



**RATLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE
İNDÜKLENEN HEPATOTOKSİSİTEYE KARŞI
ENGİNAR (*Cynara scolymus* L.) YAPRAK
EKSTRELERİNİN KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

SümeYra ALBAYRAK
Doktora Tezi
Danışman: Prof.Dr. Gülcan AVCI
Tez No: 2023-010
Afyonkarahisar

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**RATLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE
İNDÜKLENEN HEPATOTOKSİSİTEYE KARŞI
ENGİNAR (*Cynara scolymus* L.) YAPRAK
EKSTRELERİNİN KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan

Bil. Uzm. Kim. Sümeyra ALBAYRAK

Danışman

Prof. Dr. Gülcan AVCI

Tez No: 2023-010

AFYONKARAHİSAR

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı'nda** Sümeyra ALBAYRAK tarafından hazırlanan “Ratlarda Siklofosamid ile İndüklenen Hepatotoksisiteye Karşı Enginar (*Cynara scolymus* L.) Yaprak Ekstrelerinin Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması” adlı tez çalışması Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 08.06.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Üye

Unvan, Ad, Soyad

İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

.../.../..... tarih ve

.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı **beyan ederim.**

26/05/2023

İmza

Sümevra ALBAYRAK

ÖZET

RATLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENEN HEPATOTOKSİSİTEYE KARŞI ENGİNAR (*Cynara scolymus* L.) YAPRAK EKSTRELERİNİN KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Karaciğer, metabolizmada detoksifikasyon merkezi toksik metabolitlerin hasarına en çok maruz kalan organdır. Geleneksel tıpta, biyoaktif maddeler içeren enginar (*Cynara scolymus* L.) ve yapraklarının karaciğerdeki terapötik ilaçların toksik metabolitlerinin olumsuzluklarını ortadan kaldırmak için kullanımı oldukça yaygındır. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda *C. scolymus* bitkisinin yapraklarının ratlarda siklofosfamid (CP) nedenli oluşan akut hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda, *C. scolymus* bitkisinin yaprakları toz haline getirilmiş ve sırasıyla *n*-hekzan, etil asetat (EtOAc) ve metanol (MeOH) ekstraktları hazırlanmıştır. Ratlarda CP ile indüklenen hepatotoksisiteye karşı hazırlanan ekstrelerin koruyucu etkinliği rutin biyokimyasal parametreler (AST, ALT, ALP, total protein (TP), total bilirubin (TB)), karaciğer histopatolojisi, oksidan-antioksidanları (MDA, GSH, GPx, SOD) ve sitokin (IL-1 β , IL-10, TNF- α) ölçümleri ile belirlenmiştir. Ayrıca üç ekstrenin toplam fenolik madde miktarları, DPPH radikali süpürücü aktiviteleri, süperoksit radikali süpürücü aktiviteleri ve metal bağlama aktiviteleri dahil olmak üzere çeşitli *in vitro* deneylerle antioksidan aktiviteleri ölçülmüştür. Ekstraktların fenolik içeriklerini belirlemek için Sıvı Kromatografisi - Kuadrupol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometrisi (Liquid Chromatography - Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry (LC-QTOF-MS) yöntemi kullanılmıştır. Buna göre LC-QTOF-MS analizi sonucunda luteolin-7-O-glikozit, apigenin 7-glikozit, apigenin ve okso oktadekatrienoik asit, hidroksi oktadekatrienoik asit, hidroksi oktadekadienoik asit bileşikleri EtOAc ekstresinde MeOH ekstresinden daha yüksek bulunurken, apigenin-7-O-rutinozit ise sadece EtOAc ekstresinde bulunarak tanımlanmıştır. *In vitro* antioksidan aktivite tayinlerinde MeOH, EtOAc, *n*-hekzan ekstrelerin toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 5,735 mg; 0,917 mg; 0,167 mg gallik asit (GAE)/g ekstre düzeyinde bulunmuştur. DPPH radikal süpürücü aktivite MeOH ekstresinde (%87,73), süperoksit radikal süpürücü aktivitesi EtOAc ekstresinde (%49,02) ve metal bağlama aktivitesi (289,32 μ M Fe) ise *n*-hekzan ekstresinde en yüksek olarak ölçülmüştür.

Çalışmanın *in vivo* deneylerinde CP uygulanmasının plazma transaminazları, TP, MDA, TNF- α ve IL-1 β seviyesini artırdığı, GSH, GPx, SOD ve IL-10'u azalttığı belirlenmiştir. CP grubuna göre tüm ekstre gruplarında AST, ALT ve ALP düzeyleri istatistiki olarak azalırken TP düzeyi sadece EtOAc grubunda azalmıştır. Total bilirubin seviyesindeki değişimler ise kontrole göre tüm deneme gruplarında önemsiz bulunmuştur. Çalışmada CP grubuna göre MeOH grubunda plazma ve KC dokusu MDA, TNF- α ve IL-1 β düzeyleri azalırken; GSH (KC dokusu hariç), GPx, SOD ve IL-10 düzeyleri ise istatistiksel olarak artış göstermiştir. EtOAc grubunda ise sadece KC dokusu MDA düzeyi düşük ve plazma GSH düzeyi yüksek bulunmuş olup tüm sitokin düzeyleri önemsiz bulunmuştur. Aynı zamanda *n*-hekzan grubunda tüm oksidan-antioksidan parametreler ve sitokin düzeyleri önemsiz bulunmuştur.

Çalışmanın histopatolojik sonuçları temel alındığında, CP grubunda KC dokusunda sinüzoidal dilatasyon, vena sentralislerde hiperemi, vakuoler dejenerasyon ve Kupferr hücre aktivasyonunda anormal değişimler belirlenirken, EtOAc grubunda ise tam tersine KC dokusundaki bu anormal değişimlerin anlamlı olarak düştüğü ve dokuda iyileşme sağlandığı görülmektedir. Bu iyileşme MeOH grubunda vena sentralislerde hiperemi ve vakuoler dejenerasyonda azalma ile şeklinde görülürken *n*-hekzan grubunda ise doku iyileşmesinin çok sınırlı kaldığı belirlenmiştir.

Yüksek düzeyde fenolik madde içeren MeOH ekstraktının, CP'nin neden olduğu akut hepatotoksisiteye, artan inflamasyona ve oksidatif strese karşı daha etkili olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda, daha geniş bir yelpazede fenolik madde içeren EtOAc ekstraktının doku iyileşmesinde daha etkili olduğu bulunmuştur. Buna karşın, *n*-hekzan ekstraktı antioksidanlar, sitokinler ve histopatolojik incelemeler açısından diğer ekstraktlara göre en etkisiz ekstrakt olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, mevcut bulgular, enginar yaprağının özellikle MeOH ekstraktının, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı sıçanlarda CP'nin neden olduğu hepatotoksisite hasarına karşı iyileştirici etkiler sunduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Akut hepatotoksisite, Antioksidan aktivite, Enginar, Histopatoloji, Sitokin

SUMMARY

INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFICIACY OF ARTICHOKE (*Cynara scolymus* L.) LEAF EXTRACTS AGAINST HEPATOTOXICITY INDUCED BY CYCLOPHOSPHAMIDE IN RATS

As the liver is the detoxification center in metabolism, it is the organ most exposed to damage by toxic metabolites. In traditional medicine, the use of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and leaves, which contain bioactive substances, to eliminate the negative effects of toxic metabolites of therapeutic drugs in the liver is quite common. In the light of this information, it was aimed to evaluate the protective efficacy of *C. scolymus* leaves against cyclophosphamide (CP)-induced acute hepatotoxicity in rats. The protective efficacy of extracts prepared against CP-induced hepatotoxicity in rats was determined using routine biochemical parameters (AST, ALT, ALP, total protein (TP), and total bilirubin (TB)), liver histopathology, oxidant-antioxidant levels (MDA, GSH, GPx, and SOD), and levels of cytokines (IL-1 β , IL-10, and TNF- α). In addition, antioxidant activities of the three extracts were measured by various *in vitro* experiments, including total phenolic content, DPPH radical scavenging activities, superoxide radical scavenging activities and metal binding activities. To determine the phenolic contents of the extracts, Liquid Chromatography - Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry (LC-QTOF-MS) method was utilized. The findings of the LC-QTOF-MS analysis revealed that the EtOAc extract had higher concentrations of luteolin-7-O-glycoside, apigenin 7-glycoside, apigenin, oxooctadecatrienoic acid, hydroxy octadecatrienoic acid, and hydroxy octadecadienoic acid compounds compared to the MeOH extract. On the other hand, only the EtOAc extract had higher concentrations of apigenin-7-O-rutinoic acid compounds. In the *in vitro* antioxidant activity assays, the total phenolic content of the MeOH, EtOAc, and *n*-hexane extracts were 5,735 mg, 0.917mg, and 0.167 mg gallic acid (GAE)/g extract, respectively. The MeOH extract showed the highest DPPH radical scavenging activity (87.73%), the EtOAc extract showed the highest superoxide radical scavenging activity (49.02%), and the *n*-hexane extract showed the highest metal binding activity (289.32 μ M Fe).

In the *in vivo* experiments of the study, it was determined that the administration of CP increased the levels of plasma transaminases, T. protein, MDA, TNF- α and IL-1 β , and decreased GSH, GPx, SOD and IL-10. While AST, ALT and ALP levels were statistically decreased in all extract groups compared to the CP group, T. protein level decreased only in

the EtOAc group. Changes in T. bilirubin levels were found to be insignificant in all experimental groups compared to the control. In the study, plasma and liver tissue MDA, TNF- α and IL-1 β levels decreased in MeOH group compared to CP group, while GSH (except liver tissue), GPx, SOD and IL-10 levels increased statistically. In the EtOAc group, only liver tissue MDA levels were low and plasma GSH levels were high, and all cytokine levels were found to be insignificant. At the same time, all oxidant-antioxidant parameters and cytokine levels were found to be insignificant in the *n*-hexane group. Based on the histopathological results of the study, sinusoidal dilatation in the liver tissue, hyperemia in the vena centralis, vacuolar degeneration and abnormal changes in Kupferr cell activation were determined in the CP group, whereas in the EtOAc group, on the contrary, these abnormal changes in the liver tissue decreased significantly and tissue healing was achieved. While this improvement was seen in the form of hyperemia in the vena centralis and a decrease in vacuolar degeneration in the MeOH group, it was determined that tissue healing was very limited in the *n*-hexane group.

The MeOH extract with high levels of phenolic substances has been found to be more effective against acute hepatotoxicity, increased inflammation, and oxidative stress caused by CP. In addition, the EtOAc extract, which contains a wider variety of phenolic substances, has been found to be more effective in tissue healing. On the other hand, *n*-hexane extract was found to be the most ineffective extract compared to other extracts in terms of antioxidants, cytokines and histopathological examinations.

In conclusion, the present findings showed that especially MeOH extract of artichoke leaf offered curative effects against CP-induced hepatotoxicity damage in rats due to its antioxidant and anti-inflammatory properties.

Keywords: Acute hepatotoxicity, Antioxidant activity, Artichoke, Histopathology, Cytokine

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada tez konusunu seçen, planlanmasında, yürütülmesinde her konuda yardımcı olan, çalışmalar sırasında ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi birikiminden, tecrübe ve hoşgörüsünden yararlandığım Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gülcan AVCI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Doktora eğitimimde emeği geçen değerli Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine ayrı ayrı teşekkür ederim. Bitki örneğinin teşhisi ve bitki materyali ile gerçekleşen deneysel çalışmalar için laboratuvarını açan Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL'a ve yardımlarını esirgemeyen doktora öğrencisi Büşra KARPUZ'a, hoşgörüsü ve desteği için Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE'ye teşekkürlerimi sunarım. Histopatolojik incelemeleri nedeniyle Afyon Kocatepe Üniversitesi Bayat Meslek Yüksekokulu Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e, deney hayvanları çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Sayın Arş. Gör. Orkun ATİK'e, laboratuvar çalışmalarında desteğini gördüğüm Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Barış DENK'e ve verilerin istatistikî analizleri için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. İlkay DOĞAN'a ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Serdar Koçak'a teşekkürlerimi sunarım. Tezin oluşum sürecinde kolaylık sağlayan, motive eden Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu TGL birimi mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen, tezi bitirmemi en çok isteyen canım anne ve babama, tezin her aşamasını benimle birlikte yaşayan, en çok motivasyonu destek ve paylaşımlarımızın üstünde bir emekle sağlayan canım eşime, tezi yazarken büyük fedakârlık ve olgunluk gösteren canım oğlum Alptuğ'uma teşekkürü borç bilirim.

Sümeyra ALBAYRAK

Afyonkarahisar

2023

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ	
ÖZET	i
SUMMARY	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SAYFA	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kemoterapi	4
2.2. Alkilleyici Ajanlar	9
2.3. Siklofosfamid (CP)	10
2.3.1. Farmakolojik Özellikleri	11
2.3.2. CP Metabolizması ve Yan Etkileri	12
2.4. Sitokinler	17
2.5. Karaciğer Fonksiyon Belirteçleri	18
2.5.1. CP'nin Akut Toksikasyonu ve Yaygın Komplikasyonları	20
2.5.2. CP'nin Kronik Toksikasyonu	22
2.5.3. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	23
2.6. Botanik Bilgiler	26
2.6.1. Asteraceae Familyası	26
2.6.2. Enginar Bitkisinin Bazı Biyolojik Etkileri	28
2.7. Amaç	33

3. MATERYAL VE METOD	34
3.1. Materyal	34
3.1.1. Bitki Materyali	34
3.1.2. Deney Hayvanı	34
3.1.3. Analizlerde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler	34
3.1.4. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	35
3.2. Metot	36
3.2.1. <i>n</i> -Hekzan Ekstresinin Hazırlanması	36
3.2.2. EtOAc Ekstresinin Hazırlanması	37
3.2.3. MeOH Ekstresinin Hazırlanması	37
3.2.4. Toplam Fenolik Madde Tayini	38
3.2.6. Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini	39
3.2.7. Metal Bağlama Aktivite Tayini	39
3.2.8. Fitokimyasal İçeriğin Belirlenmesi	40
3.2.9. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney protokolü	41
3.2.10. Plazma ve Doku Homojenizat Eldesi	42
3.2.11. Biyokimyasal Analizler	43
3.2.12. Histopatolojik İnceleme	43
3.2.13. İstatistiki Analiz	43
4. BULGULAR	45
4.1. <i>In vitro</i> Deney Bulguları	45
4.1.1. Kromatografik Yöntem Bulguları	45
4.1.2. Spektroskopik Deney Bulguları	49
4.2. <i>In vivo</i> Deney Bulguları	52
4.2.1. Biyokimyasal Analizler	52
4.2.2. Histopatolojik İnceleme Bulguları	54
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
7. KAYNAKLAR	70
8. EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%: Yüzde

3-dekloroetil-IFO: 3-dekloroetilfosfamid

4-OH-CP: 4-Hidroksisiklofosfamid

8-OHdG: 8- Hidroksi-2'-deoksiguanozin

°C: Derece Santigrat

[a/a]: ağırlık /ağırlık

ADH: Alkol dehidrojenaz

ALDH1A1: Aldehit dehidrojenaz

ALDO: Aldofosfamid

ALP: Alkalın fosfataz

ALT: Alanin aminotransferaz

AST: Aspartat aminotransferaz

CAA: Kloroasetaldehit

CASP: Kaspaz

CAT: Katalaz

CCl₄: Karbon tetraklorür

CK: Kreatin kinaz

CP: Siklofosfamid

CUPRAC: Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite

DMSO: Dimetil sülfoksit

DNA: Deoksiribo nükleik asit

DPPH: 2,2-Difenil-1-pikril hidrazil

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

EtOAc: Etil asetat

Fe⁺²: Ferri Demir

FeCl₂: Demir(II) klorür

FCR: Folin-Ciocalteu ayırıcı

FRAP: Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Güç

GAE: Gallik asit eşdeğeri

GPx: Glutasyon peroksidaz

GR: Glutasyon redüktaz

GSH: İndirgenmiş Glutasyon

GST: Glutasyon-S-Transferaz

HNE: 4-Hidroksinonenal

IL: İnterlökin

IL-1β: İnterlökin-1beta

IL-10: İnterlökin-10

INF: İnterferonlar

i.p.: intraperitoneal

iv: intravenöz

KC: Karaciğer

LC-QTOF-MS: Sıvı kromatografisi- Kuadropol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometrisi

LDH: Laktat dehidrojenaz

LOO: Lipid peroksil radikali

LOOH: Lipid hidroperoksitler

MDA: Malonaldehit

MeOH: Metanol

MESNA: Sodyum-2-merkaptoetanol sülfonat

Na₂CO₃: Sodyum karbonat

Na₃PO₄: Sodyum fosfat

NADH: Nikotinamid adenin dinükleotid

nm: Nanometre

NBT: Nitro mavi tetrazolyum

PAM: Fosforamid hardalı

PMS: Fenazin metasülfat

RNS: Reaktif azot türleri

ROS: Reaktif oksijen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

TNF- α : Tümör nekroz faktör-alfa

UV: Ultraviyole

YBSK: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	SAYFA
Şekil 2.1. Kemoterapinin tarihçesi	4
Şekil 2.2. CP'nin yapısı	10
Şekil 2.3. CP'nin metabolik yolu	13
Şekil 2.4. Enginardaki bazı fenolik asit bileşiklerin yapıları	30
Şekil 4.1. Enginar yapraklarından hazırlanan ekstrelerdeki bileşiklerin toplam iyon kromatogramı	46
Şekil 4.2. Standart gallik asit kalibrasyon grafiği	48
Şekil 4.3. Ratlarda CP toksikasyonuna karşı KC dokusunda enginar yaprağının <i>n</i> -hekzan, EtOAC ve MeOH ekstraterinin etkinliğinin histopatolojik görünümü	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 2. 1. Kemoterapi ilaçları ve sınıflandırması	5
Çizelge 2. 2. CP'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri	11
Çizelge 2. 3. ROS kaynaklı serbest radikaller ve serbest radikal olmayanlar	24
Çizelge 2. 4. RNS kaynaklı serbest radikaller ve serbest radikal olmayanlar	24
Çizelge 2. 5. Enginar (<i>Cynara scolymus</i> L.) sistematigi	27
Çizelge 3. 1. Fitokimyasal analizler için yararlanılan solvanlar	34
Çizelge 3. 2. Analizler için kullanılan cihazlar	35
Çizelge 3. 3. Yapılan analizler için kullanılan kimyasal maddeler ve kitler	36
Çizelge 3. 4. LC-QTOF-MS sistem parametreleri	40
Çizelge 3. 5. Deney grupları ve uygulanan işlemler	42
Çizelge 4. 1. Enginar yaprağında LC-QTOF-MS ile belirlenen fenolik bileşikler, alıkonma zamanları	47
Çizelge 4. 2. Enginar yaprağında tespit edilen bileşiklerin LC-QTOF-MS molekül iyon kütleleri [M-H] ve alıkonma zamanları	48
Çizelge 4. 3. <i>n</i> -Hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarında toplam fenolik madde miktarları (mg gallik asit eşdeğeri/ g kuru madde)	50
Çizelge 4. 4. Enginar yaprağının <i>n</i> -hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarında belirlenen DPPH radikali süpürücü aktivitesi (%) sonuçları	50
Çizelge 4. 5. <i>n</i> -Hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarının süperoksit radikali süpürücü aktivitesi (%)	51
Çizelge 4. 6. <i>n</i> -Hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarının metal bağlama aktivitesi (μ M Fe)	51
Çizelge 4. 7. Gruplara göre ratların plazma biyokimyasal parametre düzeyleri	52
Çizelge 4. 8. Gruplara göre ratların plazma oksidan-antioksidan parametre düzeyleri	53
Çizelge 4. 9. Gruplara göre rat KC dokusu oksidan- antioksidan parametre düzeyleri	53
Çizelge 4. 10. Gruplara göre ratların plazma sitokin parametre düzeyleri	54
Çizelge 4. 11. Gruplara göre ratların KC doku sitokin parametre düzeyleri	54
Çizelge 4. 12. Tüm grupların KC dokusuna ait histopatolojik skorlama değerleri	53

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. Küre enginarın (<i>Cynara scolymus</i> L.) görünüşü	27
Resim 2.2. Yabani enginarın (<i>Cynara cardunculus</i> L.) görünüşü	28
Resim 3.1. <i>Cynara scolymus</i> L. bitki yapraklarının oda sıcaklığında kurutulması işlemi	37
Resim 3.2. Rotavaporda ekstre solventinin buharlaştırılması işlemi	38



1. GİRİŞ

Kanser dünyada ve ülkemizde gittikçe büyüyen bir sağlık sorunu olup, kardiyovasküler hastalıklardan sonra en sık karşılaşılan ölüm nedenleri arasındadır (Jiang vd., 2017). Dünyada 2000’li yılların başında yılda 6 milyon kişi kanser hastalığı ile karşılaşmışken, yakalanma hızı bu şekilde devam ettiği takdirde 2030 yılına kadar yılda 24 milyon insanın kansere yakalanacağı varsayılmaktadır. Kanser çeşitleri arasında ise hem dünyada hem de ülkemizde en çok görülen kanser türü akciğer kanseridir. Dünya Sağlık Örgütü’nün (DSÖ) 2014 Dünya Kanser Raporuna göre ise 2012 yılında 8,2 milyon insan kanser nedeniyle hayatını kaybetmiş, 14 milyon yeni kanser vakası kayıt altına alınmıştır. (de Francisco vd., 2019).

