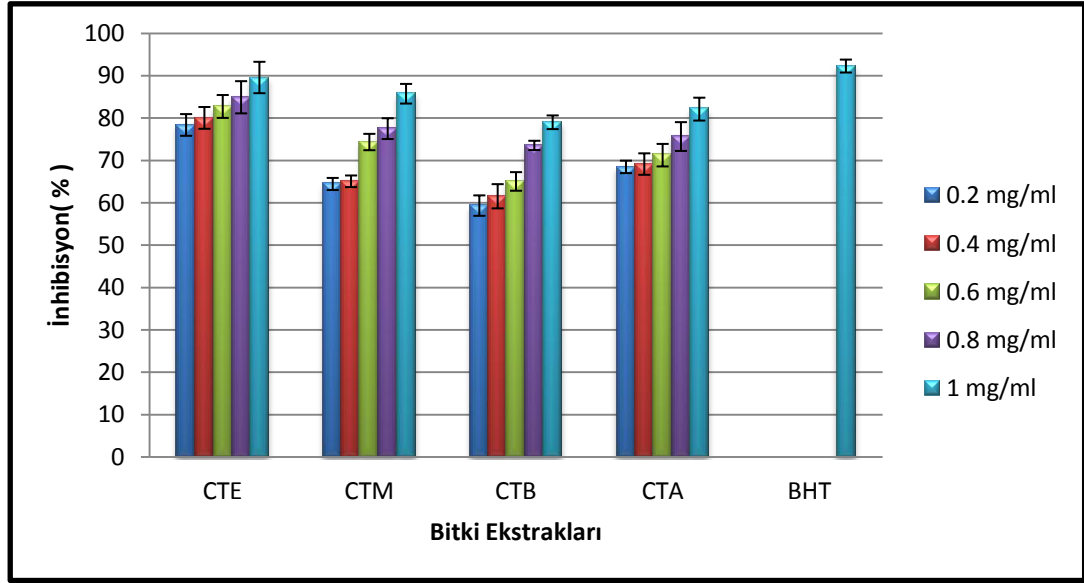
CTE; *C. graecum* Tuber etanol, CTM; *C. graecum* Tuber metanol, CTB; *C. graecum* Tuber benzen, CTA; *C. graecum* Tuber aseton, CYE; *C. graecum* Yerüstü etanol, CYM; *C. graecum* Yerüstü metanol, CYB; *C. graecum* Yerüstü benzen, CYA; *C. graecum* Yerüstü aseton.

### 3.2.2 Serbest radikal giderim aktivite sonuçları

Cuendet ve ark. (1997) kullandığı DPPH serbest radikal giderim aktivite belirleme yöntemi kullanılarak, *Cyclamen graecum* bitki türünün DPPH serbest radikal giderim aktivite değerleri belirlenmiştir (Tablo 3.3). *Cyclamen graecum* bitkisinin farklı konsantrasyonlardaki DPPH serbest radikal giderim kapasiteleri Şekil 3. 17, 3. 18'de verilmiştir.

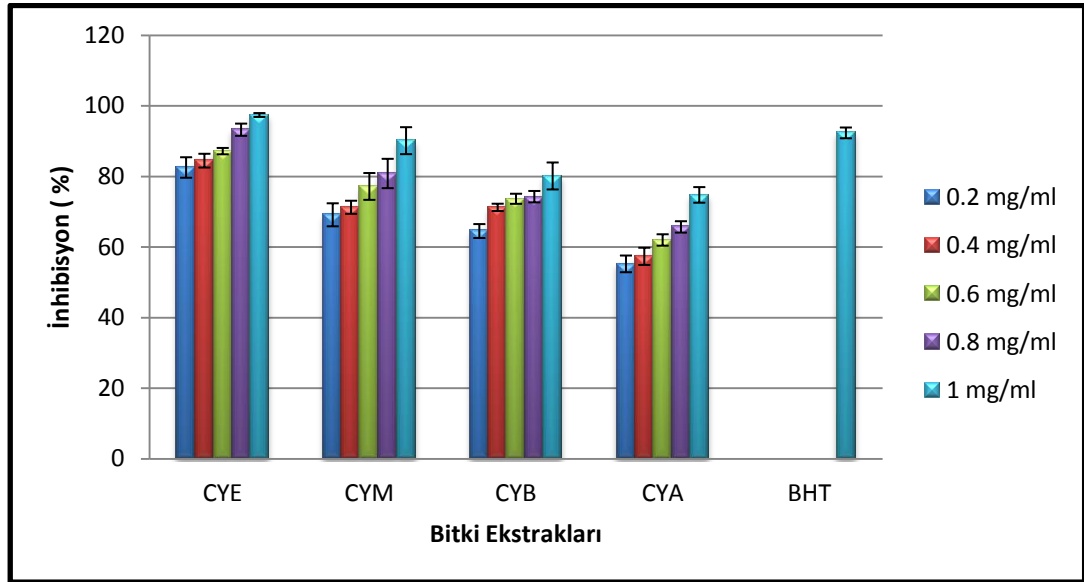
Tablo 3.3 : DPPH Yöntemi ile Ekstraktların Serbest Radikal Giderim Kapasiteleri

Bitki Ekstraktları	DPPH ( % )				
	0.2 mg/ml	0.4 mg/ml	0.6 mg/ml	0.8 mg/ml	1 mg/ml
<i>C. graecum</i> Tuber Etanol	78.4 ± 2.56	80.06 ± 2.56	82.7 ± 2.70	84.9 ± 3.80	89.6 ± 3.70
<i>C. graecum</i> Yerüstü Etanol	82.5 ± 2.90	84.4 ± 1.95	87.1 ± 0.90	93.2 ± 1.73	97.3 ± 0.55
<i>C. graecum</i> Tuber Metanol	64.4 ± 1.42	65.1 ± 1.37	74.3 ± 1.92	77.5 ± 2.45	85.7 ± 2.31
<i>C. graecum</i> Yerüstü Metanol	69.1 ± 3.26	71.2 ± 1.85	77.1 ± 3.80	80.8 ± 4.15	90.1 ± 3.81
<i>C. graecum</i> Tuber Benzen	59.3 ± 2.41	61.5 ± 2.85	65.06 ± 2.19	73.5 ± 1.09	79.03 ± 1.62
<i>C. graecum</i> Yerüstü Benzen	64.5 ± 1.96	71.2 ± 1.03	73.6 ± 1.42	74.2 ± 1.61	80.1 ± 3.81
<i>C. graecum</i> Tuber Aseton	68.5 ± 1.47	69.1 ± 2.53	71.2 ± 2.65	75.6 ± 3.39	82.1 ± 2.70
<i>C. graecum</i> Yerüstü Aseton	55.2 ± 2.36	57.3 ± 2.43	61.9 ± 1.61	65.6 ± 1.61	74.7 ± 2.21



Şekil 3.18 : DPPH yöntemi ile *C. graecum* tuber ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.