Kanser, kontrolsüz hücre çoğalmasına bağlı olarak hücre kütesinin anormal artışı ve normal hücre ölümünün de gerçekleşmemesi sonucu bu dengenin kaybolmasıyla oluşan tümoral oluşumdur (Pérez-Herrero ve Fernández-Medarde, 2015). Kanser vakalarında cerrahi müdahale ve radyoterapi gibi tedavi seçeneklerinin yanısıra uygulanan kemoterapi ile de kontrolsüz çoğalan hücrelerin durdurulması ve diğer dokulara metastazın önlenmesi amaçlanmaktadır (Pérez-Herrero ve Fernández-Medarde, 2015; Torrano vd., 2016). Bu nedenle CP gibi kemoterapide kullanılan ilaçların 2003 yılında pazar payı % 3.8 iken 2010 yılında % 7.2’yi bulmuştur (Pınar, 2012).

Nitekim kemoterapötik ajanlar kanser hücrelerinin DNA’sı ile etkileşime giren ve apoptozis yolu ile hücre ölümünü uyaran sitotoksik ajanlardır (Famurewa vd., 2021). Bu ajanlardan biri olan siklofosfamid (CP), pek çok malignant ve otoimmün hastalıkların tedavi protokollerinde yer alan ve geniş spektrumlu klinik kullanımı bulunan sitotoksik alkilleyici bir ajandır (Chen vd., 2019; Gupta vd., 2021). Kemoterapide kullanılan CP gibi ajanların kanser hücrelerinin gösterdiği direnci kırabilmesi için yüksek dozda kullanımı önemlidir (Cavalletti vd., 1986). Ancak sitotoksik ajanların yüksek dozda kullanımı çoklu organ yetmezliği gibi istenmeyen yan etkilere neden olmaktadır. Nitekim CP’nin kalp, böbrek, testis ve idrar kesesi gibi organlarda toksisiteye neden olması ilacın klinik kullanımını kısıtlayan bir faktördür (Nagi vd., 2011). Bu ilacın istenmeyen yan etkilerinin çoğu karaciğerde hidrksillenerek akrolein ve fosforamid hardalı

metabolitlerine dönüşmesinden kaynaklanmaktadır (Kawabata vd., 1990; Fahmy vd., 2016).

Kimyasal ve biyolojik ajanlar ile fiziksel etmenler hücre yapısında farklı oranlarda değişiklik yaparak sitotoksositeye neden olabilir (Tokur ve Aksoy, 2017). Kimyasal ajanlar reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi, DNA ve/ya antioksidanların hatalı onarım mekanizmaları yoluyla oksidatif hasara ve dokularda fonksiyon bozukluklarına neden olurlar (Klaunig vd., 2010; Di Meo ve Venditti, 2020). ROS'un oluşturduğu oksidatif hasar kanserin başlangıç, gelişme ve ilerleme olan üç aşamalı sürecine istediği noktadan katılma ihtimaline sahiptir (Klaunig vd., 2011). ROS oksitleme özelliği ile reaktivite gösteren, oksijen içeren serbest radikallerdir (Kunwar ve Priyadarsini, 2011). Serbest radikaller protein, hücre duvarları ve DNA gibi makromoleküllerle etkileşime girerek oksidatif strese yol açmaktadır (Obok ve Ogunraku, 2010). Serbest radikallerin ekzojen kaynakları içinde bulunan ilaçlar arasında CP'de bulunmaktadır. CP'nin toksik etkisi de serbest radikaller üzerinden ortaya çıkmaktadır.

CP'nin iki aktif metabolitinden biri olan fosforamid hardalı (PAM) antineoplastik etki gösterirken akrolein metaboliti toksik yan etki gösterir (Kern ve Kehrer, 2002). Akrolein doku antioksidan savunma sisteminde değişiklikler yaratırken yüksek seviyede ROS üretir, bu sebeple memeliler için mutajenik özellik ve karsinojenik özellik gösterir (Senthilkumar vd., 2006b; Emadi vd., 2009). Serbest radikaller vücuttaki savunma sistemleri tarafından nötralize edilmediğinde veya aralarındaki denge serbest radikaller lehine bozulduğunda pekçok patolojik durum gerçekleşir. Bu dengeye Redox Homeostazisi de denir (Salekzamani vd., 2019). Oksidatif hasar ve doku disfonksiyonu da bunlardan birkaçıdır (Di Meo ve Venditti, 2020). Hipertansiyon, diyabet, kanser ve nörodejeneratif bozukluklar ve daha farklı hastalıkların patogenezinin nedeni olur (Rao vd., 2011).

İnsanlık tarihi boyunca hastalıkların ve yaralanmaların tedavisinde bitkilerden faydalanılmıştır (Tekel, 2020). Fitokimyasal bileşiklerin en önemli kaynakları arasında Asteraceae familyası bitkileri yer almaktadır (Anvari ve Jamei, 2018). Ülkemizin çeşitli yörelerinde yetişen Asteraceae familyasına ait bitkilerden biri olan enginarın fitokimyasal içeriğinde sinarin, klorojenik asit, dikaffeoilkinik asit, monokafeoilkinik asit, luteolin ve apigenin gibi temel bileşenler bulunmaktadır (Azzini vd., 2007; Şençöpur, 2021). Enginar

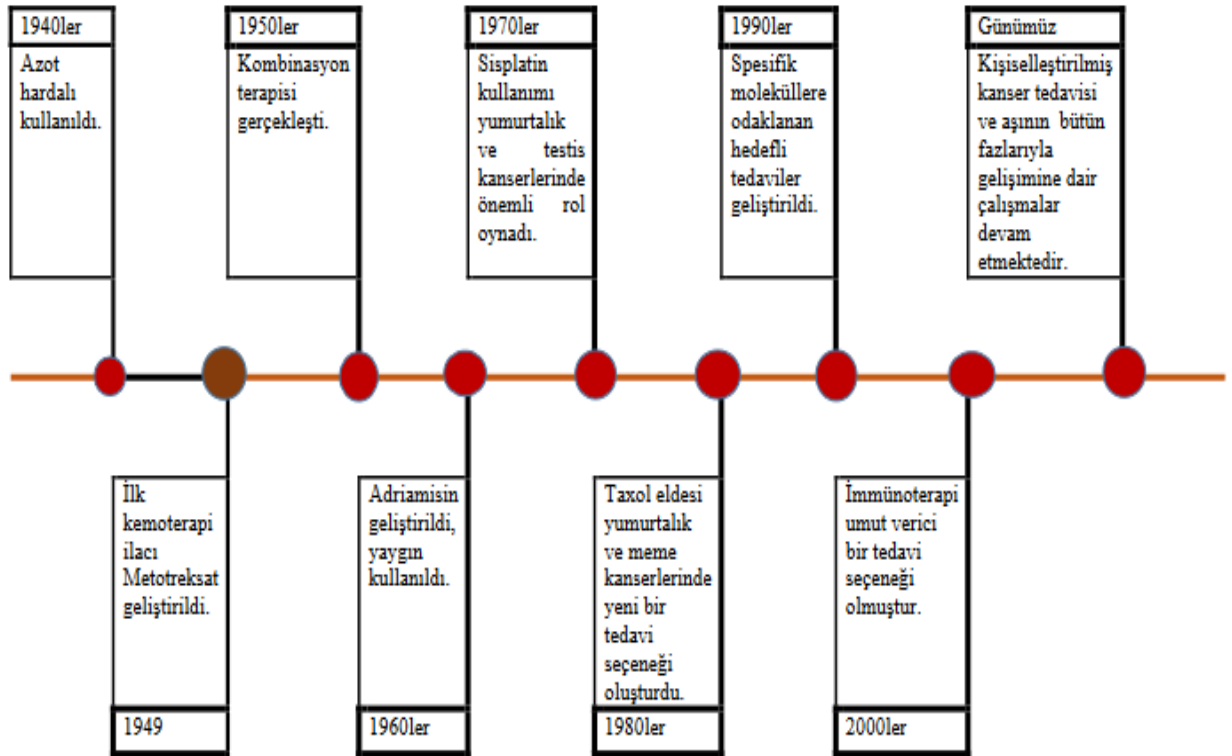
koleretik, hepatoprotektif, antikarsinojenik, antibakteriyel, antifungal, antimikrobiyal, kolesterol düşürücü ve idrar söktürücü olarak tıbbi özellikler gösterdiği için geleneksel tıpta tercih edilen bir bitkidir (Yildirim vd., 2020).



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemoterapi

Kemoterapi, kanser hücrelerini hedefleyerek bertaraf etmek veya en azından büyümelerini yavaşlatmak için tasarlanmış düşük molekül ağırlıklı ilaçlarının kullanılmasıdır (Nussbaumer vd., 2011). Kemoterapi ajanları, bu hücrelerdeki belirli yapıları veya metabolik yolları etkileyerek kanser hücreleriyle savaşıır (Weijl vd., 1997). Kemoterapi 1940'lı yıllarda azot hardalı ve antifolatların kullanımı ile başlamışken günümüzde ilaç geliştirme süreçleriyle birlikte milyarlarca dolarlık bir endüstriye dönüşmüştür (Chabner ve Roberts Jr, 2005) (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1: Kemoterapinin tarihçesi (Chabner ve Roberts Jr, 2005)

Kanser türlerinin sağaltımında kullanılan antineoplastik ilaçların etki mekanizmalarına ve ilaç etken madde türüne göre sınıflandırması Çizelge 2.1. ile açıklanabilir.

Çizelge 2. 1: Kemoterapi ilaçları ve sınıflandırması (Thurston ve Pysz, 2021)

Antineoplastik İlaç Grubu	Etki Mekanizması	Etki Mekanizması Alt Sınıfları	Etken Madde ve Ticari Adı
	Dihidrofolat Redüktaz (DHFR) İnhibitörleri		Metotreksat (MTX) Pralatreksat (Folotyn TM) Raltitrexed (Tomudex TM) Pemetrexed (Alimta TM) Nolatrexed (Thymitaq TM) Merkaptopürin (Puri-Nethol TM) Tioguanin (Lanvis TM) Fludorabin Fludara TM Cladribine (Leustat TM , Litak TM) Clofarabine (Evoltra TM) Nelarabine (Atriance TM) 5-Fluorourasil (5-FU TM) Tegafur (Uftoral TM) Gemcitabine (Gemzar TM)
	Timidilat Sentaz İnhibitörleri		
	Pürin Antimetabolitleri		
	Pirimidin Antimetabolitleri		

Çizelge 2.1. Kemoterapi ilaçları ve sınıflandırması (Devamı)

		Capecitabine (Xeloda TM) Cytarabine, (Cytosar TM ve Alexan TM) Azacitidine (Vidaza TM) Decitabine (Dacogen TM) Trifluridin&Tipiacil (Lonsurf TM)
	Adenozin Deaminaz İnhibitörleri	Pentostatin (Nipent TM)
	Ribonükleotid Redüktaz İnhibitörleri	Hidroksikarbamid (Hydrea TM) Triapin Tezasitabin Vinblastin (Velbe TM) Vinkristin (Oncovin TM) Vindesin (Eldisin TM) Vinorelbin (Navelbine TM) Vinflunin (Javlor TM) Eribulin mesilat (Halaven TM)
Antitübilin Ajanları	Vinka Alkoloitleri	
	Halikondrin β Analoğu	

Çizelge 2.1. Kemoterapi ilaçları ve sınıflandırması **(Devamı)**

Terapötik Ajanlar Olarak Nükleik Asitler	Taksanlar	Paklitaksel (Taxol™ , Abraxane™) Dosetaksel (Taxotere™, Docecad™) Karbazitaksel (Jevtana™) Larotaksel TPI 287 MAC-321 Iksabepilon (Ixempra™)
	Epotilonlar	
	Alkilleyici Ajanlar	Metilleme Ajanları Dakarbazin (DTIC-Dome™) Temozolomid Prokarbazin CP Alkilleme Ajanları Trabektedin (Yondelis™) Azot Hardalları (Alifatik, Aromatik, Konjuge Azot Hardalları)
	Cross-Linking Ajanları	Aziridinler
		Tiyotepa (Tepadina™)

Çizelge 2.1. Kemoterapi ilaçları ve sınıflandırması (Devamı)

		Benzokinon
		Analogları
	Epoksitler	Treosülfan (Ovastat™)
	Metansülfonatlar	(Myrelan™ Busilvex™)
		Lomustin (CCNU)
	Nitrozoüreler	Karmustin (BiCNU™)
		Streptozotosin (Zanosar™)
	Platin	Sisplatin
	Kompleksleri	Karboplatin Oksaliplatin
	Karbinolaminler	
	Siklopropanlar	
	Mitomisin-C	
		Doksorubisin
		Daunorubisin
	Antrasiklinler	Aklarubisin Epirubisin İdarubisin Pirarubisin
Interkalasyon		Mitoksantron
Ajanları	Antrasenler	(Onkotrone™, Novantrone™)
		Piksantrone (Pixuvri™)
	Fenoksazinler	Dactinomisin (Cosmegen Lyovac™)

Çizelge 2.1. Kemoterapi ilaçları ve sınıflandırması (**Devamı**)

Topoizomeraz İnhibitörleri	Topoizomeraz I İnhibitörleri	Topotekan (Hycamtin TM) İrinotekan Etopozid
	Topoizomeraz II İnhibitörleri	Tenipozid Amsakrin Elliptisin
	Bleomisin	
DNA-Parçalayıcı Ajanlar	Enediyne	Neokarzinostatin Kalikeamisin Esperamisin Dinemisin A

Değişik kategorilerdeki kemoterapi ajanlarının *in vivo* ortamlarda serbest radikal oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu artırdığı yönünde çalışmalar vardır (Sangeetha vd., 1990; Weijl vd., 1997; Crohns vd., 2009).

Kanser tedavisi sırasında başvurulana CP, metabolitleri akrolein ve fosforamid hardalı sebebiyle vücutta antioksidan enzimlerin, SOD (Süperoksit dismutaz), CAT (Katalaz), Glutasyon peroksidaz (GPx), Glutasyon Redüktaz (GR), Glutasyon-S-Transferaz (GST) aktivasyonunu azaltan ajanlardandır (Bhattacharya, 2015). CP'nin akciğerde metabolizması sonucu oluşan alkilleyici metabolitler ve bir reaktif aldehit olan akrolein, ilacın yan etkisi olarak pulmoner toksisiteye neden olabilir (Patel, 1990).

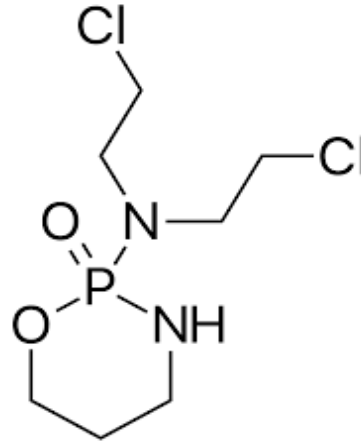
2.2. Alkilleyici Ajanlar

Alkilleyici ajanlar, çeşitli kanser türlerinde DNA'ya kanser hücrelerinin bölünmesini ve büyümesini durduran bir alkil grubu ekleyerek tedavi etmek için kullanılan kemoterapi ilaçları sınıfıdır (Fu vd., 2012). Azotlu hardallar, nitrozürelere ve alkil sülfonatlar olmak üzere birkaç alkilleyici bileşik vardır (Shah vd., 2016). CP gibi azotlu hardallar, lenfoma, lösemi ve meme kanseri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde (Santos vd., 1983; Matar vd., 2002; Ge vd., 2012); karmustin gibi nitrozürelere, beyin tümörleri ve lenfomayı, busulfan gibi alkil sülfonatlar, kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılır (Honeycombe, 1981;

Zackheim vd., 1990; Belanich vd., 1996). Tüm kemoterapi ilaçları gibi, alkilleyici ajanlar da çeşitli yan etkilere neden olabilir. En yaygın yan etkilerden bazıları mide bulantısı, kusma, saç dökülmesi ve yorgunluktur (Diggavi ve Parveen, 2021). Alkilleyici ajanlar ayrıca kemik iliğine zarar verebilir ve bu da vücuttaki kırmızı kan hücrelerinin, beyaz kan hücrelerinin ve trombositlerin sayısında azalmaya yol açabilir (Shulman, 1993). Bu anemi, enfeksiyonlara ve kanamaya neden olabilir.

2.3. Siklofosfamid (CP)

CP hücrenin DNA'sına bir alkil grup (C_nH_{2n+1}) bağlayarak etki gösteren alkilleyici ajanların azotlu hardal grubuna ait sentezlenmiş bir antikanser ilacıdır (Khorwal vd., 2017). CP'ye ait kimyasal yapı Şekil 2.2'de, bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ise Çizelge 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2. 2: CP'nin kimyasal yapısı

Kemik iliği veya kordon kanı naklinde en çok tercih edilen ilaçtır (Emadi vd., 2009). Klinik olarak hepatotoksisite, kardiyotoksisite, nefrotoksisite, ürotoksisite ve testis toksisitesi gibi olumsuzluklara yol açması sebebiyle kısıtlı uygulanmaktadır (Elangovan vd., 2006; Kim vd., 2015; Mansour ve Hasan, 2015; Sherif, 2018; Ayza vd., 2020; Cengiz vd., 2020; Komolafe vd., 2020; Patwa vd., 2020; Abd El-Ghafar vd., 2021; Hassanein vd., 2021; Kamel vd., 2022; Salama vd., 2022). Gelişen bu tekil ya da çoklu organ toksisitelerinin yanısıra immünosupresyon, mutajenite ve/veya genotoksisite ile sınırlayan bir kullanım göstermektedir (Hales, 1982; Chamorro-Cevallos vd., 2008; de Oliveira vd., 2020; Berköz vd., 2021). Bu nedenle CP'nin güçlü antioksidanlarla, ilaç etken maddeleriyle, geleneksel veya geleneksel olmayan bitkilerle birlikte hastaya verilmesinin bu toksik etkileri azaltmada yardımcı olacağına dair pek çok çalışma

mevcuttur (Oliveira vd., 2014; Kim vd., 2015; Mansour ve Hasan, 2015; Nair vd., 2016; de Oliveira vd., 2020; Komolafe vd., 2020; Patwa vd., 2020; Refaie vd., 2020; Berköz vd., 2021; Kamel vd., 2022; Salama vd., 2022). Aynı amaçla bazı biyolojik ajanların da CP'nin terapötik indeksini artırmak için kullanılabileceğine dair çalışmalar vardır (Ray vd., 1985; Ayhanci vd., 2009; Conklin vd., 2015).

Çizelge 2. 2: CP'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri (İnt. Kay. 2)

Molekül Formülü	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P
IUPAC Adı	N,N-bis(2-kloroetil)-2-okzo-1,3,2λ5-oksazafosfinan-2-amin
Molekül Ağırlığı	261,08 g/mol
Görünüş	Beyaz kristal toz
Tat/koku	Hafif acı bir tada sahip, kokusuz
Erime Noktası	41-45°C
Kaynama Noktası	336 °C
Yoğunluk	1,48 g/cm ³
pH	4-6 (%2'lik çözelti)
Suda çözünürlüğü	40 g/L
Çözünürlük	Tam: Kloroform, dioksan ve glikoller Yarı: karbon tetraklorür (CCl ₄), Benzene Az: Eter, Aseton
Stabilite	30°C üzerinde hidrolize olur, Cl atomları ayrılır. Oksidasyona, neme ve ışığa duyarlıdır. Oda ısısında muhafaza edilmişse 24 s içinde, buzdolabında muhafaza edilmişse 6 gün içinde kullanılmalıdır.

2.3.1. Farmakolojik Özellikleri

Emilim: Wagner ve Fenneberg (1984)'e göre CP'nin %80'inden fazlası karaciğer (KC) dokusunda metabolize edilirken gastrointestinal kanaldan tam olarak absorbe edilir (Lavigne vd., 1975). Uygulamadan sonraki ilk günlerde CP'nin yarılanma ömrü 5 saat iken önceden ilaca maruz kalmamış iv uygulama yapılan hastaların plazmasında CP'nin

yarılanma ömrünün 6,5 saat olduğu belirlenmiştir (Bagley vd., 1973; Busse vd., 1997). Oral doz ile 3,93 saat olan yarılanma ömrü oral dozdan 2-3 kat fazla olarak i.v. uygulandığında 7.98 saate çıkmaktadır. Dolayısıyla ilacın oral veya intravenöz uygulanmasına göre değişen 3-12 saatlik yarı ömrü vardır (Wagner ve Fenneberg, 1984).

Dağılım: İntravenöz yolla verildiğinde aktif metabolitlerin plazma konsantrasyon pikine ulaşması 2–3 saat sürer (Int. Kay. 3). Ana madde CP'nin plazma proteinlerine bağlanma oranı zayıf olmasına rağmen aktif metabolitleri önemli oranda plazma proteinlerine bağlanır (Bagley vd., 1973). Dağılımı yaygın olduğu için kan–beyin bariyeri ve plasenta ve karın boşluğu sıvıları içine geçer (Edwards vd., 1983; Pacifici ve Nottoli, 1995; Fortin vd., 1999; Kummar vd., 2015; Rezaei vd., 2017).

Biyotransformasyon: KC sitokrom P450 enzimleri ile metabolize olarak sitotoksik metabolitlerine dönüşür (Roy ve Waxman, 2006).

Eliminasyon: CP dozunun %20'sinden azı ise idrar yoluyla değişmeden atılır. (Bagley vd., 1973; Fleming, 1997). CP'nin vücuttaki ana fraksiyonu hepatik metabolizmaya uğrar, ancak küçük bir kısmı idrarda değişmemiş CP'nin renal atılımı yoluyla elimine edilir. Üriner atılım CP dozunun yaklaşık %13'ünü oluşturur (Hedmer vd., 2008).

2.3.2. CP Metabolizması ve Yan Etkileri

CP'nin maksimum mutajenik ve teratojenik etki göstermesi için aktivasyonu gerekir (Hales, 1982). İnsan KC mikrozomlarında CP katalizasyonu üzerine yapılan çalışmalar sitokrom P450 enzimlerinin etkili olduğunu göstermektedir. CP sitokrom P450 enzim ailesinin üyeleri olan CYP3A4, CYP2B6 ve CYP2C9 enzimleri tarafından faz I metabolizmasına ve ardından esas olarak glutatyon S-transferazlar aracılığıyla konjugasyon yoluyla faz II inaktivasyonuna maruz kalması gerekir (Zhang vd., 2006; Calatroni vd., 2015). 4-hidroksilasyon yoluyla önce 4-hidroksi metabolitine yani 4-hidroksisiklofosamid, (4-OH-CP) metabolize edilir. Metabolit kana karışıp, eritrositler tarafından tümörlü hücrelere taşınır. Bu bileşik tautomeri olan aldofosamid (ALDO) ile ALDO'nun eliminasyon yoluyla sitotoksik fosforamid hardalı ve yan ürün akrolein oluşturmak üzere dengededir (Fleming, 1997; Zhang vd., 2006; Abraham ve Sugumar, 2008) (Şekil 2.3). KC'de oluşan akrolein ve PAM olarak adlandırılan sitotoksik

Siklofosamid $\xrightarrow{\text{P450 2B6, 3A4}}$ Dikloroetilsiklofosamid + Kloroasetaldehit

Dikloroetilsiklofosamid $\xrightarrow{\text{P450 2B6, 3A4}}$ Aldofosamid

Dikloroetilsiklofosamid $\xrightarrow{\text{GST1}}$ 4-hidroksisiklofosamid

4-hidroksisiklofosamid $\xrightarrow{\text{ALDH1A1}}$ Karboksifosamid

4-hidroksisiklofosamid $\rightarrow$ 4-ketosiklofosamid

Aldofosamid $\rightarrow$ Fosfamid hardalı + Akrolein

Karboksifosamid $\rightarrow$ Fosfamid hardalı + Akrolein

Karboksifosamid $\rightarrow$ 4-ketosiklofosamid

KC’de hidroksilleme sonucu oluşan akroleinin böbrekten atılmasıyla yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Hemorajik sistit, CP’nin en önemli potansiyel toksisitesi ve doz sınırlandıran yan etkisidir (Yılmaz ve Kaya, 2018). Akrolein GSH (indirgenmiş glutatyon) ile konjugasyon yoluyla detoksifiye edilir. Elde edilen fosforamid hardalı DNA molekülleri arasında DNA replikasyonunu engelleyebilen ve nihayetinde apoptoz yoluyla hücre ölümüne yol açabilen çapraz bağların oluşumuna neden olabilir (Zhang vd., 2006).

13

tersinir bir dehidrasyon ile dönüştüğü de bilinmektedir. İminosiklofosfamid çoklu ilaç dirençi ile ilişkili protein 2 için bir substrattır (Zhang vd., 2006).

Ek olarak CP CYP3A4/3A5 enzimi tarafından yan ürün kloroasetaldehit (CAA) ve 3-dekloroetilfosfamide (3-dekloroetil-IFO) dönüşecek bir reaksiyon verebilir. Bu reaksiyon CP'nin inaktivasyon yoludur ve sadece %10 kadarı bir yan zincir oksidasyonu olan bu yolla metabolize olur (Zhang vd., 2006; El-Serafi vd., 2015). Akrolein hemorajik sistit oluştururken, CAA nefrotoksisite ve nörotoksisiteye neden olur (Zhang vd., 2006).

Lipid peroksidasyonu sonucu α - β doymamış akrolein gibi ve malondialdehit (MDA) ve hidroksinonenal (HNE) gibi reaktif aldehytler ortaya çıkar (Horton vd., 1997; Pocernich vd., 2001). Akrolein de DNA'yı alkilleyici bir ajandır (Colvin ve Quong, 2002). Sigara dumanı dahil her tür dumanda, egzozda, aşırı ısınmış yemeklik yağ buharında bulunurken, kirli havada fotokimyasal reaksiyon ürünü olarak oluşur (Beauchamp vd., 1985; Kehrer ve Biswal, 2000). Akrolein, hücrel GSH ile metabolize edilir ve bu mekanizma sonucunda GSH tükenirken hücrel oksidatif stres artışı meydana gelmiş olur (Horton vd., 1997). Akroleinin düşük dozlarda uygulanması hücre ölümü olmaksızın hücre çoğalmasını önlerken yüksek dozlarda uygulanması tümör oluşumuna neden olur (Kehrer ve Biswal, 2000).

Kanser ve otoimmün hastalıkları tedavi etmek için 40 yılı aşkın bir süredir kullanılan alkilleyici bir madde olan CP, antimitotik ve antireplikatif etkilerine ek olarak, immünosupresif ve immünomodülatör özelliklere sahiptir (Ahlmann ve Hempel, 2016). CP'e Hodgkin-dışı lenfomalar, akut ve kronik lenfositik lösemi, küçük hücreli akciğer kanseri, Hodgkin hastalığı, pediatrik solid tümörler, meme, over, testis, endometriyum, serviks, baş-boyun kanserleri, yumuşak doku sarkomları, multiple myeloma ve koriokarsinoma gibi hastalıkların tedavisinde başvurulmaktadır (Kayaalp, 2012; Mansour ve Hasan, 2015). CP'nin KC'de metabolize olması nedeniyle oral veya intravenöz uygulamalar tercih edilir (Khan vd., 2014).

Önerilen oral CP dozu, hastanın durumuna ve tedavi edilen kanser türüne bağlı olarak değişir. Genel olarak CP'nin insanlar için günlük oral terapötik dozu bir veya bölünmüş dozlar halinde alınan 1-5 mg/kg vücut ağırlığıdır. iv yolla ise başlangıç dozu 40-50 mg/kg (2-5 günde) idame doz olarak ise 10-15 mg/kg verilir (Kayaalp, 2012).

CP'nin dozajı ve dolayısıyla toksisite profili büyük ölçüde klinik endikasyona bağlı olarak değişir. Düşük doz oral olarak günlük 1-3 mg/kg (40-120 mg/ m²), ara veya nabız dozu 3-4 haftada bir iv 15-40 mg/kg (600-1500 mg/ m²) genellikle intravenöz olarak; yüksek doz ise >120 mg/kg (>5000 mg/ m²) en yaygın olarak kemik iliği nakline hazırlık aşamasında 2-4 gün boyunca uygulanır. Düşük ile orta dozlar daha az akut toksik etkiye sahip olma eğilimindeyken; uzun süreli (>6 ay) kullanım ciddi kronik toksisiteye neden olabilir. Tersine yüksek dozlarda CP daha akut toksik etkilerle ilişkilidir, ancak kronik toksik etki riskini azalttığı görülmektedir (Emadi vd., 2009).

Doz şemaları preparatın tedarik edildiği ilaç prospektüslerinde genellikle; klasik dozlama için günde tek bir iv doz ya da bölünmüş oral dozlar halinde 80-300 mg/m²; haftada tek bir iv doz halinde 300-600 mg/m²; yüksek dozlama için 10-20 gün aralarla tek bir iv doz ya da bölünmüş oral dozlar halinde 600-1500 mg/m² şeklinde verilmektedir.

Fırsatçı enfeksiyonlarla kemik iliği toksisitesi, hemarajik sistit, geçici kısırlık, mide bulantısı, kusma ve saç dökülmesi sıklıkla görülürken pnömoni, KC ve kardiyak toksisite nadirdir. Vaskulit, proliferatif lupus nefriti veya diğer böbrek hastalıklarının tedavisi için kullanılan hastalarda düşük doz nedeniyle düşük insidans ve şiddette karşılaştırılabilir bir yan etki spektrumu oluşur. Bu hasta gruplarındaki temel endişe, hastaların yaşı arttıkça insidansı önemli ölçüde artıran ciddi enfeksiyon ortaya çıkmasıdır. Enfeksiyon spektrumu sadece pnömoni, endokardit gibi bakteriyel enfeksiyonlar dâhil olmak üzere mantar ve viral enfeksiyonları da içerir (Haubitz, 2007).

Organa özgü toksisiteler ve ikincil tümörler normal dozlarda oldukça nadirdir. Dozlar yüksek seviyelere çekildikçe birçok durumda doz sınırlayıcı ve yaşamı tehdit eden toksisiteler ortaya çıkar. Kemik iliği depresyonu, mide bulantısı ve kusma, alopesi yaygın komplikasyonlar ve toksisiteler iken CP böbrekten atılımı sırasında ürotelyomla teması sonucu üriner sistem ve renal toksisite, kardiyotoksisite, pulmoner toksisite, sekonder malign gelişimi, veno-oklüzif KC hastalığı (KC toplardamarının tıkanması) ve genotoksisite de görülebilmektedir (Ogino ve Tadi, 2020). Klinik olarak hemorajik sistit, immunosupresyon ve alopesi CP ile ilişkili en önemli toksisitelerdir. Çok yüksek dozlar verildiğinde kardiyotoksisite de bir olasılıktır (Fraisier vd., 1991).

Albino ratların toksikasyonu için yapılan çalışmada CP'nin KC'de yağ infiltrasyonu ve merkezi damar tıkanıklığı gibi histopatolojik değişiklikleri indüklediği belirlenmiştir. Bu değişiklikler daha uzun süreler için verilen düşük dozlarda (0,5 mg/100 g albino sıçan ağırlığı)'dır. Daha yüksek dozlarda (0,7 mg/100 g albino sıçan ağırlığı) daha erken ortaya çıkar (Khan vd., 2014).

CP mesane duvarındaki kanama ile endike hemarojik sistite neden olur. Görülme sıklığı hayvanda doza bağlı iken insanda %78 iken %4 ölüm ile sonuçlanmaktadır (Lawrence vd., 1975; Grinberg-Funes vd., 1990). Klinik olarak hematüri, disüri, idrar yanması, pollaküri, inkontinans ve noktüri gibi belirtiler gösterir (Fraiser vd., 1991).

CP'nin metaboliti akroleine idrar yolunun uzun süreli maruz kalması durumunda toksisiteye en duyarlı doku mesanedir. Buna rağmen akroleini inaktive eden sodyum-2-merkaptoethan sülfonat (MESNA) kullanılmayan nefroloji hastalarında hemorajik sistit nispeten nadir görülür. Bununla birlikte CP kaynaklı sistit ile mesane kanseri gelişimi arasında bir ilişki tanımlanmamış ve bugüne kadar olduğunu gösteren hiçbir veri yoktur. Mesane karsinomu riski MESNA kullanımıyla azaltılabilir (Haubitz, 2007).

CP kaynaklı pulmoner toksisite hemarojik sistitten daha az görülür ve tedavi edilen hastaların %1'ini kapsar (Cooper Jr vd., 1986a). Doz sınırlayıcı etkisi vardır ve bazen yaşamı tehdit eder. Intersitisyel pnömoni ve pulmoner fibroz en yaygın CP kaynaklı akciğer hastalıklarıdır. Dispne, öksürük, ateş, kardiyojenik olmayan pulmoner ödem ve anormal akciğer sesleri en belirgin klinik belirtileridir (Cooper Jr vd., 1986b).

CP metabolizması sonucunda açığa çıkan akrolein akut kardiyotoksisiteye sebep olur (Komolafe vd., 2020). CP kaynaklı kardiyak toksisite yüksek dozlara bağlı olarak ortaya çıkar. Klinik olarak serofibrinöz perikardit, akut konjestif kalp yetmezliği, anormal EKG, sık nefes alma ile belirtiler verir (Mazzotta vd., 2004).

Kronik toksisitede CP'nin malignite insidansını artırdığını göstermiştir. Örneğin mesane, hematopoetik sistem ve cilt malignitelerde toplam CP dozu ve takip süresine bağlı olarak 1,6 ile 2,4 kat arası bir artış vardır. Cilt için kanser riski 10,4 kat, lenfoma için 11 kat, lösemi için 5,7 kat artmıştır (Haubitz, 2007).

Uzun süreli CP tedavisinden sonra azospermi ve yumurtalık yetmezliği bildirilmiştir. CP diğer ajanlarla beraber kullanıldığında (Vinkristin ve prednizon) geri dönüşümlü azospermi olarak raporlanmıştır (Fraiser vd., 1991). Çalışmalar kemirgenlerde ilkel ve antral folikülleri için oldukça toksik olduğunu gösterir (Plowchalk ve Mattison, 1991). Azospermi geri dönüşümlü olabilir ama iyileşme yavaştır. Düzensiz adet görme ve amenore çoğu hastada kalıcıdır (Fraiser vd., 1991).

Kadınlarda CP'nin neden olduğu düzensiz başlangıçlar veya seyrek periyotlar, amenoreye ilerleyen süreç, yüksek gonadotropin seviyesi ve düşük östradiol seviyesi ile kalıcı kısırılık gibi yumurtalık toksisitesi bildirilmiştir (Haubitz, 2007).

CP en iyi bilinen embriyo toksinidir (Chaube, 1967). Birkaç çalışma teratojenik etkisini çürütüyor olsa da CP'nin alkilleyici ajan olması sebebiyle hamilelik sırasında kullanımı kesinlikle önerilmemektedir (Fraiser vd., 1991).

2.4. Sitokinler

Sitokinler, çeşitli bağışıklık hücreleri tarafından salgılanan ve bağışıklık sisteminin iletişimde ve koordinasyonunda çok önemli bir rol oynayan küçük proteinlerdir (Arango Duque ve Descoteaux, 2014). Bu sinyal molekülleri, enflamasyonun düzenlenmesinde, bağışıklık hücrelerinin farklılaşması ve çoğalmasında ve enfeksiyonlara ve hastalıklara karşı bağışıklık tepkisinde rol oynar (Waldmann ve Tagaya, 1999; Wagner ve Eferl, 2005).