CTE; *C. graecum* Tuber etanol, CTM; *C. graecum* Tuber metanol, CTB; *C. graecum* Tuber benzen, CTA; *C. graecum* Tuber aseton

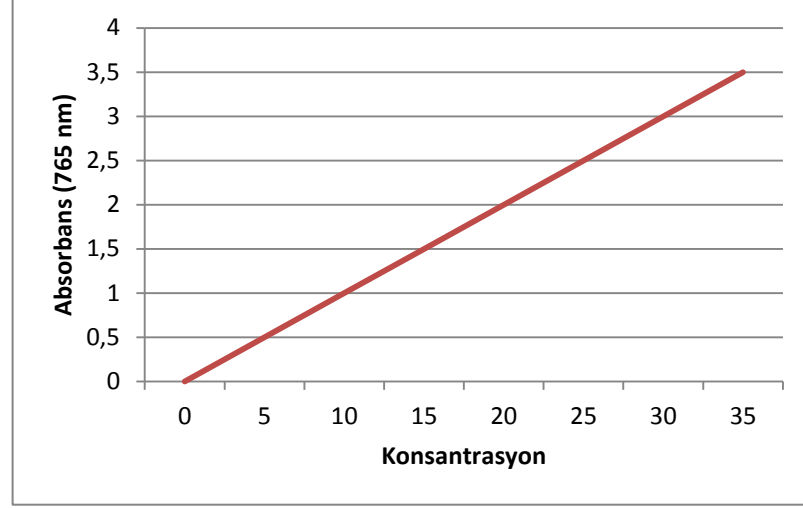


Şekil 3.19 : DPPH yöntemi ile *C. graecum* yerüstü kısımlarından ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.

CYE; *C. graecum* Yerüstü etanol, CYM; *C. graecum* Yerüstü metanol, CYB; *C. graecum* Yerüstü benzen, CYA; *C. graecum* Yerüstü aseton.

### 3.3 Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu Sonuçları

Örneklerin toplam fenolik bileşik miktarı değerleri gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı. Bunun için gallik asit derişimlerine karşı absorbanslar ölçülerek bir standart çalışma grafiğı oluşturuldu (Şekil 3.19).



Şekil 3. 20 : Gallik asit kalibrasyon eğrisi  
( $y = 0.099x + 0.097$ ,  $R^2 = 0.987$ )

Tüm toplam fenolik bileşik miktarı tayinlerinde bu grafik kullanıldı. Tüm ekstrelerin Folin Ciocalteau yöntemi kullanılarak elde edilen toplam fenolik bileşik miktarı değerleri Tablo 3.4'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4 : *C. graecum* türüne ait etanol ve metanol ekstraktlarının 765 nm'de absorbansları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları

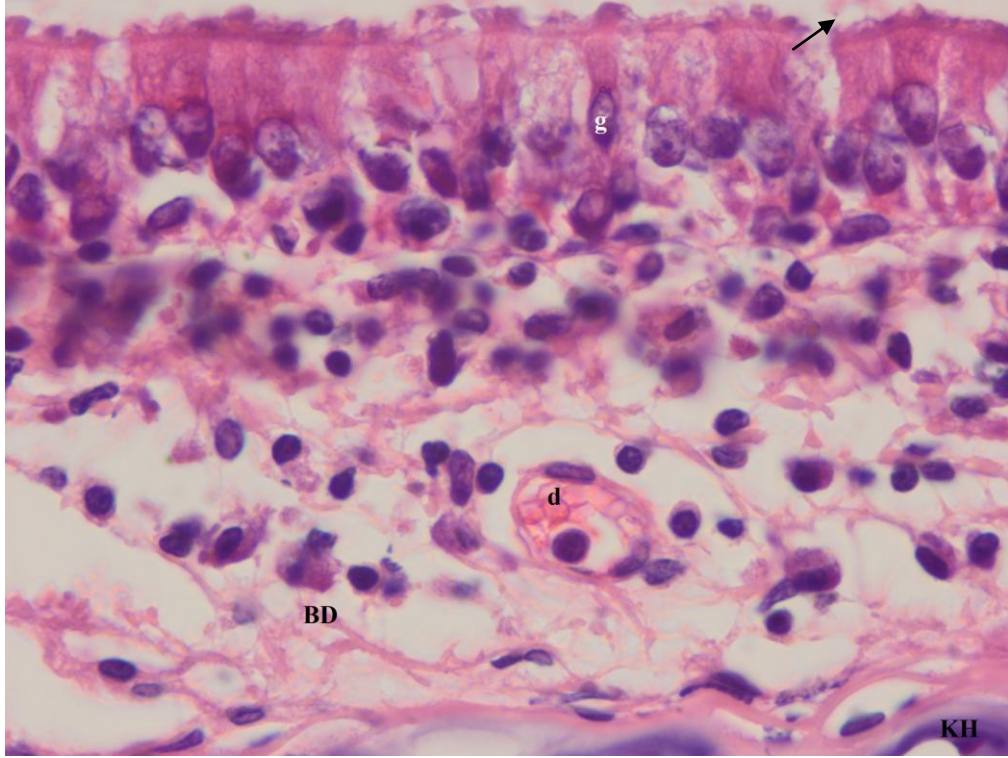
Tür	Absorbans (765 nm)	mg/ml GAE
<i>C. graecum</i> Tuber Etanol	0.312	2.1717
<i>C. graecum</i> Yerüstü Etanol	0.431	3.3737
<i>C. graecum</i> Yerüstü Metanol	0.350	2.5555
<i>C. graecum</i> Tuber Metanol	0.213	1.1717



### 3.4 Histolojik Çalışma Sonuçları

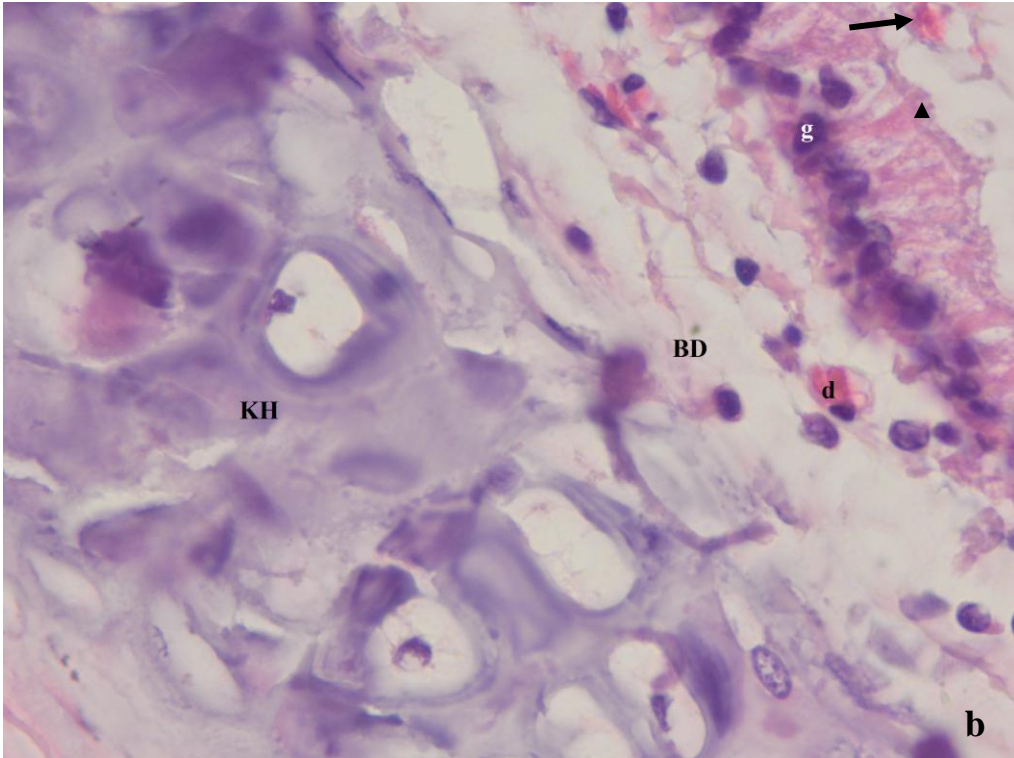
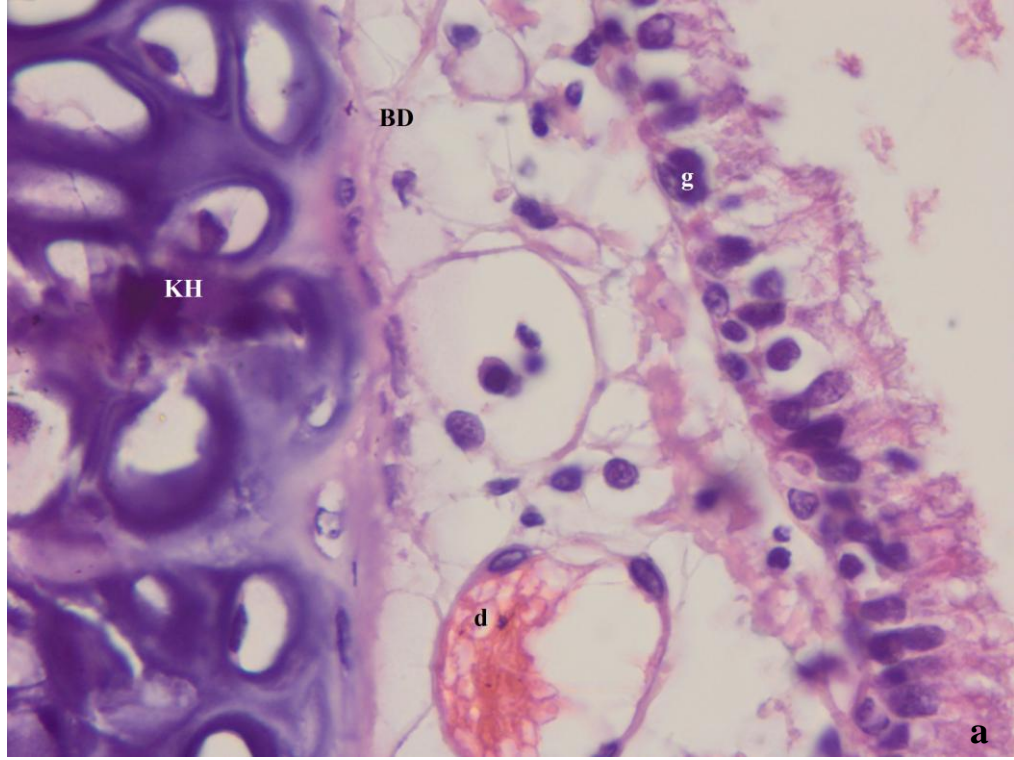
#### 3.4.1 H&E boyama bulguları

Sıçan trakesi, lümene doğru kıkırdak doku, bağ doku ve üzerindeki epitel dokudan oluşmaktadır. Epitel tabakada goblet hücreleri yer alır. Lümene bakan yüzde mukus salgı bulunur. (Şekil 3.20).



Şekil 3.21 : Trakenin genel histolojisi (kontrol grubu). Kıkırdak halka (KH), bağ doku (BD), goblet hücresi (g), kan damarı (d), mukus (ok), H&E, x1000.

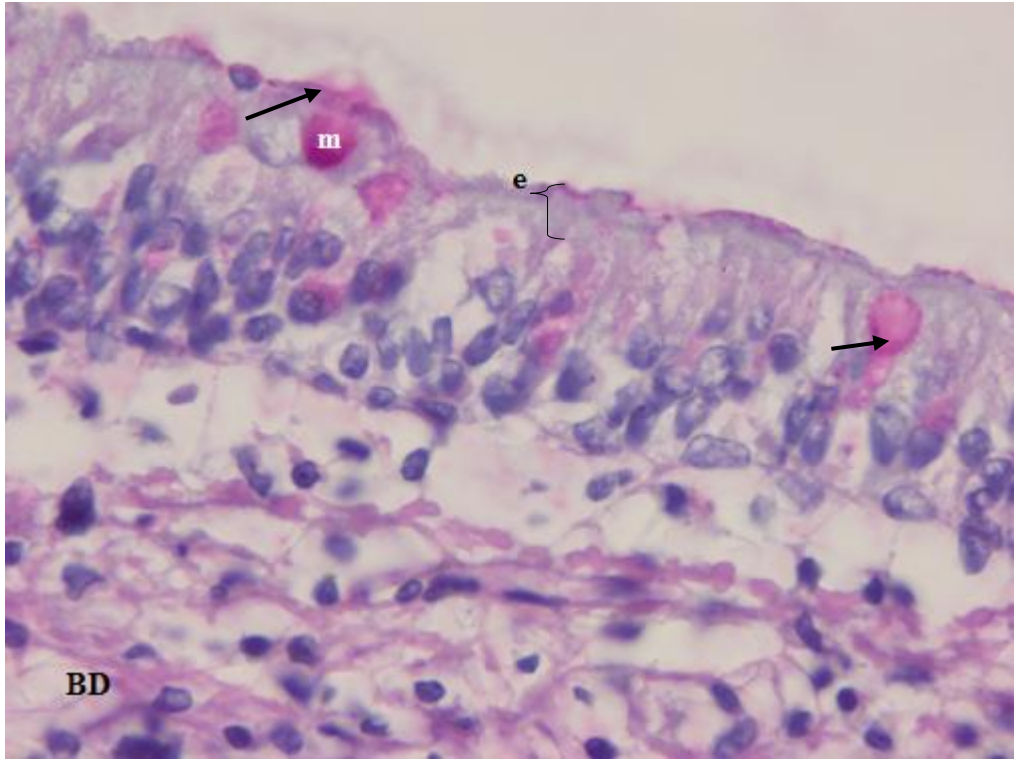
Deney gruplarında (0,1 ve 0,3 g bitki ekstraktı uygulanan gruplar) genel histoloji de kontrol ile farklılık gözlenememiştir (Şekil 3.21).