Her biri bağışıklık sistemi üzerinde belirli işlevlere ve etkilere sahip çeşitli sitokin türleri vardır. En iyi bilinen sitokinlerden bazıları IL'ler (interlökinler), INF'lar (interferonlar) ve TNF'ünü (tümör nekroz faktörü) içerir (Ramadori ve Armbrust, 2001).

İnterlökinler T ve B hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşması dahil olmak üzere bağışıklık hücreleri arasındaki iletişimde yer alır (Linsley vd., 1991). INF'lar viral enfeksiyonlara yanıt olarak üretilir ve virüslere karşı bağışıklık yanıtının aktivasyonunda rol oynar (Koyama vd., 2008). Tümör nekroz faktörü, enflamasyonun düzenlenmesinde ve kanser hücrelerinin yok edilmesinde rol oynar (Balkwill, 2002).

Ek olarak, sitokinler, enflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde rol oynar (O'Shea ve Murray, 2008). Bağışıklık yanıtının türüne ve bağlamına bağlı olarak iltihabı teşvik edebilir ve baskılayabilirler (Yoshimura, 2006). IL-1 ve TNF gibi enflamatuvar sitokinler, enfeksiyonlara veya doku hasarına yanıt olarak üretilir ve ateş, ağrı ve şişmeye neden olabilir (Lenz vd., 2007; Contassot vd., 2012). IL-10 gibi anti-enflamatuvar sitokinler, aşırı iltihaplanmaya karşı koymak ve doku onarımını desteklemek için üretilir (Miller vd., 2002).

CP'nin farklı mekanizmalarla sitokinlerin üretimini ve salınımını etkilediği gösterilmiştir (Salem vd., 2007). Birincisi, bu ilaç sitokin üretenler de dahil olmak üzere bağışıklık hücrelerinin sayısını doğrudan öldürerek veya çoğalmalarını engelleyerek azaltabilir (Geller ve Miller, 2011). İkinci olarak, CP üretilen sitokinlerin dengesinde daha anti-enflamatuvar bir profile doğru bir kaymayı indükleyebilir. Örneğin, bir anti-enflamatuvar sitokin olan IL-10 üretimini artırabilir ve IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltabilir (El-Akhras vd., 2023). Son olarak, CP sitokinlerin üretimini baskılayabilen düzenleyici T hücrelerinin işlevini modüle ederek bağışıklık tepkisini etkileyebilir (Bazewicz vd., 2019).

CP kaynaklı oluşturulan hepatotoksositeye karşı ganoderik asitin koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada fare serumunda IL-1 IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin seviyelerinin incelenen birkaç KC enzimleri ile beraber arttığı, KC'in histolojik yapısında önemli değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir (Lixin vd., 2019).

CP ile indüklenen toksisiteye karşı deve sütünün albino ratlar üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada IL-6 ve TNF- α ekspresyonunun önemli artışa neden olurken deve sütü ile tedavi sonrası sitokin değerlerinin normalleştiği gösterilmiştir (İbrahim vd., 2019).

2.5. Karaciğer Fonksiyon Belirteçleri

Karaciğer, vücuttaki endojen ve ekzojen maddelerin detoksifikasyonu ve transformasyonu ile biyomoleküllerin sentezi, salgılanması ve depolaması gibi metabolizmanın düzenlenmesinde görevli hayati organlardan biridir. (Ozougwu, 2017). Bu nedenle birbirinden bağımsız olarak pek çok biyokimyasal işlevi yerine getiren

karaciğerin fonksiyonlarını değerlendirmede farklı testlerden faydaniılmaktadır. Karaciğer fonksiyon belirteçleri, karaciğerin normal işlevini, kapasitesini ve sağlığını değerlendirmek için kullanılan bir grup kan testidir (Ahmed vd., 2018). Karaciğerin detoksifikasyon kapasitesini, biyosentez fonksiyonunu, hücre harabiyetini, safra ve bunun akışı ile ilgili anormallikleri belirlemede faydalı olan bu testler sadece karaciğere spesifik olmadığından klinik bulgular ve görüntüleme testleri ile birlikte değerlendirilmelidir.

Alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), alkalın fosfataz (ALP), gama-glutamil transferaz (GGT), keratin kinaz (CK) ve bilirubin testleri KC fonksiyon testleri arasında yer alır (Lippi vd., 2011).

AST en fazla kalp kası, karaciğer ve iskelet kasında bulunurken ALT ise başlıca karaciğer olmak üzere böbrek, iskelet ve kalp kasında bulunur. ALT sadece hücre sitoplazmasında bulunurken, AST 'nin ise %20'si sitoplazma ve %80'i mitokondri içinde yer alır. Hücre içindeki bu enzimler iskemi ve toksikasyon gibi durumlarda karaciğer hücre harabiyetine bağılı olarak kan dolaşımına salınan enzimlerdir (Nagel vd., 1990).

ALP karaciğer ve safra kanalı epitelleri ile kemik, böbrek, plasenta ve barsak epitellerinde bulunurken plazmadaki aktivitesi karaciğer ve kemik dokudan kaynaklanmaktadır. GGT karaciğer, böbrek, dalak, kalp, beyin ve barsak gibi pekçok dokuda bulunur ve plazmadaki aktivitesinin artışı genel olarak hepatobiliyer hastalıklardan dolaydır (Roderick, 2004).

Bilirubin, başlıca biyolojik ömrünü tamamlamış olan eritrositler ile bir kısım miyoglobın, sitokrom ve olgunlaşmamış eritrositlerin retiküloendoteliyal sistem hücrelerinde yıkımlanması ile oluşur (Casey, 2013).

CP- kaynaklı KC toksisitesine karşı *Origanum vulgare* L. bitkisinin koruyucu etkinliğinin araştırılmasına ilişkin bir çalışmada CP uygulaması sonrası serum ALT, AST ve ALP değerlerinin artış gösterdiği, *O. vulgare* tedavisi ile serum ALT, AST ve ALP değerlerinin önemli ölçüde düştüğü bildirilmiştir (Habibi vd., 2015).

CP ile rat karaciğerinde oluşturulan toksisite için birkaç KC fonksiyon enzimleri incelenmiş, CP grubundaki değerlerde ALT, AST ve ALP seviyelerinin arttığı, borik asit + CP grubunda ise bu enzimlerin düşüş gösterdiği gözlenmiştir (Cengiz vd., 2019)

2.5.1. CP'nin Akut Toksikasyonu ve Yaygın Komplikasyonları

CP çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için kullanılırken vücutta çeşitli toksik etkilere neden olabilir. CP'nin akut toksikasyonunda en yaygın klinik belirtilerinden biri mide bulantısı ve kusmadır (Solomon vd., 1963). Bu belirti ilacın gastrointestinal sistem üzerindeki tahriş edici etkisinden kaynaklanır (Fraiser vd., 1991).

CP'nin akut toksikasyonunda diğer bir yaygın klinik belirti hemorajik sistittir (Fraiser vd., 1991). Bu mesanenin iltihaplanması ve kanaması ile karakterize bir durumdur. Hasta idrar aciliyeti, sıklığı ve ağrı gibi semptomlar yaşayabilir (Stillwell ve Benson Jr, 1988). Şiddetli vakalarda idrarda kan pıhtıları görülebilir (Liang vd., 2017).

CP ayrıca kemik iliği baskılanmasına neden olarak kan hücrelerinin üretiminde azalmaya yol açabilir (Han vd., 2019). Bu anemi, trombositopeni ve lökopeni ile sonuçlanabilir (Giang vd., 1996; Burgess vd., 2000). Hastalarda yorgunluk ve enfeksiyonlara karşı artan duyarlılık gibi semptomlar yaşanabilir (Kaneko vd., 1999; Petri, 2004).

CP etkili bir kemoterapi ilacı olmakla birlikte organa özgü toksikasyona neden olabilmektedir. Ürotoksisite, pulmoner toksisite, kardiyak toksisite başta olmak üzere pek çok organa özgü toksisite oluşturulmuş, oluşturulan bu toksisitelere karşı koruyucu etkisini araştıran çalışma mevcuttur.

Patwa vd. (2020), Sprague-Dawley sıçanlarına 10 gün süresince (30 mg/kg/gün) dozda *i.p.* (intraperitoneal) yolla CP uygulayarak yaptıkları çalışmada CP kaynaklı hepatotoksisite oluşturulmuş ve Nikotinamidin oluşturulan hepatotoksisiteye karşı antioksidan sistemini iyileştirmek suretiyle DNA hasarını azaltıcı ve böylece hepatik hasarı iyileştirdiği saptanmıştır.

Kim vd. (2015), Sprague-Dawley sıçanlarında CP nedenli ürotoksisiteye dialil disülfid (DADS) ile ön tedavi uygulanmış ve oksidatif stresi azaltarak mesane toksisitesinde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Ray vd. (1985), yüksek dozda CP ile ilişkilendirilen akut CP toksisitesine karşı *Staphylococcus aureus*'dan saflaştırılan protein A'nın Sprague-Dawley sıçanlarda oluşturulan tümörlerde belirgin bir azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir.

Abd-El-Ghafar vd. (2021), Wistar sıçanlarda CP maruziyeti sonucunda oluşan akut akciğer hasarına karşı asetovanillon oral yolla verilerek koruyucu etkisini araştırmış ve asetovanillonun oksidatif stresi azaltmak suretiyle koruyucu etkisini saptamışlardır.

Komolafe vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada Wistar sıçanlar *i.p.* yolla CP'e maruz bırakılmıştır. Oluşan akut kardiyotoksositeye karşı zerdaçalın etanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrakt Wistar sıçanlara oral yolla verilmiştir. Ekstrenin kardiyak hasarı iyileştirici etkisi gözlenmiştir.

De Oliveira vd. (2020) tarafından Swiss Albino farelerde CP kaynaklı genotoksosite oluşturulmuş ve *Pilosocereus gounellei* (kaktüs) sapının salin ekstraktının bu toksisiteye karşı verdiği cevap araştırılmış ve DNA hasarına karşı koruyucu etkisi bulunmuştur.

Refaie vd. (2020) tarafından Wistar Albino sıçanlara CP'nin *i.p.* enjeksiyonu ile gelişen kardiyotoksitede oral verilen nikorandilin koruyucu etkisine bakılması amaçlanmış ve nikorandilin kardiyak hasar parametrelerini değiştirerek koruyucu özellik gösterdiği görülmüştür.

Salama vd. (2022)'nin çalışmasında Wistar sıçanlarda CP kaynaklı nefrotoksositeye karşı alogliptinin böbrek dokusundaki hasarı azaltarak iyileştirme gösterdiği belirlenmiştir.

Berköz vd. (2021) çalışmasında mirisetin, apigenin ve hesperidin gibi antioksidanların Wistar Albino sıçanlarda CP ile akut toksisite amacıyla oluşturulan immunosupresyonda bağışıklığı desteklemeye yönelik etkileri araştırmış ve bu antioksidanların kanserli hücre hasarını azalttığı ve immunomodulator ajanlar olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Kamel vd. (2022), Wistar Albino sıçanlarda CP nedenli akut kardiyak toksisite oluşturmuş ve astaksantin bu toksisiteye karşı verdiği cevap aldehit dehidrogenaz ve Klotho proteini genlerinin ekspresyonu üzerinden araştırmış ve bu genlerin ekspresyonu azaltılarak kalp dokusundaki hasarı hafiflettiği yönünde kayda geçirmiştir.

Chamorro-Cevallos vd. (2008) yaptıkları çalışmada, CF1 farelerinde CP'nin *i.p.* enjeksiyonuyla mutajenite oluşturulmuş ve bu mutajeniteye karşı *Spirulina* (*Arthrospira*) ile germ hücrelerinde koruyucu etkileri olduğu, kromozom hasarını iyileştirdiği sonucuna varılmıştır.

Yapılan bir çalışmada farelere CP kaynaklı oluşan oksidatif stres ve DNA hasarına karşı ebselen adlı organoselenyum ilaç molekülüne maruz bırakılarak ön tedavi uygulanmış, beyinde ve kemik iliğinde oluşan DNA hasarını oksidatif stresi de azaltarak iyileşme gösterdiği belirtmişlerdir (Tripathi ve Jena, 2008).

Mansour vd (2015) çalışmalarında Wistar Albino sıçanlarda CP nedenli şiddetli kardiyotoksisite oluşturmuş ve buna karşı N-asetilsisteinin oluşan oksidatif ve nitrozatif stresi azaltmak suretiyle kardiyak hasar parametrelerini iyileştirdiği görülmüştür.

2.5.2. CP'nin Kronik Toksikasyonu

CP'nin uzun süreli komplikasyonları ve toksisitesi üreme, teratojenik ve onkojenik etkiler ile kendini göstermektedir.

Elangowan vd. (2006) tarafından ICR farelerine yapılan akut ve kronik CP enjeksiyonu sonucunda oluşan testis toksisitesi araştırılmış, akut durumda testis ve fonksiyon parametrelerinde kalıcı olmayan hasara neden olduğu, kronik durumda ise kalıcı testis toksistesine neden olduğu belirtilmiştir.

15 erkek hastada CP ile oluşturulan azospermiye karşı testesteron ile tedavi amaçlanmış ve testesteron alan hastaların 6 ay sonra sperm sayıları ve folikül uyarıcı hormon seviyeleri normale dönmüştür (Masala vd., 1997).

Yener vd., Wistar Albino sıçanlarda CP nedenli yumurtalık toksisitesi oluşturularak *Spirulina* ile CP'nin toksik etkilerini tersine çevirdiğini belirtmişlerdir (Yener vd., 2013).

CP kaynaklı embriyo-fetal gelişimsel toksisiteye karşı çam kabuğu özütünün koruyucu etkisi araştırılmış ve oluşan teratojenik etkilere karşı özütün koruyucu bir ajan olabileceği görülmüştür (Kim vd., 2012).

Ratlara CP uygulamasından sonra oluşan teratojeniteye karşı tiyol bileşiklerinin yüksek konsantrasyonları toksik etkiyi azaltarak koruyucu yararı sağlamıştır (Hales, 1981)

Lupus nefriti için CP ile tedavi gören çocuklarda CP'nin onkojenik ve gonadal toksisitesi sebebiyle kullanımı araştırılmış ve CP ile tedavi edilen hastalarda kayda değer bir iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (Barbano vd., 2002).

2.5.3. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Oksijen enerji üretimi için mitokondride kullanılan yaşamsal öneme sahip bir elementtir. Aerobik metabolizmada ATP üretiminin yanısıra hücreye giren oksijenin yaklaşık %2-3 kadarı yan ürün olarak serbest radikallere dönüşür (Wickens, 2001; Pham-Huy vd., 2008). Serbest radikaller dış orbitalinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu bulunan, kararsız, oldukça reaktif kimyasal moleküller veya bileşiklerdir (Halliwell, 1987; Abdollahi vd., 2004). Bir kimyasal bağın kırılması, bir radikalın parçalanması veya redoks reaksiyonları yoluyla oluşurlar (Bahorun vd., 2006). Radikaller pozitif, negatif veya nötr elektrik yükü taşıyabilir.

ROS ve ayrıca reaktif nitrojen türleri (RNS) hücrel metabolizmanın ürünleridir (Valko vd., 2007). Bu reaktif türler kolaylıkla serbest radikal reaksiyonların oluşumuna yol açabilen radikalleri içerir. Bu radikallere serbest radikal denir (Bahorun vd., 2006).

ROS ve RNS hem zararlı hem de faydalı türler olarak bilinir (Valko vd., 2007). Çizelge 2.3 ve Çizelge 2.4'de organizmada yer alan önemli ROS ve RNS kaynaklı serbest radikaller ve radikal olmayanlar kimyasal yapılar listelenmiştir. Organizmada düşük veya orta konsantrasyon ROS/RNS varlığı gen ekspresyonu, büyüme, bağışıklık gibi hücrenin fizyolojik temel süreçlerinde yararlı etki gösterir. ROS hücrenin gelişimsel süreçlerini uyaran tiroksin ve prostaglandin gibi moleküllerin biyosentezinde de yer alır. Bağışıklık sisteminde fagositoz yoluyla öldürülecek bakteriler için makrofaj ve nötrofiller de ROS üretir. Uzun süreli maruziyet ve yüksek konsantrasyon ROS/RNS varlığı lipidlere lipid peroksidasyonu üzerinden, proteinlere yapısal değişiklik ve enzim aktivitesinde azalma yapacak şekilde, DNA'ya da zincir kırılması ve akabinde hücre mutasyonu yaratacak şekilde tüm hücre komponentlerine zarar vererek etki eder (Young ve Woodside, 2001; Chen vd., 2012; Shinde vd., 2012). Normal bileşiklerden zincirleme reaksiyon ile devamı gelecek başka serbest radikal üretme yeteneğine sahiptirler. Hücre bu oluşan formu

yeterince bertaraf edemediğinde oksidatif stres oluşur ve öncelikle lipid peroksidasyonu denilen hücre membranının ve lipoproteinlerin hasar aldığı bir süreç başlar (Shinde vd., 2012).

Çizelge 2. 3: ROS kaynaklı serbest radikaller ve serbest radikal olmayanlar (İnt. Kay. 4)

Radikaller	Radikal Olmayanlar
(OH*) Hidroksil	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
(O ₂ *) Süperoksit	Ozon (O ₃),
(HOO*) Hidroperoksil (protonlanmış süperoksit)	Hipoklorik asit (HOCl)
(ROO*) Peroksil	Organik peroksitler (ROOH)
(RO*) Alkoksil	Hidrobromöz asit (HOBr)
(CO ₂ *) Karbondioksit radikali	Peroksomonokarbonat (HOOCO ₂ *)
(1Σg + O ₂) singlet oksijen (sigma)	(1Δg O ₂) singlet oksijen (delta)
(RSO*) Sülfenil	Peroksinitrit (ONOO-)
(RSO ₂ *) Tiyil peroksil	Peroksinitrat (O ₂ NOO*)
(LOO*) Lipid peroksil	Peroksinitröz asit (ONOOH)
	Lipid peroksit (LOOH)

Çizelge 2. 4: RNS kaynaklı serbest radikaller ve serbest radikal olmayanlar (İnt. Kay. 4)

Radikaller	Radikal Olmayanlar
(NO*) Nitrik oksit	Nitröz asit (HNO ₂),
(NO ₂ *) Azot dioksit	Nitrozil katyonu (NO ⁺)
(NO ₃ *) Nitrat radikali	Nitroksil anyonu (NO ⁻)
	Nitronyum katyonu (NO ₂ ⁺)
	Diazot trioksit (N ₂ O ₃)
	Diazot tetroksit (N ₂ O ₄)
	Peroksinitrit (ONOO*)
	Peroksinitrat (O ₂ NOO*)
	Peroksinitröz asit (ONOOH)
	Alkil peroksinitritler (ROONO)
	Alkil peroksinitratlar (ROONO ₂)
	Nitril klorür (NO ₂ Cl)
	Peroksiasetil nitrat (CH ₃ C(O)OONO ₂)

Serbest radikal olmayan bileşikler de canlı organizmada kolayca serbest radikal oluşumuna yol açabilir (Bahorun vd., 2006; Pham-Huy vd., 2008).