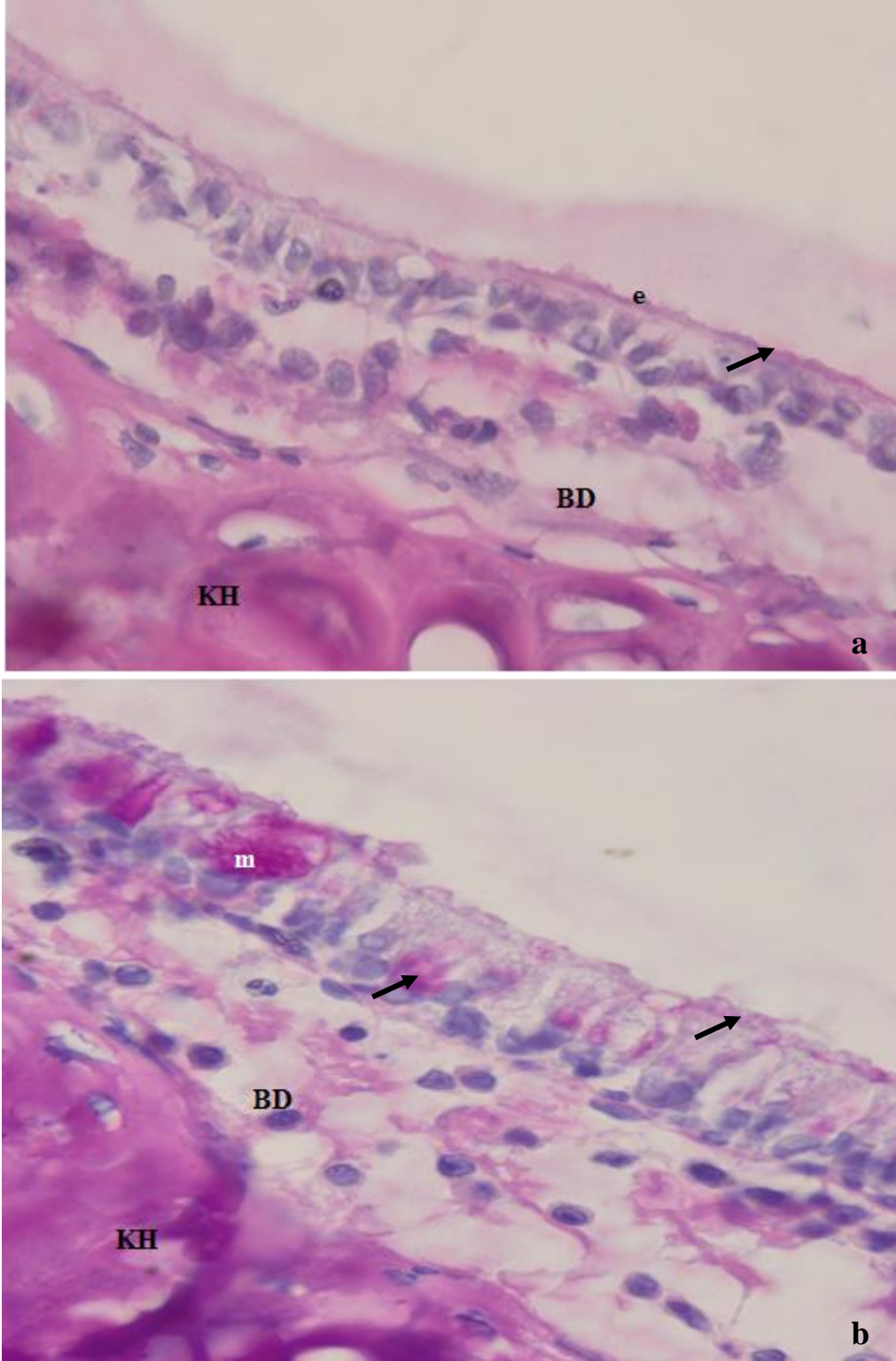
Şekil 3.21 : Deney gruplarının (a: 0,1 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan, b: 0,3 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan) trake histolojisi. Kıkırdak halka (KH), bağ doku (BD), goblet hücresi (g), kan damarı (d), sil (okbaşı), mukus (ok), H&E, x1000.

### 3.4.2 PAS-H boyama bulguları

Sıçan trakesinde kıkırdak halkanın matriksinde yer alan karbohidratlar, PAS-H boyama ile yoğun reaksiyon göstermiştir. Bu boyama ile kontrol grubunda ve deney gruplarında epitel hücrelerinin yüzeylerinde yer yer PAS-pozitif mukus salgı gözlenmiştir. Goblet hücrelerinde de PAS-pozitif mukus ayırt edilmiştir (Şekil 3.22, 3.23). Genel olarak, tüm gruplarda PAS+ reaksiyonu yoğunluk farkı ayırt edilememiştir.



Şekil 3. 22 : Kontrol grubunun PAS ile boyanmış trake dokusu. Bağ doku (BD), epitel (e), mukus (m), PAS-H pozitif reaksiyon (ok), x1000.



Şekil 3. 23 : Deney gruplarının (a: 0,1 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan, b: 0,3 gr/lt bitki ekstraktı uygulanan) PAS ile boyanmış trake dokuları. Kıkırdak halka (KH), bağ doku (BD), epitel (e), mukus (m), PAS-H pozitif reaksiyon (ok), x1000.

#### 4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

*Cyclamen graecum* etanol ekstresinden indol grubuna ait iki alkaloid (5-Hidroksi indol asetik asit, 5-Hidroksi indol etanol) çeşidi ve on bilinen (Etilen glikol, Okzalik asit, Benzoik asit, D-Riboz, Sorbopiranoz, 2-Keto-D-glukonik asit, D Fruktoz, Inositol, D-Altro-2-Heptuloz, Araşidik asit) madde olmak üzere toplam oniki madde elde edildi.

Yapılan içerik analiz sonucunda bulduğumuz B vitamini ailesinden olan İnositol, fosfat karışımları eklem iltihabı ve astım gibi solunum hastalıklarına karşı kullanıldığı ve spesifik inositol trifosfatların ağrı kesici olarak önerildiği bildirilmiştir (Siren, 1998). Diyabetik nöropati, insomnia, panik atak ve alzheimera, depresyon, şizofreni endike olduğu durumlardır. Yüz rejuvenasyonunda kullanılır. İnositol hücre membran fosfolipidlerinin ana bileşenlerinden olduğu bildirilmiştir (James, 2006; Nahorski ve ark., 1991; Levine ve ark., 1995). Beynin sağlıklı gelişmesinde ve çalışmasında etkilidir (Manji ve ark., 1999). Kolon kanseri, ateroskleroz, nöral doku ve koroner kalp hastalıklarına karşı koruyucu olduğunu bildirmişlerdir (Reale ve ark., 2004).

İlerki çalışmalarda bu maddenin saflaştırılarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği önerilebilir.

*Cyclamen graecum* Link. bitkisinin etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktlarının toplam antioksidan aktiviteleri,  $\beta$ -karoten-linoleik asit model sistemiyle belirlendi. Bu sistem, (Serbest linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksitli ürünlerinin  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı rengine tepkime vererek gidermesi ve bu renk gideriminin spektroskopik olarak takip edilmesi esasına bağlıdır) herhangi bir antioksidan bulunmadığında  $\beta$ -karotenin renginin hızla açılması esasına dayanır. Sisteme antioksidan içerikli ekstraktların ilave edilmesi, linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötralize edilmesini sağlar ve bunun sonucu

olarak da  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur. Dolayısıyla örneklerin daha yüksek absorbanası daha yüksek antioksidan aktiviteyi göstermektedir.

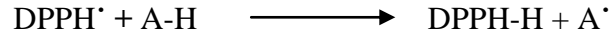
*Cyclamen graecum* bitkisinin ekstraktlarının  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite sonuçlarına göre en yüksek antioksidan aktivite (%  $80.2 \pm 0.6$ ) yerüstü kısmının etanollü çözücü ile elde edilen ekstraktında görülmüştür. Ekstraktların en düşük antioksidan aktivitesi (%  $49.9 \pm 3.5$ ) *C. graecum* yerüstü kısımlarının aseton ile elde edilen ekstraktında görülmüştür.