İnsanda ve aerob organizmalarda ROS/RNS oluşumunu engellemek, oluşanı temizlemek ve oluşturdıkları hasarı gidermek için pek çok savunma mekanizması vardır (Hogg, 1998; Bahorun vd., 2006)

Lipid peroksidasyonu serbest radikallerin hücre zarlarında veya lipoproteinlerde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) saldırarak lipid peroksitlerin oluşumuna yol açtığı bir süreçtir. Oluşan bu lipid peroksitler kararsızdır ve diğer moleküllerle daha fazla reaksiyona girerek hücrelerde ve dokularda önemli hasara neden olabilecek bir zincirleme reaksiyona yol açabilir (Wadhwa vd., 2012). Lipid peroksidasyonu hücre membranına zarar vererek, zarın bütünlüğünün bozulmasına, akışkanlık ve geçirgenlikte değişikliklere, iyon taşınması gibi işlevlerinin kaybına yol açabilir ve sonuçta süreç hücre ölümüne kadar gidebilir (Hennig ve Chow, 1988; Adibhatla ve Hatcher, 2008). Lipid peroksidasyonunun neden olduğu mitokondri hasarı, oksidatif stresi daha da şiddetlendirebilen ve hücre/dokulara zarar verebilen ROS'ların oluşumuna neden olabilir (Adibhatla ve Hatcher, 2008). Hücresel hasara neden olan serbest radikallerin zararlı etkisi oksidatif stres veya nitrozatif stres olarak adlandırılır (Valko vd., 2007).

ROS'un kardiyovasküler, kanser, solunum, artrit, yüksek tansiyon, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar, diş eti çekilmesi, erkeklerde infertilite, yaşlanma gibi hastalıkların patogenezindeki rolü pek çok bilim insanının dikkatini çekmiştir (Harman, 1998; Dhalla vd., 2000; Waddington vd., 2000; Ramirez-Prieto vd., 2006; Puddu vd., 2008; Klaunig vd., 2010; Mateen vd., 2016; Wagner vd., 2018; Pratiwi vd., 2021).

Mitokondriyal solunum zinciri ve enzimatik reaksiyonları ROS'un endojen kaynaklarıdır (Chen vd., 2012). Hem ROS hem de RNS yi içeren serbest radikaller endojen (endoplazmik retikulum, mitokondri, peroksizomlar, fagositik hücreler gibi) hem de ekzojen (ağır metaller, geçiş metalleri, alkol, sigara, çevresel kirlilikler, endüstriyel çözücüler, pestisitler, radyasyon ve bazı ilaçlar) kaynaklardan ortaya çıkmaktadır (Phaniendra vd., 2015) Bu kaynaklar serbest radikal üretimini uyarma, lipid

peroksidasyonunu indüklemek ve vücudun toplam antioksidan kapasitesini bozma yetenekleri nedeniyle toksiktir (Abdollahi vd., 2004).

Oksidatif stres en basit şekliyle hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olabilen serbest radikallerin üretimi ile vücudun antioksidan savunması arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir ve bu dengesizlik oksidatif strese neden olduğu gibi kronik hasara da yol açabilir (Abdollahi vd., 2004; Shinde vd., 2012).

Serbest radikalleri süpürerek lipid peroksitlerin oluşumunu önleyen bir dizi antioksidan sistemi vardır. Bu sistem enzimatik ve enzimatik olmayan diye iki ana gruba ayrılır. SOD, CAT, GPx, GSH enzimatik antioksidanlar iken, vitamin C, vitamin E, karotenoidler, flavonoidler polifenoller ve diğerleri) enzimatik olmayan antioksidanlardır (Brzezińska-Ślebodzińska vd., 1995; Tsuchihashi vd., 1995; Huang vd., 2002; Salekzamani vd., 2019). Ek olarak antioksidan bakımından yüksek olan meyve ve sebze açısından zengin bir diyet tüketmek de lipid peroksidasyonunu önlemeye yardımcı olabilir. Sonuç olarak antioksidanlar ROS'u nötralize edebilen, bu türlerin neden olduğu hasarı önleyen veya azaltan moleküllerdir (Gupta vd., 2014). Vücut GSH gibi kendi antioksidanlarını üretir; ancak bu antioksidanlar aşırı ROS üretimi karşısında yetersiz kalabilir (Halliwell vd., 1997). Bu durumda da ROS'un neden olduğu hasarı detoksifiye etme veya onarma yeteneği arasında bir dengesizlik ile tamamen fizyolojik bir durum olan oksidatif stres ortaya çıkar (Bhattacharya, 2015). Antioksidanlar açısından zengin bir diyetin tüketilmesi vücudu hasardan korumaya ve sağlıklı bir yaşam tarzı sürdürmek için önemlidir.

2.6. Botanik Bilgiler

2.6.1. Asteraceae Familyası

Asteraceae familyası, şimdiye kadar tanımlanmış 1600'den fazla cins ve 23.000'den fazla tür ile dünyanın en büyük çiçekli bitki ailelerinden biridir (Gao vd., 2010). Familyanın marul, hindiba, enginar, papatya ve karahindiba gibi tanınmış ve önemli cinsleri vardır (Rolnik ve Olas, 2021). Türkiye Florasında toplam 1345 tür ve 136 cins ile temsil edilmekte olup hem tür hem de cins bakımından floranın en zengin familyasıdır (Abak ve Akan, 2013). Asteraceae familyası, yeryüzünün hemen hemen her yerinde yayılış gösterir. Özellikle Amerika'nın güney batısı ve Meksika, Brezilya'nın güneyi, And

Dağları boyunca, Akdeniz bölgesi, Güneybatı, Orta Asya, Güney Afrika ve Avustralya’da yoğun olarak bulunmaktadır (Abak ve Akan, 2013)

Geniş çeşitliliklerine rağmen, bu familyanın çoğu üyesi benzer kimyasal bileşime sahiptir. Örneğin tüm türleri güçlü prebiyotik özelliklere sahip bir polisakkarit olan inülinin iyi birer kaynağıdır. Ek olarak bu familyada yer alana bitkilerin büyük bir kısmı güçlü antioksidan, anti-enflamatuvar, antimikrobiyal, idrar söktürücü ve yara iyileştirici özellik gösterir (Rolnik ve Olas, 2021).

Cynara scolymus L., Akdeniz, Kuzey Afrika, Güney Avrupa ve Brezilya dahil olmak üzere yaygın olarak yetiştirilen ülkemizde halk arasında enginar olarak bilinen yerli bir bitkidir. Subtropikal iklim bölgelerine has orijini gözetilmeksizin besleyici yararları ve tıbbi özellikleri nedeniyle dünya çapında yetiştirilmektedir (Oliveira vd., 2014). Enginar bitkisinin sistematikteki yeri aşağıda Çizelge 2.5’de görülmektedir.

Çizelge 2. 5: Enginar (*Cynara scolymus* L.) sistematigi

Alem	Plantae
Bölüm	Spermatophyta
Alt bölüm	Angiospermae
Sınıf	Dicotyledonae
Alt sınıf	Sympetale
Takım	Asterales
Familya	Asteraceae
Cins	<i>Cynara</i> L.
Tür	<i>Cynara scolymus</i> L.



Resim 2. 1:Küre enginarın (*Cynara scolymus* L.) doğadaki görünüşü (İnt. Kay. 5)

C. scolymus, Akdeniz bölgesinden bir devedikeni türüdür (Resim 2.1). Büyük dikenli yaprakları ve 1,5m’ye kadar uzayan bir gövdesi vardır. Yaprakları tıbbi amaçlı olup, 30-35 cm boyunda, sap kısmı tam oluşmadan toplanmalıdır. Yılda 4-5 kere hasat alınabilir (Vamanu vd., 2011). Antik çağlardan beri tıp, gıda, yem ve diğer endüstrilerde kullanılmaktadır (Biel vd., 2020). Günümüzde İngiliz ve Avrupa Farmakopesine, İngiliz Bitki Farmakopesine ve Alman Komisyonu E Monograflarının tamamına dahil edilmiştir

(Nasser, 2012). Enginarın da içinde olduğu *Cynara* cinsi içinde birkaç yabani tür daha bulunur. *Cynara cardunculus* L. Akdeniz'in kıyılarında daha yaygındır (Resim 2.2).



Resim 2. 2: Yabani enginarın (*Cynara cardunculus* L.) doğadaki görünüşü (İnt. Kay. 6)

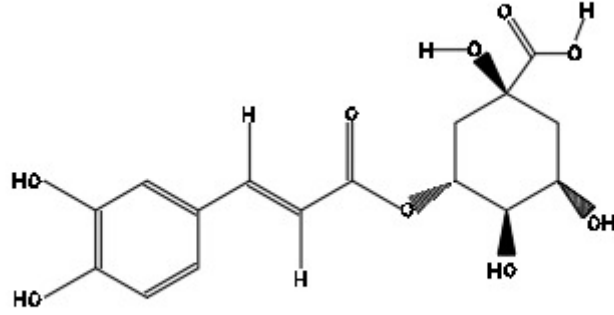
Yaprakları en yüksek besin ve biyoaktif madde konsantrasyonlarını içerir (Luca vd., 2022). Düşük kalorili ve yüksek lifli olmasının yanısıra vitamin C, vitamin K, folat, magnezyum ve potasyum dahil olmak üzere iyi bir vitamin ve mineral kaynağıdır. Enginarın antioksidan, anti-enflamatuvar ve kolesterol düşürücü özelliklere sahip olması nedeniyle enginar üzerine yapılan çok çalışma vardır.

Enginar yapraklarının koleretik, hipokolesterolemik ve hepatoprotektif aktivitesi acı fenolik bileşiklerinin bileşimi ve yüksek içeriği ile karakterize edilir (Nasser, 2012). Enginar yapraklarının, safra salgısını, idrar çıkışını artırdığı için kolesterolü ve kan glukozunu düzenleyerek KC ve böbrek rahatsızlıklarına karşı etkili olduğu düşünülmektedir (Vamanu vd., 2011).

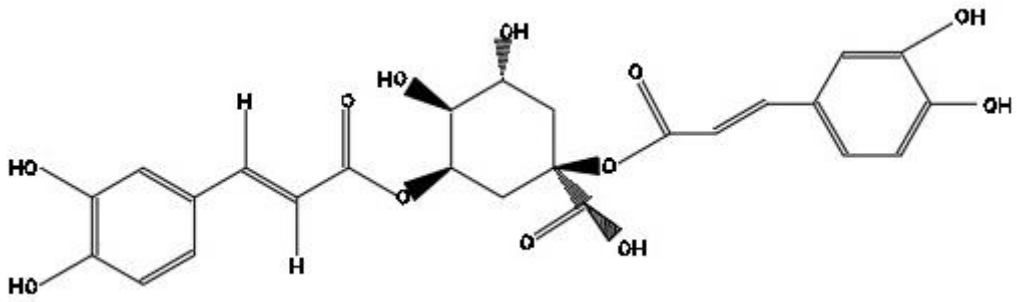
2.6.2. Enginar Bitkisinin Bazı Biyolojik Etkileri

Sinarin 1,3-O-dikafeoilkinik asit, enginarda yüksek oranda bulunan bir bileşiktir (Nasser, 2012). Bu bileşik hepatoprotektif özelliği ile bilinir (Adzet vd., 1987). Ayrıca kolesterol düşürücü etkisi de vardır. Enginarda güçlü antioksidan özelliklere sahip bileşikler flavonoidlerdir (Şekil 2.4). Flavonoidler, hücresel hasara neden olan serbest radikalleri nötralize etmeye yardımcı olur. Enginardaki flavonoidlerin kan basıncını düşürerek ve kan

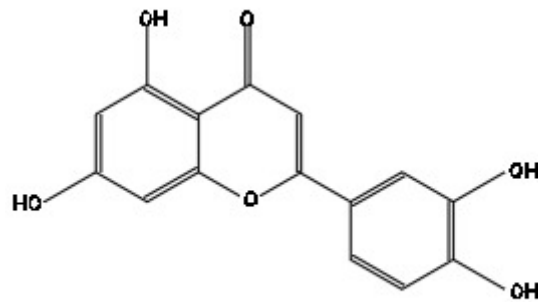
dolaşımını iyileştirerek kardiyovasküler problemleri iyileştirdiği gösterilmiştir (Luca vd., 2022).



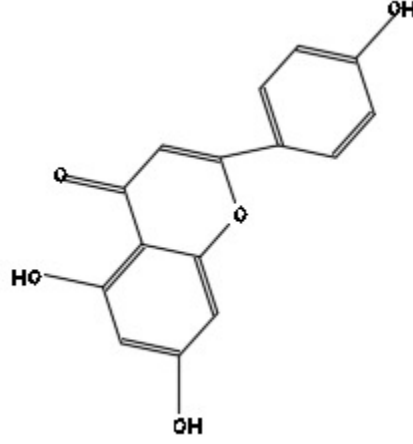
a)Klorojenik asit



b)Sinarin



c)Luteolin



d) Apigenin

Şekil 2. 4: Enginardeki bazı fenolik bileşiklerinin yapıları (Salem vd., 2015)

Antioksidatif Etkileri

Enginarın en önemli faydalarından biri, vücuttaki oksidatif hasarı önlemeye yardımcı olabilecek yüksek antioksidan içeriğidir (Sharma vd., 2021). *İn vitro* antioksidan aktivite deneyleri, enginar da dahil olmak üzere çeşitli gıdaların ve bitki özlerinin antioksidan potansiyelini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Pietta vd., 1998).

Enginar ekstraktlarının ve fraksiyonlarının toplam fenolik içeriğini ve antioksidan kapasitesini belirlemek için Folin-Ciocalteu ayırıcı (FCR) ile toplam fenolik, demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ve Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) tayini yöntemleri dahil olmak üzere çeşitli *in vitro* testler kullanılmıştır (Kayahan ve Saloglu, 2021). Bu analizler, bitkilerin potansiyel sağlık yararları ve kronik hastalıkları önlemedeki rolü hakkında değerli bilgiler sağlayabilir (Fратиanni vd., 2014).

Yapılan bir çalışma, enginar özlerinin hem DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil) radikali süpürme aktivitesi tayini hem de FRAP testlerinde önemli antioksidan aktivite sergilediğini, bunun da serbest radikalleri temizleme ve vücuttaki oksidatif stresi azaltma potansiyellerini gösterdiğini bildirmektedir (Jimenez-Moreno vd., 2019).

Enginarın antioksidan aktivitesi, klorojenik asit, sinarin ve luteolin dahil olmak üzere yüksek fenolik bileşik içeriğine bağlanır. Bu bileşikler, hücre ve dokulardaki oksidatif hasarı önleyerek serbest radikal temizleyiciler ve metal iyon şelatörleri olarak işlev görmektedir (Lattanzio vd., 2009; Jimenez-Moreno vd., 2019).

Enginarın antioksidan aktivitesi, SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimlerin üretimini artırma kabiliyetine bağlanmıştır (Salekzamani vd., 2019). Ayrıca enginarın askorbik asit ve tokoferoller gibi enzimatik olmayan antioksidanların seviyelerini artırdığı gösterilmiştir (Vamanu vd., 2011; Ruiz-Cano vd., 2014). Enginar yapraklarının antioksidan etkileri, kanser (Abdel-Moneim vd., 2021), kardiyovasküler hastalıklar (Ben Salem vd., 2022) ve nörodejeneratif bozukluklar (Cicek vd., 2022) dahil olmak üzere kronik hastalık eklenecek riskini azaltmak gibi çok sayıda sağlık yararıyla ilişkilendirilmiştir (Mileo vd., 2015; Ardalani vd., 2020; Wauquier vd., 2021). Enginarın ayrıca kronik hastalıkların gelişiminde kilit faktörler olan oksidatif stresi ve enflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (Majeed vd., 2015). Antioksidan etki açısından zengin bir sebze olan enginarın sağlığı geliştirme ve kronik hastalıkları önleme konusundaki potansiyelini tam olarak keşfetmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Anti-enflamatuvar Etkileri

Enginar, anti-enflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilen flavonoidler, fenolik asitler ve sesquiterpen laktonlar dahil olmak üzere birçok biyoaktif bileşik içerir (Rouphael vd., 2016).

Flavonoidler, birçok bitkisel gıdada bulunan bir grup polifenoliktir. Anti-enflamatuvar özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir ve kronik hastalıkların önlenmesinde rol oynamaktadır (Mohamed vd., 2013). Enginar, luteolin ve apigenin dahil olmak üzere flavonoidler açısından zengindir (Schütz vd., 2004; Azzini vd., 2007). Bu bileşiklerin, TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi proenflamatuvar sitokilerin üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Ruiz ve Haller, 2006; Rezai-Zadeh vd., 2008).

Fenolik asitler, enginarda bulunan oksidatif stresi azaltarak anti-enflamatuvar özellik gösteren başka bir bileşik grubudur. Enginar ayrıca güçlü anti-enflamatuvar etkilere sahip

olduğu gösterilen klorojenik asit açısından özellikle zengindir (Mileo vd., 2015; Rolnik ve Olas, 2021).

Seskiterpen laktonlar, enginar dahil olmak üzere birçok bitkide bulunan bir bileşik grubudur (Rong vd., 2009; Matsumoto vd., 2021). Anti-enflamatuvar özellikler de dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip oldukları gösterilmiştir. Enginar, sinaropikrin ve grosheimin dahil birkaç seskiterpen lakton içerir. Bu bileşiklerin, proenflamatuvar sitokinlerin üretimini engellediği ve enflamatuvar medyatörlerin üretiminde yer alan bir enzim olan siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin aktivitesini azalttığı belirtilmektedir (Matsumoto vd., 2021).

Sonuç olarak, enginarın bütün bu biyoaktif bileşikler sayesinde enflamatuvar durumların tedavisi için umut verici bir terapötik ajan haline geldiği ifade edilebilir.

Antikanserojenik Etkileri

Enginar antikanserojenik özelliklere sahip olduğu gösterilen kafeik asit, klorojenik asit, luteolin, apigenin ve silimarin içerir (Ionescu vd., 2014; Al-Radadi, 2018). Bitkinin meme, KC ve prostat hücreleri dahil olmak üzere çeşitli kanser hücrelerinin büyümesini engellediği bulunmuştur (Miccadei vd., 2008; Erdogan vd., 2019; Khedr vd., 2022). Enginarın antikanser etkileri, hücre döngüsünü durmasını tetikleme, hücre proliferasyonunu inhibe etme ve kanser hücrelerinde apoptozu indüklemeye yeteneğine atfedilir (Seelinger vd., 2008; Erdogan vd., 2019). Bu bileşiklerden fenolik içeriğe sahip olanların ayrıca antioksidan, anti-enflamatuvar ve antiproliferatif etkileri de vardır (Trouillas vd., 2003; Noriega-Rodríguez vd., 2020).