Araştırmacılar tarafından birçok bitki toplam antioksidan aktivite yönünden incelenmiştir. *Muscari parviflorum* Desf. bitki ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri  $\beta$ -Karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlenmiştir. Buna göre en yüksek antioksidan aktivite soğan etanol (MBE) ekstraktlarında % $76,8 \pm 1,51$  gösterdiği ve en düşük antioksidan aktivitenin yaprak metanol (MLM) ekstraktlarında % $60 \pm 1,32$  olduğunu belirlemişlerdir (Mammadov ve ark., 2012). Yapılan başka bir çalışmada, *Cyclamen mirabile* Hildebr. in Anatolia bitkisinin yaprak ve tuber kısımlarının su, metanol, aseton, petrol eteri ile hazırlanan ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri belirlemiştir. Tüm çözücülerde yaprak kısımları en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Antioksidan kapasitesi petrol eterinde 85.3-76.8%, asetonda 53.1- 42.1%, metanolde 71.2-63.42% ve su ekstraktında 58.2-34.6% olarak bulmuştur (Sarikurku, 2011). Burnaz, *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin sulu, kloroformlu ve metanollü ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği sulu ekstraktlardan daha yüksek olduğunu bulmuştur. Metanol ve sulu ekstraktların antioksidan aktiviteleri kloroform ekstraktlarından daha yüksek olduğunu bulmuştur. Bazı sulu ekstraktların FRAP değerleri Trolox®'dan yüksek bulmuştur (Burnaz, 2007). Tepe ve arkadaşları yurdumuzda yayılış gösteren 5 *Allium* türünün metanollü ekstraktlarının antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Bu çalışmada bitkilerin toplam antioksidan aktiviteleri % 60–70 arasında çıkmıştır (Tepe ve ark., 2005).

Yapılan bu çalışmalara baktığımızda, üzerinde çalıştığımız *Cyclamen graecum* Link bitkisinin etanollü ve metanollü ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, *Muscari parviflorum* Desf. etanollü ve 5 *Allium* türünün metanollü ekstraktlarının aktivitelerinden yüksek, *Cyclamen mirabile* Hildebr. in Anatolia petrol eteri ekstraktının antioksidan aktivitesinden düşük bulunmuştur.

Aynı bitkilerden farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının birbirlerinden çok farklı antioksidan aktivite göstermesinin sebebi olarak çözücülerin polariteleri gösterilebilir.

Ekstraktların serbest radikal giderim aktivitesi ekstrakt içerisindeki antioksidan bileşiklerin hidrojenlerini verebilmelerine ve bileşiğin yapısal konformasyonuna bağlıdır (Fukumoto ve Mazza, 2000). 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 517 nm de dalga boyu maksimumuna sahiptir ve bazı doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde serbest radikal olarak kullanılmaktadır. DPPH serbest radikali, aşağıdaki tepkime gereği kararlı bir molekül olabilmek için antioksidan moleküllerden bir elektron ya da hidrojen radikalini kolaylıkla alabilmektedir (Yen ve ark., 2005).



Ekstraktların serbest radikal giderim aktivitesi, özütlerin derişimin artmasıyla artmaktadır. *Cyclamen graecum* bitkisinin 1 mg/ml'lik hazırlanan ekstraktlar arasında en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi yerüstü kısmının etanollü ekstraktında (%97.3± 0.55) bulunmuştur. En düşük sonuç asetonlu ekstraktında (% 74.7± 2.21) görülmüştür. *C. graecum* bitkisinin 0.2 mg/ml'lik hazırlanan ekstraktlar arasında en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi ise yine yerüstü kısmının etanollü ekstraktında (%82.5±2.90) bulunmuştur. En düşük sonuç ise asetonlu ekstraktında (%55.2± 2.36) bulunmuştur.

Farklı bitkilerin serbest radikal giderim kapasitesine örnek olarak, Sarikurku'nün yapmış olduğu çalışmada, *Cyclamen mirabile* Hildebr. in Anatolia bitkisinin yaprak kısımların su, metanol, aseton, petrol eteri ile hazırlanan ekstraktların serbest radikal giderim kapasitesi sırasıyla % 57.51, %61.52, %53.07 ve %88.25 olarak belirlemiştir (Sarikurku, 2011). Mammadov ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Colchicum balansae* Planchon bitkisinin en yüksek serbest radikal giderim kapasitesi tuber kısımlarının benzenli ekstraktlarında (% 61.28) bulmuşlardır (Mammadov ve ark., 2009). Yapılan başka bir çalışmada *Romulea ramiflora* ve *Gagea fibrosa* Desf. bitkilerinden hazırlanan etanollü ve metanollü ekstraktları arasında *G. fibrosa*'da en yüksek serbest radikal giderim kapasitesi yaprak kısımlarının metanollü ekstraktında (%61.16 ± 1.46), *R. ramiflora* türünde ise soğan kısmının metanollü ekstraktında

(%51.27 ± 0.94) bulmuşlardır (Mammadov ve ark., 2011). Serbest radikal giderim kapasitesi, *Salvia candidissima* Vahl. bitki türünde % 94 (Akay, 2006), *Sideritis albiflora* Hub.-Mor bitki türünde %72, *Sideritis leptoclada* O. Schwarz türünde ise % 83 olarak bulmuşlardır (Usluer, 2006).

Yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, *C. graecum* bitkisinin daha yüksek serbest radikal giderim aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Buna dayanarak antioksidan (%80.2) ve serbest radikal giderim aktivitelerinin (%97.3) yüksek olması ve sentetik antioksidan olan BHT'nin değerlerine (%92.3) yakın değerler göstermesi bu bitki türlerinin doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

*Cyclamen graecum* Link. bitkisinden takip eden ekstraksiyon ile elde edilen etanol ve metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları FCR reaktifi kullanılarak, gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Sonuçlara göre özütler arasında en fazla gallik aside eşdeğer konsantrasyonları *C. graecum* yerüstü etanol ekstresinde (3.3737 mg/ml GAE) bulunmuştur. Bunu *C. graecum* yerüstü metanol ekstresi (2.5555 mg/ml GAE) takip eder. En düşük gallik aside eşdeğer konsantrasyonu ise *C. graecum* tuber metanol ekstresinde (1.1717 mg/ml GAE) bulunmuştur.

Buradan fenolik madde miktarı fazla olan özütün antioksidant aktivitesinin de fazla olacağı sonucuna ulaşabiliriz. Fakat toplam antioksidan aktivitenin her zaman fenolik madde miktarına bağlı olmadığı, ancak antioksidant aktivite belirlemede önemli bir parametre olduğunu söyleyebiliriz.

Sıçanlar üzerinde yapılan bu çalışmada, belirlenen türün ekstraktının, trake dokusu histolojisi ile mukus salgısının nötral şekerleri yoğunluğu üzerindeki etkileri histokimyasal yöntemlerle ışık mikroskobu düzeyinde araştırılmıştır. Çeşitli omurgalılarda solunum sistemi ile ilgili histolojik ve histokimyasal birçok çalışma yapılmaktadır. Erişkin albino farelerde (*Mus musculus subsp.*) trake, bronş ve bronşiol (terminal bronşiol ve respiratuar bronşiol) mukozalarının histokimyasal yapısı belirlenmiştir (Çınar ve Yavaş, 2008). Bazı omurgalı türlerinde gırtlak=larinks, soluk borusu=trake ve bronş=bronkus mukozalarının histolojik yapı ve histokimyasal karakterleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada türlerin larinks ve trake epiteli, bez ve goblet hücrelerinde nötral mukosubstanslara rastlanmamıştır. Fakat bronkus goblet hücreleri ile sığır ve keçi bronşial bezlerinde nötral



mukosubstansların bulunduğu belirlenmiştir (Yavaş, 2009). Bildircin trakesi üzerine yapılan bir diğer çalışmada, trakeyal müköz hücrelerin çoğunlukta olmak üzere kuvvetli sülfatlı epiteliyal müsinleri, nötral müsinleri ve daha az oranda da sialomüsinleri içerdiği, silaomüsinlerin yaşın ilerlemesine paralel olarak arttığı belirlenmiştir (Babür, 2005). Mochizuki ve ark. (1982) sıçan solunum sistemi üzerine yapmış oldukları çalışmada, laringeal bezlerin yoğun olarak nötral ve sülfatlı, daha az yoğunlukta da siyalik asitli glikoprotein içerdiklerini bildirmişlerdir. Vajner ve ark. (2001a, 2001b) yapmış oldukları çalışmada tavşan trakesi goblet hücrelerinin bol miktarda sülfat esterli, az miktarda sialik asit içeren ve çok az miktarda nötral mukosubstans ürettiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, kontrol ve deney gruplarında trake epitel hücrelerinin yüzeyinde yer yer mukus salgısı görülmüştür. Nötral şekerlerin boyanma yoğunluğunda gruplar arasında belirgin bir farklılık gözlenememiştir. Bu bulgu, uygulanan bitki ekstraktının dozuna bağlı olabilir. Dolayısıyla, 0.1gr/lt ve 0.3 gr/lt bitki ekstraktının, mukus salgısı nötral şekerlerinin yoğunluğu üzerine etkisi olmadığı söylenebilir. Bununla birlikte, bu konuda, bitkinin farklı konsantrasyonları ile yapılacak çalışmaların ve daha ileri moleküler analizlerin yapılması uygun olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Aboussouan L. S., Stoller J. K.** 1994. Diagnosis and Management of Upper Airway Obstruction. *Clinics in Chest Medicine*, 15 (1): 35-53.
- Akay, D.H.** 2006, *Salvia Candidissima* Vahl. Uçucu Bilesenlerinin Karakterizasyonu ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Muğla.
- Allen, P.** 1995, Soft-Tissue Accumulation Of Lead In The Blue Tilapia, *Oreochromis Aureus* (Steindachner), and The Modifying Effects Of Cadmium And Mercury, Department Of Zoology, National University Of Singapore, 50(3):193-208.
- Amin I., Norazaidah Y., Hainida K.I.** 2006. Antioxidant Activity And Phenolic Content Of Raw and Blanched *Amaranthus* Species. *Food Chemistry*, 94: 47-52.
- Arjmand E. M., Spector J. G.** 1996. Airway Control and Laryngotracheal Stenosis. *Otorhinolaryngology*. (Eds) Ballenger, J. J., Snow, J. B. 27: 478-479.
- Aruoma, O.I.** 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists Society (JAOCS)* 75(2): 199- 212.
- Babür, E.** 2005, Bildircinlarda Postnatal Dönemde Trakeya Epitelinin Kantitatif Histomorfolojik Gelişimi Ve Histokimyasal Özellikleri, Erciyes Üniversitesi, Erciyes.
- Bancroft, J.D. And Cook, H.C.**1994. Manual Of Histological Tecniques And Their Diagnostic Applications. Curchill Livingstone Medikal Division Of Longman Group UK Limited, Newyork, 1-172.
- Bancroft JD., Steven A., Turner DR.** 1996. Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone.129.
- Baytop, T.** 1994. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Ankara; Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Türk Dil Kurumu Yayınları, 578.
- Blois, M.S.** 1958. Antioxidant Determination By The Use Of A Stable Free Radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Bolkent, S., Akev, N., Can, A., Bolkent,S., Yanardağ, R. and Okyar,A.** 2005.Immunohistochemical studies on the effect of *Aloe vera* on thepancreatic  $\beta$ -cells in neonatal streptozotocin-induced type-II diabetic rats. *Egypt. J. Biol.*, 7: 14-19.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.**1995. Use Of A Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity, Food Science And Technology, 28, 25-30.
- Boat TF., Cheng PW.** 1980. Biochemistry of airway mucus secretion. 39 (13): 3067-74.
- Burnaz, N. A.** 2007.*Viburnum Opulus Ve V. Orientale* Bitki Ekstratlarının Kimyasal Bileşimi Ve Biyolojik Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Cerri, P.S. And Sasso-Cerri, E.** 2003. Staining Methods Applied To Glycol Methacrylate Embedded Tissue Sections. Micron 34. 365–372.
- Chaudiere, J. Ferrari-iliou, R.** 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms, Food Chem. Toxicol, 37(9-10): 949-62.
- Cordel, G.A.** 2000. The Alkoloids, Natural Products Inc., Evanston, IL, USA, 69, 622.
- Cuendet, M., Hostettman K., Potterat, O.** 1997. Dridoid Glucosides With Free Radical Scavenging Properties From Fagraea Blumei. Helv Chim Acta. 80: 1144-1152.
- Çelik, A., Çiçek, M., Semiz, G. And Karıncalı, M.** 2004. Taxonomical And Ecological Investigations On Some Geophytes Growing Around Denizli Province (Turkey). Turkish Journal Of Botany, 28 (1&2):205-211.
- Çetik, R.** 1973. “Vejetasyon Bilimi”, Ülkemiz Matbaası, Ankara.
- Çınar, K., Bilgin, F., Diler, A.** 1999. Koyunlarda Prenatal Dönemde Duodenum’un Histolojik Gelişimi Ve Histokimyasal Yapısı Üzerine Isık Mikroskopik Çalışmalar. Tr. J. Of Zoology, 23:703-708.
- Çınar, K., Yavaş, C.** 2008. Albino Fare (*Mus Musculus Subsp.*)’De Trakea, Bronş Ve Bronşiol Mukozasının Histokimyasal Yapısı. S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi., 15 (1), 17–21.
- Dall’Acqua, S. Castagliuolo, L., Brun, P., Ditadi, F., Palù, G., Innocenti, G.** 2010. Triterpene glycosides with in vitro anti-inflammatory activity from Cyclamen repandum tubers. Carbohydrate Research.
- Davis, P. H.** 1978. Flora Of Turkey And The East Aegean Islands, University Press, Edinburgh Vol. 6.
- Davis, P.H.** 1984. Flora Of Turkey And The East Aegean Islands. Vol:8, Edinburg Univ. Press, Edinburg.
- Demirhan E.** 2001. Şifalı Bitkiler, Alfa Basım Yayım Dağıtım Ltd. Şti., İstanbul,

540p.