Sonuç olarak, enginar onu yeni antikanser ilaçların geliştirilmesi için potansiyel aday yapan antikanser özelliklere sahiptir.

Hepatoprotektif ve Koleretik Etkileri

Enginarın KC'yi çeşitli kaynakların neden olduğu hasarlardan korumaya yardımcı olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Enginar yaprağı ekstrelerinin KC hücrelerini oksidatif stresin neden olduğu hasarlardan koruyabildiği belirlenmiştir (El Morsy ve Kamel, 2015). Ek olarak, enginar ekstrelerinin alkole bağlı olmayan yağlı KC hastalığı

riskini azaltmaya yardımcı olabilecek kolesterol düşürücü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Deng vd., 2022).

Enginarın önemli bir koleretik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu, bitkide safra üretimini ve salgılanmasını uyaran sinarin gibi bazı bileşiklerin varlığından kaynaklanmaktadır (Lattanzio vd., 2009). Çalışmalar, enginar ekstresi kullanımının KC’de safra hacminde ve akışında artışa yol açtığını göstermiştir. Böylece besinlerin sindirimi ve emilimi için önemli olan safranin üretimini ve salgılanmasını uyarması sebebiyle enginar, KC sağlığını destekleme yeteneği açısından umut verici bir bitkidir (Salem vd., 2015).

Antiaterosklerotik Etkileri

Son yıllarda yapılan çalışmalar bu bitkinin anti-aterosklerotik etkileri olduğunu göstermiştir. İlk olarak, kandaki kolesterol seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu önemlidir, çünkü yüksek kolesterol seviyeleri arterlerde plak oluşumuna neden olabilir. İkincisi, enginarın antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu, vücudu, hücrelere zarar verebilen ve ateroskleroz gibi hastalıkların gelişiminden koruyabileceği anlamına gelir (Li vd., 2004). Son olarak, enginarın anti-enflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Enflamasyon, ateroskleroz gelişiminde önemli bir faktördür, bu nedenle enflamasyonu azaltmak hastalığı önlemenin ve tedavi etmenin etkili bir yolu olabilir (Mocelin vd., 2016).

2.7. Amaç

Bu tez çalışmasında ratlarda akut CP toksikasyonunun yol açtığı hepatotoksisitenin azaltılmasında enginar yapraklarından hazırlanan *n*-hekzan, etil asetat (EtOAc) ve metanol (MeOH) ekstraktlarının koruyucu etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda plazma rutin biyokimyasal parametreleri (AST, ALT, ALP, total protein (TP), total bilirubin (TB), plazma ve karaciğer dokusu oksidan-antioksidan (MDA, GSH, GPx, SOD) parametreleri ve sitokin (IL-1 β , IL-10, TNF- α) seviyeleri ile karaciğer dokusu histopatolojik incelemeleri yapılmıştır. Aynı zamanda üç ekstrenin toplam fenolik madde miktarları, DPPH radikali süpürücü aktiviteleri, süperoksit radikali süpürücü aktiviteleri ve metal bağlama aktiviteleri *in vitro* deneylerle belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Cynara scolymus yaprakları Ankara ili, Çankaya ilçesindeki bir semt pazarından 2021 yılı Aralık ayında temin edilmiştir. Bitki örneği Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Esra Akkol tarafından tasdik edilmiştir.

3.1.2. Deney Hayvanı

Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DHUAM) temin edilen genel muayenesi yapılmış 8-12 haftalık 250-300 g canlı ağırlığa sahip 30 adet Sprague Dawley dişi sağlıklı rat kullanılmıştır. Ratlar DHUAM'da 12 saat ışık/karanlık siklusunda ve uygun ısı ve nem ortamında bakılmıştır. Ratlara 10 gün boyunca standart beslenme yapılmış ve içtikleri su serbest bırakılmıştır (*ad libitum*).

3.1.3. Analizlerde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

Çizelge 3. 1: Fitokimyasal analizler için yararlanılan solvanlar

Kimyasal Adı	Firma	Katalog No
<i>n</i> -Hekzan	Merck	203-777-6
Etil asetat	Merck	205-500-4
Metanol	Merck	200-659-6

3.1.4. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

Çizelge 3. 2: Analizler için kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka/Model
Distile Su Cihazı	GFL 2012
Hassas Terazı	Radwag AS 220.R2
Etüv	Heraeus
Mekanik Karıştırıcı	IKA Labor teknik RW20
Çalkalayıcı	Heidolph Promax 2020
Rotavapor	Büchi /R-200
Vakum Pompası	Heidolph
Endüktif Eşleşmiş Plazma- Kütle Spektrometresi (ICP-MS)	Perkin Elmer/ NEXIon 300
Mikrodalga Fırın	CEM Mars
Likit Kromatografi	Agilent 1260
Kütle Spektrometresi	Agilent 6550 iFunnel Q-TOF
İyon Kaynağı	Agilent Jet Stream Elektrosprey
Derin Dondurucu (-20°C)	Siemens
Vorteks	VELP Scientifica, F202A0171
Santrifüj	Ortoalsera, Digicen21 R
Hassas Terazı	OHAUS Adventurer Pro, AV264C
Homojenizatör	IKA-T18 Ultra Turrax
Ultrasonik homojenizatör	Bandelin Sonopuls, 20 kHz power
Işık Mikroskop	Olympus Bx51
Dijital Mikroskop Kamera	Olympus DP20

Çizelge 3. 3: Yapılan analizler için kullanılan kimyasal maddeler ve kitler

Kimyasal Adı	Firma	Katalog No
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma-Aldrich	200-664-3
2,2-Difenil-1-pikril hidrazil (DPPH)	Sigma-Aldrich	217-591-8
Folin Ciocalteu Fenol	Supelco	1009001
Reaktifi (FCR)		
Gallik asit	Merck	205-749-9
Nikotinamid adenine dinükleotid (NaDH)	Sigma Aldrich	210-123-3
Fenazin metasülfat (PMS)	Sigma- Aldrich	206-072-1
Nitro Mavi tetrazolyum Klorür (NBT)	Sigma- Aldrich	206-067-4
EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit)	Merck	200-449-4
FeCl ₂ .4H ₂ O (Demir (II) klorür)	Sigma- Aldrich	231-843-4
Na ₂ CO ₃ (Sodyum karbonat)	Sigma- Aldrich	207-838-8
Na ₃ PO ₄ (Sodyum fosfat)	Sigma- Aldrich	231-509-8
Endoxan Preparatı	Eczacıbaşı	Baxter Oncology GmbH
NaCl	Sigma-Aldrich	S7653
SOD ELISA kit	Bioassay Technology	E0168Ra
GSH ELISA kit	Bioassay Technology	EA0113Ra
GPx ELISA kit	Bioassay Technology	E1172Ra
MDA ELISA kit	Bioassay Technology	E0156Ra
TNF- α ELISA kit	Bioassay Technology	E0764Ra
IL-1 β ELISA kit	Bioassay Technology	E0119Ra
IL-10 ELISA kit	Bioassay Technology	E0108Ra

3.2. Metot

3.2.1. *n*-Hekzan Ekstresinin Hazırlanması

Fitokimyasal çalışmalar ve *in vivo* çalışmaların yürütülebilmesi amacıyla *C. scolymus* bitkisinin yaprakları aşamalı olarak ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Yapraklar (500g) oda

sıcaklığında kurutulmuş (Resim 3.1) ve toz edildikten sonra 3 L *n*-hekzan ile oda ısısında mekanik karıştırıcı ile farklı günlerde karıştırılarak 4 kez ekstraksiyona tabi tutulmuştur. *n*-Hekzanlı fazlar birleştirilerek vakum altında 40°C'lik su banyosunda rotavaporda yoğunlaştırılmıştır (Resim 3.2). Elde edilen *n*-hekzan ekstresi kurutularak tartılmış ve verim hesaplanmıştır [Verim: %0,73 a/a].



Resim 3. 1: *Cynara scolymus* yapraklarının oda sıcaklığında kurutulması işlemi

3.2.2. EtOAc Ekstresinin Hazırlanması

n-Hekzan ile ekstraksiyon sonrası kalan bakiye 3 L EtOAc ile oda ısısında mekanik karıştırıcı ile karıştırılarak 4 kere ekstraksiyona tabi tutulmuştur. EtOAc'li fazlar birleştirilerek vakum altında 40°C sıcaklıkta rotavaporda EtOAc buharlaştırılmıştır. Elde edilen EtOAc ekstresi kurutularak tartılmıştır [Verim: %0.88 a/a].

3.2.3. MeOH Ekstresinin Hazırlanması

EtOAc ile ekstraksiyon sonrası kalan bakiye 3 L MeOH çözücüsü ile oda ısısında mekanik karıştırıcı ile farklı günlerde karıştırılarak 4 kere ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Metanollü fazlar birleştirilerek vakum altında 40°C sıcaklıkta rotavaporda MeOH buharlaştırılmıştır. Elde edilen MeOH ekstresi kurutularak tartılmıştır [Verim: %9.60 a/a].



Resim 3. 2: Rotavaporda ekstre solventinin buharlaştırılması işlemi

3.2.4. Toplam Fenolik Madde Tayini

Enginar yaprağı ekstraktlarının toplam fenolik maddeleri, tarafından açıklanan prosedüre göre FC fenol reaktifi kullanılarak ölçülmüştür (Singleton ve Rossi, 1965). Yöntem fenolik bileşiklerin indirgeyici moleküller olarak hareket ettiği FCR ile mavi renkli bir kompleks oluşturmak üzere girdiği redoks reaksiyonu prensibine dayanır. Mavi rengin yoğunluğu numunedeki fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Çalışmada standart madde olarak Gallik asit kullanılmıştır. Spesifik olarak, her bir ekstre çözeltisinin 0,5 mL'si, 0,5 mL FCR ile karıştırılmış ve 3 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra %2 Na_2CO_3 ilave edilerek karışım oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra, reaksiyon karışımının absorbansı, distile suya (kör) karşı 760 nm'de ölçülmüştür. Tüm deneyler üç tekrarlı yapılmıştır.

Sonuçlar, hazırlanan standart bir gallik asit grafiğinden (0-1000 mg/L) hesaplanmış olup sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ekstre olarak ifade edilmiştir.

3.2.5. DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Enginar yaprağı ekstraktlarının kararlı bir serbest radikal olan DPPH süpürücü aktivitesi Blois (1958) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu metoda göre koyu mor renge sahip olan DPPH radikali ekstraktlardaki antioksidanlar tarafından süpürüldüğünde, reaksiyon çözeltisinin rengi mor renkten sarıya dönmektedir. Buna göre 0,1mM konstantrasyona sahip

DPPH'ın 2 mL'si 0,5 mL enginar yaprağı ekstraktı çözeltisine eklenmiştir. Her karışım 30 dakika boyunca karanlıkta bekletilmi ve 517 nm'de etanole karşı ölçülmüştür. Tüm deneyler üç tekrarla çalışılmış olup askorbik asit standardı pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

$$\% \text{ DPPH radikal süpürücü aktivite} = \frac{\text{Kör Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}}{\text{Kör Absorbansı}} \times 100$$

3.2.6. Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Enginar yaprağı ekstrelerinin süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi yönteminde NADH/PMS/O₂ kompleksi ile oluşturulan süperoksit radikali NBT'yi sarı renkten mavi-mor renkli formazon türevine indirger. Düşük absorbans değerleri bileşiklerin süperoksit radikali süpürme aktivitesinin olduğunu gösterir (Nishikimi vd., 1972).

20 mM ve 7,4 pH'a sahip Na₃PO₄ tamponunda çözünmüş 156 µM NBT çözeltisinin 0,5 mL'si ve aynı konsantrasyondaki tampon çözeltide çözünmüş 468 µM NADH çözeltisinin 0,5 mL'sine enginar yaprağının *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarından (100-250-500-1000 µg/mL) 0,5 mL eklenmiştir. Bu karışımlara 50 µL, 60 µM PMS çözeltisi ilave edildikten sonra elde edilen yeni çözeltiler oda şartlarında 5 dakika bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı 560 nm'de ölçülmüştür. Kontrol çözeltisi olarak 0,5 mL distile su kullanılmıştır. Süperoksit radikali süpürücü aktivitesi % olarak aşağıda verilen eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite} = \frac{\text{Kontrol Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}}{\text{Kontrol Absorbansı}} \times 100$$

3.2.7. Metal Bağlama Aktivite Tayini

Enginar yapraklarının *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin metal bağlama aktivitesi Carter (1971) ve Dinis vd. (1994) metodu kullanılarak belirlenmiştir. Yöntem güçlü demir bağlayıcısı olan ferrozin reaktifi ile ortamdaki demiri bağlayan bileşiklerin rekabetine dayanmaktadır. Metal bağlama gücü yüksekse kırmızı renkli Fe⁺²/ferrozin kompleksinin oluşumu engellenmektedir.

100-250-500-1000 µg/mL konsantrasyonda hazırlanmış enginar yapraklarının MeOH, EtOAc ve *n*-hekzan ekstresinin 1 ml'sine 3,7 mL distile su ve 100 µL 2mM FeCl₂ çözeltisi

eklenmiştir. Oda koşullarında inkübasyon için 30 dakika beklendikten sonra 100 µL 5mM ferrozin çözeltisi eklendikten sonra vortekslenmiştir. Karışımların absorbanısı 10 dakika beklendikten sonra 562 nm’de ölçülmüştür. Örneklerle karşı kör olarak 0,5 mL distile su kullanılmıştır. Standart olarak 50-250 µg/mL konsantrasyonlarında EDTA kullanılmıştır.

Ferrozin-Fe⁺² kompleksinin inhibisyon yüzdesi;

Metal Bağlama Aktivitesi (µM Fe) = $1 - \frac{\text{Örnek Absorbanısı} - \text{Kör Absorbanısı}}{\text{Standart Absorbanısı} - \text{Kör Absorbanısı}} \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır.

3.2.8. Fitokimyasal İçeriğin Belirlenmesi

C. scolyms yapraklarından hazırlanan ekstrelerin fenolik içeriklerinin belirlenmesi amacıyla otomatik örnekleyici, pompa, kolon fırını ve bir UV dedektörüne sahip YBSK sistemi (Agilent 1260 serisi), çift spreyl Agilent Jet Stream Elektrosprey iyonizasyon kaynağına sahip bir iFunnel Quadrupole Time-of-Flight LC-MS sistemi (Agilent 6550) ile birleştirilmiştir. Bileşiklerin belirlenmesi ve tanımlanması için Metlin Metabolit, PubChem, FooDB gibi veri bankaları ve literatür veri kütüphaneleri ile karşılaştırması için Agilent Mass Hunter B.06.00 yazılımına başvurulmuştur. Elde edilen ana iyon değeri ile örtüşen madde olasılıkları da parçalanma iyonları ile değerlendirilerek tanımlama, Çizelge 3.4’ de yer alan sistem parametreleri ile çalışılmak suretiyle yapılmıştır.

Çizelge 3. 4: LC-QTOF-MS sistem parametreleri

Kolon	Agilent TC-C18(2) (4.6 mm x 150 mm x 5 µm)
Kolon Fırını Sıcaklığı	30 °C
Enjeksiyon Hacmi	10 µL
Analiz süresi	30 dk
Mobil Faz A	10 mM Amonyum asetat (suda)
Mobil Faz B	Metanol
Akış Hızı	0.65 mL/dk
	0 dk- 10% B
	2 dk- 10% B
Gradient program	6 dk- 30% B
	14 dk- 70% B
	16 dk- 90% B

Çizelge 3.4. LC-QTOF-MS sistem parametreleri (Devam)

	24 dk- 90% B
	24.1 dk- 10% B
	30 dk- 10% B
İyonlaştırma modu	Negatif
Kurutma gazı sıcaklığı	200 °C
Kurutma gazı N ₂ akış hızı	14 L/dak
Nebulizer	40 psi
Sheath gaz sıcaklığı	375 °C
Sheat gaz N ₂ akış hızı	12 L/dk
Kapiler voltaj	2000 V
Nozzle voltaj	2000 V
Kütle okuma aralığı	50-1700 amu
Referans iyonlar	966.000725

3.2.9. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney protokolü

Araştırma, T.C Afyon Kocatepe Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 15.02.2021 tarihli ve 49533702/15 sayılı AKÜHADYЕК 11-21 referans numarası ile onaylanmıştır.

Çalışma genel muayenesi yapılmış 8-12 haftalık 250-300 g canlı ağırlığa sahip toplam 30 adet dişi Wistar Albino ratı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ratların bakım ve beslemesi, çalışma süresince 21±2°C oda sıcaklığı, %55-60 nem ve 12:12 saatlik aydınlık-karanlık siklusunda yapılmıştır. Ratların ad libitum bir şekilde standart pelet yem ve su tüketmeleri sağlanmış ve herhangi bir katkı ilavesi yapılmamıştır.

Çalışma her bir grupta rastgele olacak şekilde 6 adet ratın bulunduğu biri kontrol grubu olmak üzere toplam 5 grup ile ayrı kafeslerde Çizelge 3.5'te belirtildiği şekilde yürütülmüştür.

Çalışma her gruba sabah saatlerinde gastrik gavaj ile oral yoldan; %10'luk Dimetilsülfoksit (DMSO) verilen kontrol grubu, DMSO'da çözünmüş EtOAc ekstresi verilen grup, DMSO'da çözünmüş MeOH ekstresi verilen grup, DMSO'da çözünmüş *n*-hekzan ekstresi verilen grup olmak üzere 4 grup ve 7. gün tek doz CP *i.p.* yoldan verilen grup ile beraber 5 grupta 10 gün boyunca yürütülmüştür. CP kaynağı olarak Endoxan (1 g damar içi

infüzyonluk çözelti tozu içeren flakon, Eczacıbaşı, Türkiye) kullanılmıştır. CP, preparatta bulunan çözücü ampuldeki izotonik sodyum klorürde çözündürülmüştür.

Çizelge 3. 5: Deney grupları ve uygulanan işlemler

Kontrol grubu	CP grubu	<i>n</i> -Hekzan+CP	EtOAc+CP grubu	MeOH+CP
10 gün	10 gün	grubu 10 gün	10 gün	grubu 10 gün
n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
Gastrik gavaj ile oral yoldan sadece DMSO diğer gruplarla eşit hacimde verildi.	Gastrik gavaj ile oral yoldan DMSO ve 7. gün tek doz <i>i.p.</i> 200 mg CP/kg canlı ağırlığa (CA) uygulandı	Gastrik gavaj ile oral yoldan DMSO'da çözünmüş <i>n</i> -hekzan ekstresi 1g/kg CA ve 7. gün tek doz <i>i.p.</i> 200 mg CP/kg CA uygulandı.	Gastrik gavaj ile oral yoldan DMSO'da çözünmüş EtOAc ekstresi 1g/kg CA ve 7. gün tek doz <i>i.p.</i> 200 mg CP/kg CA uygulandı.	Gastrik gavaj ile oral yoldan DMSO'da çözünmüş MeOH ekstresi 1g/kg CA ve 7. gün tek doz <i>i.p.</i> 200 mg CP/kg CA uygulandı.