- Droge, W.** 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82:47-95.
- Duh, P. D., Yen, W. J., Du, P. C., & Yen, G. C.** 1997. Antioxidant Activity Of Mung Bean Hulls. *Journal Of The American Oil Chemists' Society*, 74:1059-1063.
- Duman, H., Koyuncu, M., Ünal, F.** 2002. The Genus *Sternbergia* Waldst. & Kit. (Amaryllidaceae) İn Turkey. *The Karaca Arboretum Magazine*, 6: 115-30.
- Ekim, T.** 1990. Bitkiler, Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayını, Ankara.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Güner, A., Erik, S., Yıldız, B., Vural, M.** 1991. Türkiye'nin Ekonomik Değer Taşıyan Geofitleri Üzerinde Taksonomik Ve Ekolojik Araştırmalar, T. C. Tarım Orman Ve Köyişleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, İşletme Ve Pazarlama Daire Başkanlığı, O. E. M. Eğitim Dairesi Başkanlığı Yayın Ve Tanıtma Şube Müdürlüğü Matbaası, Ankara.
- Ekim, T., Koyuncu, M.** 1992. Türkiye'den İhraç Edilen Çiçek Soğanları Ve Koruma Önlemleri I. Uluslar Arası Ekoloji Ve Çevre Sorunları Sempozyumu 5-7, 42-47, Ankara.
- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G.** 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18(10): 872-879.
- Feresin, G. E., Tapia, A. A., Bustos, D. A.** 2000. Antibacterial Activity Of Some Medicinal Plants From San Juan, Argentina. *Fitoterapia*, 71: 429-432.
- Floyd, R.** 1990. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *Faseb J.* 4: 2587-2597.
- Forrest JB., Lee RMKW.** 1991. The Bronchial wall: Integrated form and function. *The Lung: scientific foundations.* 729-740.
- Fukumoto, L.R., Mazza, G.** 2000. "Assesnsing Antioksidant And Prooxidant Activities Of Phenolic Compounds" , *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 48, 3597-3604.
- Grillo H. C., Mathisen D. J.** 1991. Disease of the Trachea and Bronchi. *Otolaryngology*, (Eds) Paparella, M., Shumrick, A.D., Gluckman, J.I., Meyerhoff, W.L. Third Edition. 35: 2385-2397.
- Güner, A.** 1994. "Bitkiler Dünyası" Bilim Ve Teknik, Tübitak Yayını, Cilt: 27; Sayı 321. Pro- Mat Basın Yayın A. Ş., 431p.

- Halliwell, B.**1995. How To Characterize An Antioxidant: An Update. *Biochemistry Society Symposium* 61,73-101.
- Hebel R., Stromberg M. W.** 1976. Respiratory system. *Anatomy of the Laboratory Rat*. The Williams&Wilkins Company, 55-60.
- Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollord, C. A. and Sosner, J. J.** 2003. Utilization of Folin- Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7): 1811-1815.
- Ishizaka, H., Yamada, H., Sasaki, K.** 2002. Volatile compounds in the flowers of *Cyclamenpersicum*, *C.purpurascens* and their hybrids. *Scientia Horticulturae*, 1–2 (94),125–135
- İbadova, S.** 2006. Bazı hypericum türlerinin fenolik bileşimi ile antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- James L.** 2006. The pharmacopeia of mesotherapy: The pharmacology of some commonly used medications in mesoglow and non-surgical body contouring. Madhere S. *Aesthetic Mesotherapy and Injection Lipolysis in Clinical Practice*. 2nd Ed. New York: Taylor & Francis Group; p.145-175.
- Jones R.** 1977. Modification of mucus in animal models of disease. *Proceedings of International Symposium on Mucus in Helalth and Disease*. 63-72.
- Koç, H.** 2002. *Bitkilerle Sağlıklı Yaşama*, Başbakanlık.
- Kodavanti, U.P., Moyer, C.F., Ledbetter, A.D., Schladweiler, M.C., Costa, D.L., Hauser, R., Christiani, D.C., Nyska, A.** 2003. Inhaled Environmental Combustion Particles Cause Myocardial Injury In The Wistar Kyoto Rat *Toxicological Sciences*, 71:237-45.
- Konukoğlu,D.** 2000. *Biyokimya Nobel tıp kitabevi*, İstanbul.
- Koyuncu, M., ve Ekim, T.** 1984. “Türkiye’nin İhraç Ettiği Geofitler Ve Bunların Ekonomik Önemi”, V. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 15-17 Kasım, Ankara.
- Koyuncu, M.** 1994. “Geofitler” *Bilim ve Teknik Tübitak Yayınları Cilt 27; Sayı 321, Pro-Mat Basın Yayını A.S. Ankara*.
- Levine J, Barak Y, Gonzalves M.** 1995. Controlled trial of inositol treatment of depression. *Am J Psychiatry*.152:792-4.
- Mammadov, R., Düşen, O., Uysal, D. and Köse, E.** 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from tubers and leaves of

- Colchicum balansae* Planchon, Journal of Medicinal Plants Research, 3(10), 767-770, 2009.
- Mammadov, R., Ili, P., Ertem Vaizogullar, H.** 2011. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Gagea fibrosa* and *Romulea ramiflora*, Iran. J. Chem. Chem.,30(3).
- Mammadov, R., Ili, P. and Dusen, O.** 2012. Phenolic contents and antioxidant properties of *Muscari parviflorum* Desf. Journal of the Chemical Society of Pakistan, 34 (5).
- Manji HK, Bebhuk JM, Moore GJ.** 1999. Modulation of CNS signal transduction pathways and gene expression by mood-stabilizing agents: Therapeutic implications. J Clin Psychiatry, 60(suppl. 2): 27-39.
- Miller, H. M.** 1991. A simplified method for the evaluation of antioxidants. Journal of the American Oil Chemists' Society, 45: 91.
- Mochizuki, I., Setser, M.E., Martinez, J.R., Spicer, S.S.** 1982. Reproductive System Carbohydrate histochemistry of rat respiratory glands. Anatomy Record., 202 (1), 45-59.
- Mogalhaes, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., Lima, L. L. F. C. and Rangel, O. S. S.** 2006. Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54 (15): 5241-5246.
- Nahorski SR, Ragan CI, Challiss RAJ.** 1991. Lithium and the phosphoinositide cycle: An example of uncompetitive inhibition and its pharmacological consequences. Trends Pharmacol Sci, 12:297-303.
- Namiki, M.** 1990. Antioxidants/antimutagens in food. Food Sci. Nutr. 29: 273-300.
- Pokorny, J.** 1991. Natural antioxidants for food use. Trends Food Sci. Technol. 2: 223-226.
- Rao, G. R., Konjilal, G. and Mohan, K. R.** 1978. extended application of Folin-Ciocalteu reagent in the determination of drugs. The Analyst, 103: 993- 994.
- Reale, A., Mannina, L., Tremonte, P., Sobolev, A.P., Succi, M., Sorrentino, E. and Coppola, R.** 2004. Phytate degradation by lactic acid bacteria and yeasts during the wholemeal dough fermentation: a <sup>31</sup>P NMR study. J. Agric. Food Chem., 52; 6300–6305.
- Reznicek, G., Jurenitsch, J., Robiena, W., Kubelka W.** 1989, Phytochemistry (3): 825–828.
- Rose MC.** 1992. Mucins, Function, and role in pulmonary diseases Lung Cellular and Molecular Physiology. 263: 413-429.