On günlük uygulama süresi sonunda 12 saat öncesinden aç bırakılan ratlar 11. gün izofluran anestezisi altında kurban edilmektedir.

3.2.10. Plazma ve Doku Homojenizat Eldesi

Çalışmanın 11. gününde tüm hayvanlardan plazma için heparinli tüplere kan örnekleri alınmıştır. Örnekler 3000 rpm'de 10 dakika 4°C'de santrifüjlenerek üstteki plazma kısmı ayrılmıştır. Elde edilen plazmalar biyokimyasal analizler yapılncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Uygun şekilde alınan KC dokularının biyokimyasal analiz yapılacak olan kısmı ayrılıp buz soğukluğundaki izotonik sodyum klorürde [1:10 (w/v)] önce mekanik (IKA-T18 Ultra Turrax) ve sonra ultrasonik (Bandelin Sonopuls; 20 kHz güç) homojenizatörde homojenize edilmiştir. Bu işlemten sonra 5000 rpm'de 15 dakika 4°C'de santrifüjlenerek üst kısımdaki süpernatant ayrılmıştır. Elde edilen homojenizatlar biyokimyasal analizleri yapılncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.2.11. Biyokimyasal Analizler

Plazmada AST, ALT, ALP, TP, TB düzeyleri Abbott kitleri kullanılarak Abbott Architect c8000 cihazında ölçülmüştür. Plazma ve KC homojenizatlarındaki oksidan-antioksidan parametreler ve sitokin düzeyleri protokolüne uygun olarak ticari ELISA kitler (Bioassay Technology Laboratory, Çin) kullanılarak absorbansları ELISA okuyucuda (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific) belirlenmiştir. Her bir testin standart kalibrasyon grafiği oluşturulup numune değerleri hesaplanmıştır. Buna göre plazmadaki düzeyleri MDA ve GSH; nmol/ml, GPx ve SOD; ng/ml, TNF- α , IL-1 β (interlökin-1-beta) ve IL-10 (interlökin-10); pg/ml cinsinden verilmiştir. KC homojenizatlarında MDA; nmol/mg yaş doku, GSH; μ mol/g yaş doku, SOD; ng/mg yaş doku GPx; ng/mg yaş doku, TNF- α ; ng/g, yaş doku, IL-1 β ; pg/g yaş doku ve IL-10; pg/g yaş doku olarak hesaplanmıştır. Analizler Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ve Farmakoloji laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.12. Histopatolojik İnceleme

Deneme süresi sonunda sakrifiye edilen ratların diseksiyonu yapılarak her hayvanın KC dokusu biyokimyasal analizler ve histopatolojik incelemeler için uygun şekilde alınmıştır. Histopatolojik inceleme için ayrılan dokular %10 formalin çözeltisinde 48 saat boyunca sabitlenmiştir. Ardından dereceli alkol serileri (%70-100) ile dehidre edilip, ksilen içinde şeffaflaştırılmış ve parafine gömülmüştür. Mikrotomla 5-6 μ m kalınlığında parafin kesitleri alınarak hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanmıştır. Işık mikroskobu altında histopatolojik incelemesi yapılarak görüntüleri kaydedilmiştir. Histopatolojik incelemeler Afyon Kocatepe Üniversitesi'nde görevli uzman bir patolog tarafından yapılmıştır.

3.2.13. İstatistik Analiz

Çalışmadaki biyokimyasal değerler normallik yönünden parametrik test varsayımlarından Shapiro Wilk ile incelenmiştir. Normal dağılıma uymadığı belirlenmiştir. Biyokimyasal verilerin deneme gruplarına göre karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılığı belirlemek amacıyla çoklu karşılaştırma testlerinden Dunn's testi uygulanmıştır. Histopatolojik verilerin analizinde ise tek yönlü varyans analizi

kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılığı belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmıştır. $p<0.05$ anlamlılık seviyesi seçilmiştir. Analizler SPSS 22.0 programı ile gerçekleştirilmiştir.



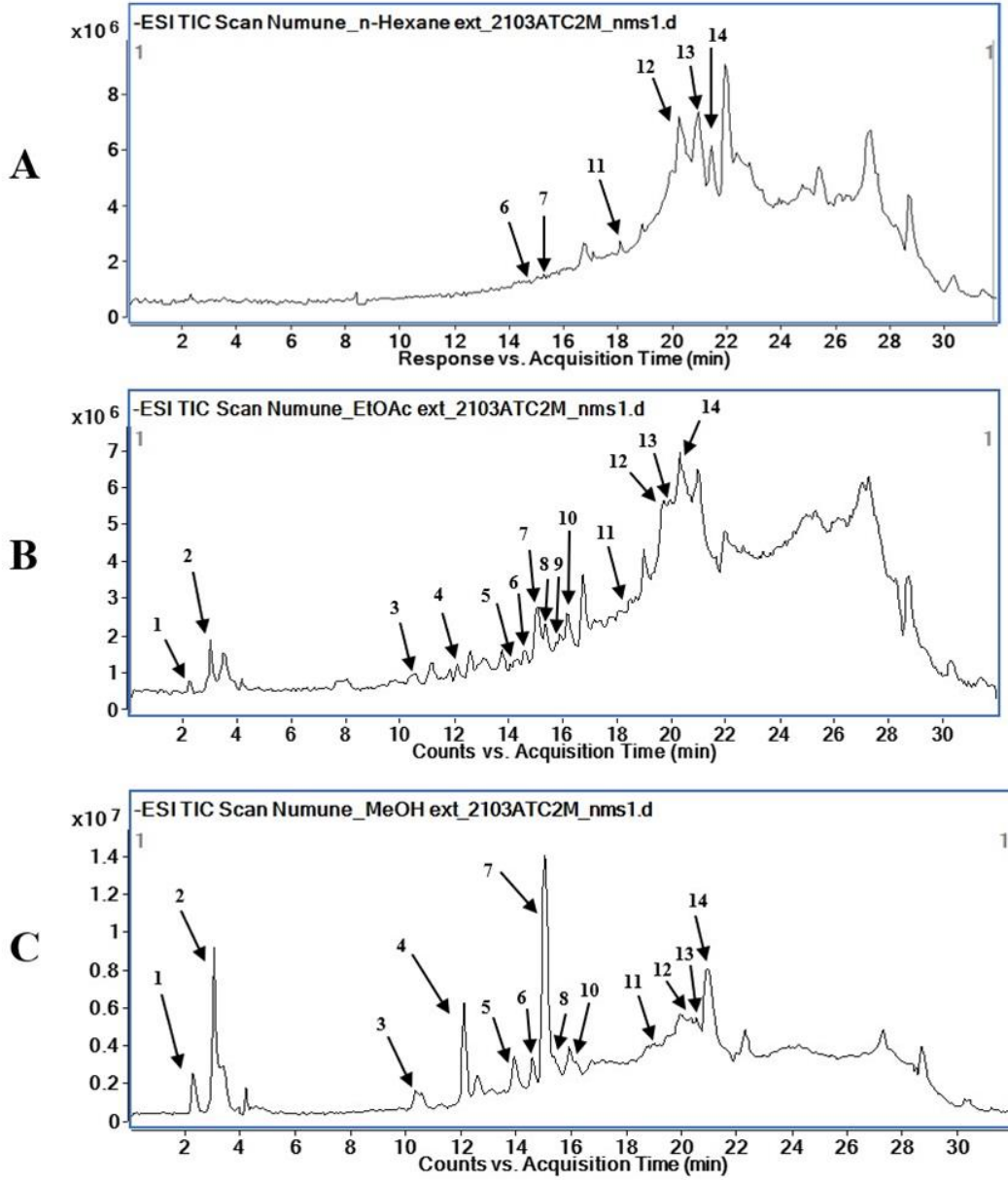
4. BULGULAR

4.1. *In vitro* Deney Bulguları

C. scolymus bitkisinin yapraklarından hazırlanan *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarının içeriği Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde (Ankara, Türkiye) kromatografik yöntem olan LC-QTOF-MS ile analiz edilmiştir. Fenolik profilin belirlenmesi için toplam fenolik madde tayini, antioksidan aktivite tayini için DPPH ile süperoksit radikalleri süpürücü aktiviteleri ve metal bağlama aktivitesi tayinleri spektroskopik olarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. Kromatografik Yöntem Bulguları

Fenolik bileşiklerin analizi Bölüm 3.2.8.' de belirtilen koşullarda gerçekleştirildi. Çizelge 4.1'de enginar yaprağı ekstralarında belirlenen fenolik bileşiklerin karakterizasyonu, Çizelge 4.2'de enginar yaprağı ekstralarında tespit edilen fenolik bileşiklerin, Şekil 4.1'de enginar yaprağının *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarındaki fenolik bileşiklerin LC-QTOF-MS kromatogramları sırasıyla (A), (B) ve (C) olarak verilmiştir.



Şekil 4. 1: Enginar yapraklarından hazırlanan ekstrelerdeki bileşiklerin toplam iyon kromatogramı. (A: *n*-Hekzan ekstresi; B: EtOAc ekstresi; C: MeOH ekstresi)

Toplam on dört bileşik tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Kromatogramlarda gösterilen moleküller sayılarıyla (1-14) Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4. 1 :Enginar yaprağında LC-QTOF-MS ile belirlenen fenolik bileşikler, alıkonma zamanları

Bileşik	Alıkonma zamanı (dk)	MS sinyal yoğunlukları (1/1000)		
		<i>n</i> -Hekzan ekstresi	EtOAc ekstresi	MeOH ekstresi
Kafeoil hekzosit	3.12	Tespit Edilemedi	4374	33150
Kinik asit	3.39	Tespit Edilemedi	302	8334
Siringik asit O-hekzosit	10.48	Tespit Edilemedi	2773	8990
Kafeoilkinik asit izomer	12.09	Tespit Edilemedi	1473	16813
Pinorezinol 4-O-β-D-glikozit	14.63	Tespit Edilemedi	1380	5344
Dikafoilkkinik asit izomer 1	15.04	96	6656	65170
Luteolin-7-O-glikozit	15.30	21	7602	3299
Dikafoilkkinik asit izomer 2	15.66	Tespit Edilemedi	755	75388
Apigenin-7-O-rutinozit	15.95	Tespit Edilemedi	2267	Tespit Edilemedi
Apigenin 7-glikozit	16.15	Tespit Edilemedi	8318	272
Apigenin	19.02	47	9452	21
Okso oktadekatrienoik asit	21.40	15701	2451	1238
Hidroksi oktadekatrienoik asit	21.80	22687	10005	3227
Hidroksi oktadekadienoik asit	21.95	12266	7440	5471

Çizelge 4. 2: Enginar yaprağında tespit edilen bileşiklerin LC-QTOF-MS molekül iyon kütleleri [M-H] ve alıkonma zamanları

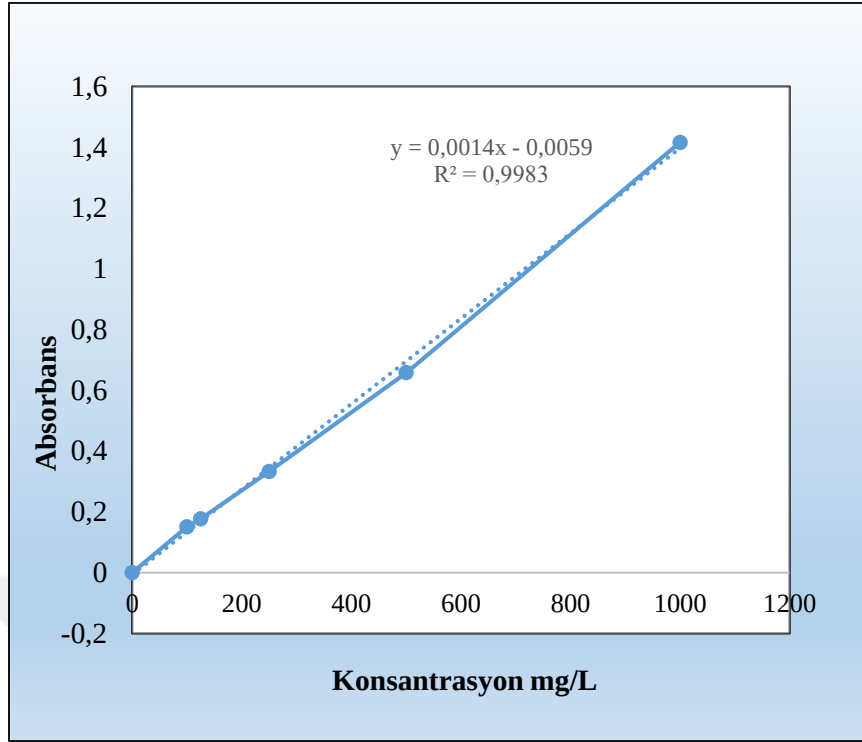
Pik No	Bileşik	Molekül formülü	[M-H] ⁻ deneysel [m/z]	[M-H] ⁻ hesaplanan [m/z]	Kütle hatası (ppm)	Alıkonma zamanı (dk)	Doğrulama Referanslar
1	Kafeoil heksozit	C ₁₅ H ₁₇ O ₉	341.0878	341.0885	-1.81	2.99	(Abu-Reidah vd., 2013)
2	Kinik asit	C ₇ H ₁₁ O ₆	191.0561	191.0561	0.00	3.32	(Yang vd., 2020)
3	Sirinjik asit O-heksozit	C ₁₅ H ₁₉ O ₁₀	359.0984	359.0968	4.46	10.55	(Abu-Reidah vd., 2013)
4	Kafeoilkinik asit izomer	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	353.0878	353.0876	0.57	12.09	(Abu-Reidah vd., 2013)
5	Pinorezinol 4-O-β-D-glikozit	C ₂₆ H ₃₁ O ₁₁	519.1872	519.1864	1.87	14.57	(Abu-Reidah vd., 2013)
6	Dikafeoilkinik asit izomer 1	C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂	515.1195	515.1172	4.46	14.97	(Luca vd., 2022)
7	Luteolin-7-O-glikozit	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	447.0933	447.0922	2.86	15.39	(Abu-Reidah vd., 2013; Yang vd., 2020)
8	Dikafeoilkinik asit izomer 2	C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂	515.1195	515.1167	5.62	15.66	(Abu-Reidah vd., 2013)
9	Apigenin-7-O-rutinozit	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₄	577.1563	577.1553	1.99	15.95	(Yang vd., 2020)
10	Apigenin 7-glikozit	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀	431.0984	431.098	0.93	16.15	(Abu-Reidah vd., 2013)
11	Apigenin	C ₁₅ H ₉ O ₅	269.0455	269.0454	0.78	18.94	(Abu-Reidah vd., 2013; Yang vd., 2020)
12	Okso oktadekatrienoik asit	C ₁₈ H ₂₇ O ₃	291.1966	291.1966	0.00	21.4	(Luca vd., 2022)
13	Hidroksi oktadekatrienoik asit	C ₁₈ H ₂₉ O ₃	293.2122	293.2119	1.02	21.8	(Luca vd., 2022)
14	Hidroksi oktadekadienoik asit	C ₁₈ H ₃₁ O ₃	295.2279	295.2277	0.52	21.95	(Luca vd., 2022)

n-Hekzan ekstraktında dikafeoil kinik asit izomer 1, luteolin-7-O glikozit, apigenin, okso oktadekatrienoik asit, hidroksi oktadekatrienoik asit ve hidroksi oktadekatrienoik asit tespit edilmiştir (Şekil 4.1A). Tablo I'de listelenen 14 bileşiğin tümü, EtOAc ekstraktında tespit edilmiştir. Sinyal gücü dikkate alındığında, apigenin-7-O-rutinoside sadece bu ekstrede bulunmuştur. Luteolin-7-O-glikozit, apigenin 7-glikozit, apigenin ve okso oktadekatrienoik asit, hidroksi oktadekatrienoik asit, hidroksi oktadekadienoik asit bileşiklerinin sinyal yoğunluğunun EtOAc ekstraktında metanol ekstraktına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1B). Metanol ekstraktında kafeoil heksozit, kinik asit, sirinjik asit O-heksozit, kafeoil kinik asit izomeri, pinorezinol 4-O- β -D-glikozit, dikafeoil kinik asit izomerlerinin varlığı diğer ekstraktlara göre daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.1C). Tüm bileşikler, LC-QTOF-MS verileri kullanılarak tanımlanmış ve literatürde verilen parmak izleriyle karşılaştırılmıştır (Abu-Reidah vd., 2013; Yang vd., 2020; Luca vd., 2022)

4.1.2. Spektroskopik Deney Bulguları

Toplam Fenolik Madde Tayini Bulguları

Elde edilen *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin toplam fenolik madde tayini Bölüm 3.2.4'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiş ve sonuçları Çizelge 4.3'de sunulmuştur. Kalibrasyon grafiği Şekil 4.2'de gösterildiği gibi standart madde gallik asit kullanılarak (0-1000 mg/L) hazırlanmıştır. Elde edilen veriler MeOH ekstresinin toplam fenolik madde miktarının EtOAc ve *n*-hekzan ekstrelerine kıyasla belirgin bir şekilde yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. 2: Standart Gallik asit kalibrasyon grafiği

Çizelge 4. 3: *n*-Hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarında toplam fenolik madde miktarları (mg gallik asit eşdeğeri/ g kuru madde)

Ekstreler	Toplam fenolik madde (mg GAE/g ekstre)
<i>n</i> -Hekzan	0.167 mg
EtOAc	0,917 mg
MeOH	5,375 mg

DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Bulguları

Enginar yaprağının farklı organik çözücülerdeki DPPH radikali süpürme aktivitesi karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.4’de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 4: Enginar yaprağının *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarında belirlenen DPPH radikali süpürücü aktivitesi (%) sonuçları

Ekstreler	DPPH Radikal Süpürücü Aktivite (%)
<i>n</i> -Hekzan	14,53
EtOAc	44,15
MeOH	87,73

Tüm ekstrelerin DPPH radikali süpürücü aktivitesi karşılaştırıldığında MeOH ekstresinin güçlü antioksidan etkiye sahip olduğunu ve bunu EtOAc ekstresinin takip ettiğini göstermiştir.

Süperoksit Radikali Süpürücü Aktivite Bulguları

C. scolymus bitkisinin yapraklarından hazırlanan *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin süperoksit radikali süpürücü aktivitesi Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4. 5: *n*-Hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin süperoksit radikali süpürücü aktivitesi (%)

Ekstreler	Süperoksit Radikal Süpürücü Aktivitesi (%)
<i>n</i> -Hekzan	30,22
EtOAc	49,02
MeOH	44,15

Tüm ekstrelerin süperoksit radikali süpürme aktivitesi karşılaştırıldığında EtOAc ekstresinin güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Metal Bağlama Aktivite Bulguları

Enginar bitkisinin yapraklarından hazırlanan *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin içeriği aşağıda Çizelge 4.6' da karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

Çizelge 4. 6: *n*-Hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin metal bağlama aktivitesi (μ M Fe)

Ekstreler	Metal Bağlama Aktivitesi (μ M Fe)
<i>n</i> -Hekzan	289,32
EtOAc	151,46
MeOH	131,01

Sonuçlar *n*-hekzan ekstresinin diğer ekstrelere oranla belirgin bir şekilde metal bağlama aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir.