- Rosemary, F. W., Murray, R. B.**1999. Peonidin 3-O-neohesperidoside and other *Cyclamen persicum* petals. *Phytochemistry* , 52, 939-941.
- Roura, E., Anders-Lacuea, C., Estruch, R. and Lamuela-Raventos, R. M.** 2006. Total Polyphenol Intake Estimated by a Modified Folin-Ciocalteu Assay of Urine. *Clinical Chemistry*, 52: 749-752.
- Sakar, M. K, Tanker, M.** 1991. “Fitokimyasal Analizler”. Ankara Üniv. Ecz. Fak. Yayınları No:67, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 224p.
- Samet JM., Cheng PW.** 1994. The role of airway mucus in pulmonary toxicology. *Environmental Health Perspectives*.102: 89-103.
- Sarikurkcü, C.** 2011. Antioxidant activities of solvent extracts from endemic *Cyclamen mirabile* Hildebr. tubers and leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(5),831-839.
- Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J.D.** 2005. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing (ICCN)* 21: 24-28.
- Semiz, S., Çiçek, M.** 2001. Biyolojik Zenginliklerimiz Geofitler, *Ekoloji Çevre Dergi*, Sayı: 39, İzmir.
- Seven Ü.** 2006. Gıda Örneklerinde Aromatik Aminlerin Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (Gc-Ms) İle Tayinlerinde Katı Faz Ekstraksiyonu Uygulamaları. *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Sherwin, E. R.** 1990. Antioxidants. In A. L. Branen, P. M. Davidson, S. Salminen, *Food antioxidants*, Marcel Dekker Inc., New York.
- Sleigh MA., Blake JR., Liron N.** 1988. The propulsion of mucus by cilia. *137(3)*: 726-41.
- Singleton, V. L., Orthofer , R. and Lamuela-Raventos, R. M.** 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.
- Siren, M.** 1998. Use of an ester of inositoltriphosphate for the preparing of medicaments. U.S. Patent 5846957.
- Speroni, E. Cervellati, R. Costa1, S. Dall’Acqua, S. Guerra, M. C. Panizzolo, C. Utan, A. Innocenti, G.** 2007. Analgesic and Antiinflammatory Activity of *Cyclamen repandum* S. et S., *Phytother. Res.* 21, 684–689.
- Tanker, N.** 1965a. *Cyclamen pseudibericum* Hildebr. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, İstanbul Ecz. Fak. Mec.(J. Fac. *Pharm.* İstanbul) 1, 61-81.

- Tanker, N., Türköz, S.**1984.*Cyclamen cilicium* Boiss. Et Heldr. var. *intaminatum* Meikle Üzerinde Morfolojik Ve Anatomik Araştırmalar, *Gazi Ecz. Fak. Der.* 1, 79-85.
- Tanker, M., Tanker, N.** 1998.“Farmakognozi”. Cilt 1. (92-283), Ankara Üniv. Ecz. Fak. Yayınları No:66.
- Tanker, M.,& Tanker, N.** 2003. “Farmakognazi”. Cilt 1-2, Ankara Üniv. Ecz. Yayınları No :66, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 347p.
- Tekeli, Y.** 2008. Konya Bölgesindeki Bazı *Centaurea* Türlerinin Bazı Kimyasal Ve Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Konya.
- Tepe, B., Sökmen, M., Akpulat, A., Sökmen, A.** 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chemistry*, 92:89–92.
- Tharnton DJ., Davies JR., Krayanbrink M., Richardson PS., Sheehan JK., Carlstedt I.** 1990. Mucus glycoproteins from normal human tracheobronchial secretions. *Biochem J.*; 265: 179-186.
- Tunalı, Z., Koşar, M., Küpeli, E., Çalış, İ., Başer, H.C.** 2004. Antioxidant, anti-inflammatory, anti-nociceptive activities and composition of *Lythrum salicaria* L. extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 539-547.
- Türker, L., Bayrak, A.** 1997. Çörekotu (*nigella sativa* L.)’nun sabit ve uçucu yağ kompozisyonunun araştırılması. *Standard, Ekim Sayısı:* 128-137.
- Usluer, Ö.** 2006.“*Sideritis albiflora* HUB.-MOR ve *Sideritis leptoclada* O.Schwarz&H:Davis Bitki Türlerinin Uçucu Bileşenlerinin İzolasyonları ve Antioksidat aktivitelerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Muğla.
- Ünlü, C.M.** 2001. Çeşitli içeceklerdeki antioksidan kapasitenin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Wanasundara, U. N. and Shahidi, F.** 1998. Antioxidant and Pro-oxidant Activity of Green Tea Extracts in Marine Oils. *Food Chem.*, 63: 335-342.
- Weber A. L., Grillo H.** 1992. Tracheal Lesions- Assessment by Conventional Films, CT and MRI. *Israel Journal of Medical Science*, 28: 233-240.
- Wettasinghe, M., Shahidi, F.** 1999. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds, *Food Chemistry*, 67, 399-414.
- Wilson, J.N., Pierce, J.D., Clancy, R.L.** 2001. Reactive oxygen species in acute respiratory distress syndrome. *Heart Lung* 30:370-375.



- Wheater PR., Burkitt HG., Daniel VG.** 1979. Functional Histology. Churchill Livingston.
- Wu, C., Chen, F., Wang, X., Kim, H., He, G., Haley-zitlin, V., Huang, G.** 2006. Antioxidant constituents in fewerfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification. Food Chem.,96: 220–227.
- Vajner, L., Konradova, V., Uhlik, J., Zocova, J.** 2001a. Mucin histochemistry of tracheal goblet cells after oral admistration of ambroxol. Acta Veterinaria. 70, 9-13.
- Vajner, L., Konradova, V., Uhlik, J., Zocova, J.** 2001b. The effect of oral administration of salbutamol on the glycoconjugate composition in goblet cells of the tracheal epithelium in rabbit. Veterinary Medicine., 46, 365-69.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M.** 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions 160: 1-40.
- Varol, Ö., Mammadov, R.** 2006. Investigation of Geophyte species of Muğla, Turkey. J. Botany, Sankt-Peterburk, 2, pp. 235-243.
- Vinson, J., Zubik, L., Bose, P., Sammon, N. and Proch, J.** 2005. Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants. Journal of the American College of Nutrition, 24(1): 44-50.
- Yavaş, C.** 2009. Bazı Omurgalı Türlerinde Larinks, Trake ve Bronkus Mukozalarının Histolojik ve Histokimyasal Yapıları, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Ünivesitesi, Isparta.
- Yaylı, N., Baltacı, C., Zengin, A., Küçükislamoğlu M., Gen, H.** 1998. A terponoid Saponin from *Cyclamen coum*. *Phytochemisto.*, 48, (5) 881-884.
- Yen, W., Chang, L., Duh, P.** 2005. Antioxidant activity of peanut seed testa and its antioxidative component, ethyl protocatechuate, LWT, 38: 193–200.
- Zık, B. ve Erdost, H.** 2002. Horozlarda Acı Kırmızı Biberli Rasyonla Beslemenin Üropigi Bezi Üzerine Etkisinin Histolojik Yönden İncelenmesi. Türk J Vet Anim Sci, 26:1223-1232.

<http://www.hoslink.com/histo/6.htm>

## **ÖZGEÇMİŞ**



**Ad Soyad :** Hülya METİN

**Doğum Yeri ve Tarihi :** Karamürsel- 08.05.1985

**Adres :** Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü/Denizli

**Lisans Üniversite :** Pamukkale Üniversitesi