4.2. *In vivo* Deney Bulguları

4.2.1. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre CP grubunda AST, ALT, ALP ve TP düzeylerinin arttığı görülmüştür. CP grubuna göre tüm ekstre gruplarında AST, ALT ve ALP düzeyleri istatistiki olarak azalırken TP düzeyi sadece EtOAc grubunda azalmış ve diğer ekstre gruplarında anlamlı bulunmamıştır. TB seviyesindeki değişimler ise tüm deneme gruplarında önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.7)

Çizelge 4. 7: Gruplara göre ratların plazma biyokimyasal parametre düzeyleri ($\bar{X} \pm S$)

Parametreler	Kontrol grubu	CP grubu	<i>n</i> -Hekzan grubu	EtOAc grubu	MeOH grubu	P
AST (U/I)	38,80±4,21 ^a	82,80±8,82 ^c	56,60±4,16 ^b	62,00±14,16 ^b	64,60±9,94 ^b	0,001
ALT(U/I)	13,40±3,21 ^a	28,20±4,09 ^b	16,00±3,81 ^a	17,80±5,36 ^a	17,80±3,03 ^a	0,05
ALP(U/I)	67,00±20,34 ^a	267,20±52,06 ^b	67,20±6,14 ^a	80,20±10,43 ^a	71,20±20,30 ^a	0,01
T. Protein (g/dl)	5,52±0,16 ^a	6,06±0,64 ^b	5,64±0,21 ^{a,b}	5,28±0,15 ^a	5,54±0,35 ^{a,b}	0,05
T. Bilirubin (mg/dL)	0,100±0,017	0,002±0,004	0,008±0,013	0,004±0,009	0,004±0,009	önemsiz

^{a,b,c}: Aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiki olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir. (p < 0.05)

Bu çalışmada kontrole göre CP grubunda plazma ve KC dokusu MDA düzeylerinin arttığı ve GSH, GPx ile SOD düzeylerinin düştüğü (P<0.01) belirlenmiştir. Ekstreler açısından değerlendirildiğinde, CP grubuna göre KC dokusu MDA düzeyi MeOH ve EtOAc gruplarında düşerken plazma MDA düzeyi sadece MeOH grubunda istatistiksel (P<0.01) olarak azalmıştır (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9).

Çizelge 4. 8: Gruplara göre ratların plazma oksidan-antioksidan parametre düzeyleri ($\bar{X} \pm S \bar{x}$)

Parametreler	Kontrol grubu	CP grubu	<i>n</i> -Hekzan grubu	EtOAc grubu	MeOH grubu	P
MDA (nmol/ml)	5,21±0,48 ^c	10,47±0,25 ^a	8,01±0,56 ^{ab}	6,83±0,53 ^{abc}	6,50±0,44 ^{bc}	0.001
GSH (nmol/ml)	48,54±9,20 ^a	28,68±2,03 ^c	36,41±2,26 ^{bc}	41,50±3,07 ^{ab}	42,48±2,70 ^{ab}	0.001
GPx(ng/ml)	415,88±10,91 ^a	272,70±12,41 ^c	320,04±9,94 ^{bc}	362,29±12,57 ^{abc}	384,62±7,78 ^{ab}	0.001
SOD(ng/ml)	16,51±0,89 ^a	7,92±0,56 ^c	10,58±0,95 ^{bc}	13,53±0,88 ^{abc}	14,22±1,24 ^{ab}	0.001

^{a,b,c}: Aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiki olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir. ($p < 0.01$)

KC dokusu GSH düzeyindeki artışlar CP'ye göre tüm ekstre gruplarında önemsiz olup plazmada ise MeOH ve EtOAc gruplarında istatistiki ($p < 0.01$) olarak anlamlı artış bulunmuştur. CP grubuna göre KC ve plazma GPx ve SOD düzeyleri sadece MeOH grubunda istatistiki ($p < 0.01$) olarak artış göstermektedir (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9).

Çizelge 4. 9: Gruplara göre rat KC dokusu oksidan-antioksidan parametre düzeyleri ($\bar{X} \pm S \bar{x}$)

Parametreler	Kontrol grubu	CP grubu	<i>n</i> -Hekzan grubu	EtOAc grubu	MeOH grubu	P
MDA (nmol/mg yaş doku)	2,77±0,18 ^b	5,73±0,19 ^a	3,69±0,08 ^{ac}	3,29±0,14 ^{bc}	3,32±0,07 ^{bc}	0.001
GSH (μmol/g yaş doku)	77,74±3,03 ^a	50,20±2,62 ^b	58,06±4,93 ^{ab}	65,25±2,37 ^{ab}	68,41±2,20 ^{ab}	0.001
GPx (ng/mg yaş doku)	290,43±5,09 ^a	140,49±3,37 ^c	180,87±2,80 ^{bc}	217,41±2,84 ^{abc}	233,69±3,32 ^{ab}	0.001
SOD (ng/mg yaş doku)	258,34±1,53 ^a	169,28±1,84 ^c	208,99±1,21 ^{abc}	227,61±1,37 ^{abc}	237,23±1,07 ^{ab}	0.001

^{a,b,c}: Aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiki olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir. ($p < 0.01$)

Kontrol grubuna göre CP grubunda KC ve plazma TNF- α ve IL-1 β düzeyleri artarken IL-10 düzeyi ise düşük ($p < 0.01$) bulunmuştur. CP grubuna göre KC ve plazma TNF- α ve IL-1 β düzeyleri sadece MeOH grubunda istatistiki ($p < 0.01$) olarak düşerken IL-10 düzeyleri

ise aynı grupta istatistiki artış göstermiştir. Diğer gruplardaki değişimler CP grubuna göre önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.10 ve Çizelge 4.11).

Çizelge 4. 10: Gruplara göre ratların plazma sitokin parametre düzeyleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Parametreler	Kontrol	CP grubu	n-Hekzan grubu	EtOAc grubu	MeOH grubu	P
IL-1 β (pg/ml)	125,48 $\pm$ 6,70 ^a	243,92 $\pm$ 18,02 ^c	193,42 $\pm$ 6,62 ^{bc}	157,21 $\pm$ 6,39 ^{abc}	141,99 $\pm$ 7,02 ^{ab}	0.001
IL-10 (pg/ml)	307,18 $\pm$ 7,14 ^a	135,18 $\pm$ 11,62 ^c	218,83 $\pm$ 19,53 ^{bc}	251,99 $\pm$ 17,15 ^{abc}	259,91 $\pm$ 18,88 ^{ab}	0.001
TNF- α (pg/ml)	76,67 $\pm$ 5,07 ^c	234,17 $\pm$ 32,61 ^a	172,39 $\pm$ 10,01 ^{ab}	118,86 $\pm$ 5,97 ^{abc}	97,15 $\pm$ 6,19 ^{bc}	0.001

^{a,b,c}: Aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiki olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir. (p < 0.01)

Çizelge 4. 11: Gruplara göre ratların KC doku sitokin parametre düzeyleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Parametreler	Kontrol	CP grubu	n-Hekzan grubu	EtOAc grubu	MeOH grubu	P
IL-1 β (pg/g yaş doku)	124,56 $\pm$ 1,98 ^c	255,75 $\pm$ 6,23 ^a	185,59 $\pm$ 1,64 ^{ab}	159,29 $\pm$ 2,48 ^{abc}	152,28 $\pm$ 2,76 ^{bc}	0.001
IL-10 (pg/g yaş doku)	223,87 $\pm$ 3,38 ^a	85,52 $\pm$ 1,30 ^c	127,76 $\pm$ 2,38 ^{bc}	166,47 $\pm$ 3,05 ^{abc}	179,60 $\pm$ 4,06 ^{ab}	0.001
TNF- α (ng/g yaş doku)	82,80 $\pm$ 2,12 ^c	158,50 $\pm$ 5,77 ^a	120,11 $\pm$ 4,55 ^{ab}	99,40 $\pm$ 3,18 ^{abc}	86,82 $\pm$ 1,38 ^{bc}	0.001

^{a,b,c}: Aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiki olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p < 0.01)

4.2.2. Histopatolojik İnceleme Bulguları

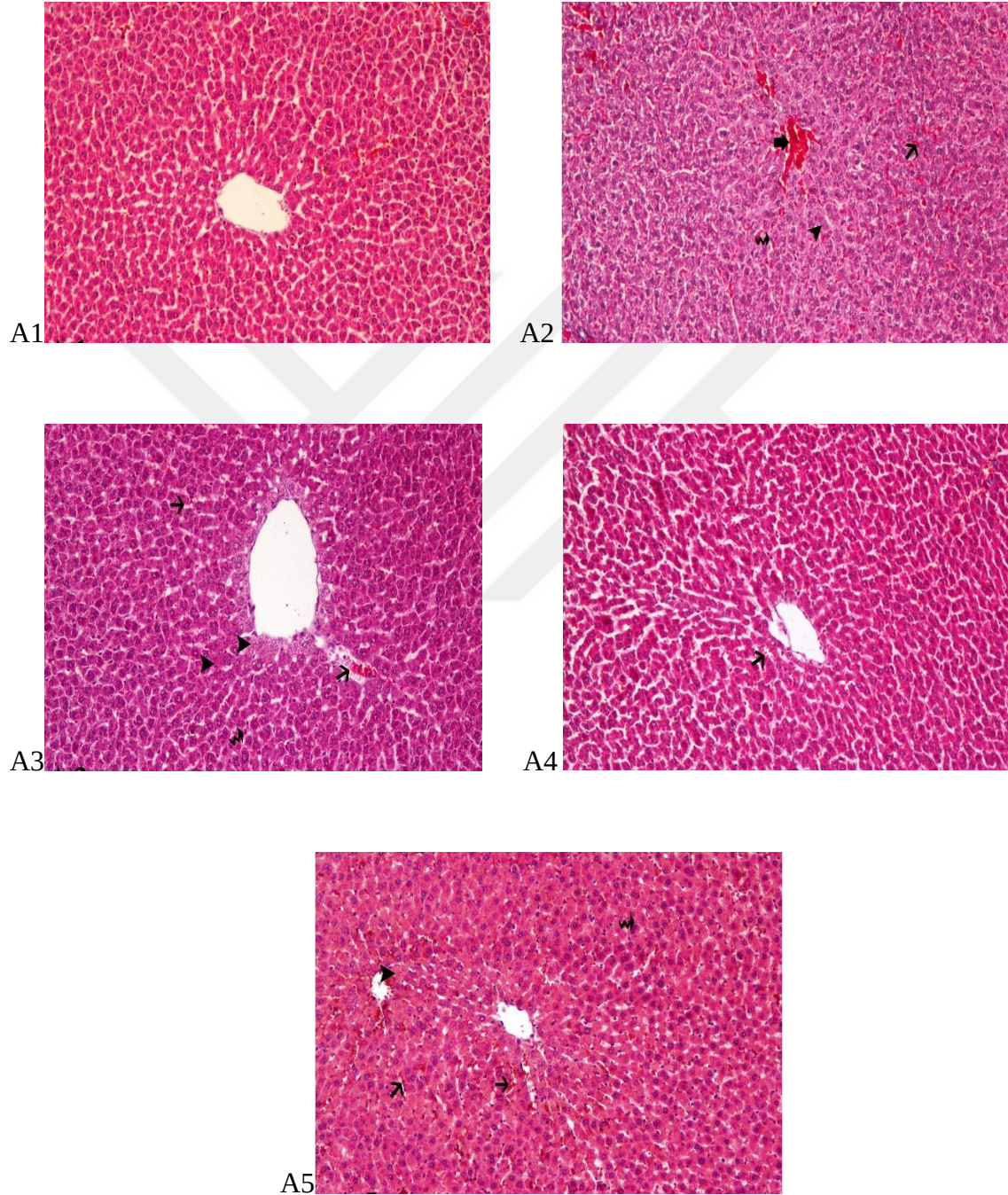
Ratlarda CP toksikasyonuna karşı KC dokusuna ait tüm grupların histopatolojik skorlama değerleri Çizelge 4.12’de ve histopatolojik inceleme görüntüleri Şekil 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4. 12: Tüm grupların KC dokusuna ait histopatolojik skorlama değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Histopatolojik veriler	Kontrol	CP grubu	n-Hekzan grubu	EtOAc grubu	MeOH grubu	P
Vena sentraliste hiperemi	0.0 $\pm$ 0.0 ^d	2.27 $\pm$ 0.17 ^a	1.77 $\pm$ 0.21 ^{ab}	0.73 $\pm$ 0.23 ^c	1.41 $\pm$ 0.35 ^b	0.001
Sinuzoidal dilatasyon ve hiperemi	0.0 $\pm$ 0.0 ^c	2.10 $\pm$ 0.26 ^a	1.60 $\pm$ 0.22 ^a	0.73 $\pm$ 0.23 ^b	1.60 $\pm$ 0.22 ^a	0.001

Vakuoler dejenerasyon	0.0±0.0 ^d	2.27±0.17 ^a	1.77±0.21 ^b	1.10±0.00 ^c	1.77±0.21 ^b	0.001
Kupffer yıldız hücreleri	0.0±0.0 ^c	2.10±0.37 ^a	1.77±0.21 ^a	0.73±0.23 ^b	1.77±0.21 ^a	0.001

^{a,b,c,d}: Aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiki olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p < 0.01$)



Şekil 4. 3: Ratlarda CP toksikasyonuna karşı KC dokusunda enginar yaprağının *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin etkinliğinin histopatolojik görünümü

(A1) Kontrol grubu 10 gün DMSO, (A2) 200 mg/kg/7.gün, tek doz CP, (A3) 1 g/kg/10 gün enginar yaprağı MeOH ekstresi ve 200 mg/kg/7.gün, tek doz CP (A4) 1 g/kg/10 gün enginar yaprağı EtOAc ekstresi ve 200 mg/kg/7.gün, tek doz CP (A5) 1 g/kg/10 gün enginar yaprağı *n*-hekzan ekstresi ve 200 mg/kg/7.gün, tek doz CP uygulanan ratları göstermektedir. Tüm kesitler H&E ile boyanmıştır. Orijinal büyütme oranı olarak 20X objektif büyütmesi ile 100µm bar kalınlığında kesitler incelenmiştir. Kalın oklar sırasıyla ratların KC dokusunda Vena sentralislerde hiperemi (Şekil 4.3-A2) göstermektedir. İnce oklar sırasıyla KC dokusunda sinuzoidal dilatasyon ve hiperemi (Şekil 4.3-A2, Şekil 4.3-A3, Şekil 4.3-A4, Şekil 4.3-A5) göstermektedir. Ok başı sırasıyla KC dokusunda hepatositlerde vakuoler dejenerasyon alanlarını (Şekil 4.3-A2, Şekil 4.3-A3, Şekil 4.3-A5) göstermektedir. Kıvrımlı ok sırasıyla KC dokusunda Kupffer yıldız hücrelerindeki artışı (Şekil 4.3-A2, Şekil 4.3-A3, Şekil 4.3-A5) göstermektedir.

Tüm gruplardaki KC dokusundaki histopatolojik değişimler değerlendirildiğinde kontrol grupta histopatolojik değişim bulunmazken CP grubunda kontrole göre vena sentralislerde hiperemi, sinuzoidal dilatasyon ve hiperemi, vakuoler dejenerasyon ve Kupffer yıldız hücrelerinde artış (Şekil 4.3-A2) belirlenmiştir. CP grubuna göre MeOH grubunda vena sentralislerde hiperemi ve vakuoler dejenerasyonda önemli düzeyde azalma (Şekil 4.3-A3) tespit edilirken *n*-hekzan grubunda sadece vakuoler dejenerasyonda azalma görülmektedir (Şekil 4.3-A5). EtOAc grubunda ise CP'ye göre vena sentralislerde hiperemi, sinuzoidal dilatasyon ve hiperemi, vakuoler dejenerasyon ve Kupffer yıldız hücrelerindeki artışın önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3-A4).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada farklı çözücülerde hazırlanan enginar yaprak ekstratlarının *in vitro* antioksidan etkinliği ile *in vivo* olarak CP nedenli akut toksikasyona karşı rat KC'indeki potansiyel koruyucu etkinliği araştırılmıştır.

Doğal bir antioksidan olan enginar ve ekstraktlarına olan ilgi, onun çok yönlü terapötik etki göstermesinden kaynaklanmaktadır (Biel vd., 2020). Bilindiği üzere oksidatif stres, ROS seviyesinin aşırı artması nedeniyle enzimatik (SOD, CAT, GPx, GSH) ve non-enzimatik antioksidan (vitamin E, vitamin C, karotenler, flavonoidler, polifenoller vd.) kapasitenin yetersiz kalarak dengenin oksidanlar yönüne kayması ile karakterizedir (Salekzamani vd., 2019). Artan oksidatif stresin yaşlanma, diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, Parkinson ve Alzheimer gibi pek çok hastalıkta rol oynadığı bildirilirken enginar gibi güçlü antioksidan aktiviteye sahip bitkilerin içerdiği polifenoller, vitamin ve mineraller ile ROS üretimini inhibe ederek ve radikalleri indirgeyerek oksidatif strese bağlı olarak gelişen hastalık riskini azaltmada rol oynadığı bildirilmektedir (Valko vd., 2007; Salekzamani vd., 2019). Nitekim *C. scolymus* yapraklarında bulunan kafeoilkinik asit türevleri, luteolin ve apigeninin güçlü antioksidan özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Demir ve Ağaoğlu, 2021). Bitkilerdeki fenolik bileşikler, fenol halkasındaki OH gruplarının sayısı oranında serbest radikalleri bağlayarak veya metallerle şelat yaparak antioksidan aktivitelerini gösteren doğal kaynaklardır (Falowo vd., 2014). Ayrıca fenolik bileşikler, düşük konsantrasyonlarda oksidasyonu geciktirme, yavaşlatma veya önleme ve serbest radikallere dönüştürüldüğünde stabil bir formda kalma özelliğine sahiptir (Kalogianni vd., 2020). Yapılan çalışmalarda yeşil küre enginar yapraklarındaki toplam fenolik içeriği 8760-9561 mg CAE (klorojenik asit eşdeğerleri)/100 g kuru madde ve 3167 mg kafeik asit eşdeğeri/100 g kuru madde olarak belirlenmiştir (Wang vd., 2003; Salata ve Gruszecki, 2010). Çalışmamızda GAE standart olarak esas alındığında *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstratlarının toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 0,167 mg; 0,917 mg; 5,735 mg GAE/g ekstre düzeyinde bulunmuştur. Buna göre yaprağın metanol ekstresinde 2795 mg CAE/100 g kuru madde olarak bildirdiği bu düzeyden yüksek bulunması testlerde kullanılan standartların farklı oluşundan kaynaklanmış olabilir (Biel vd., 2020).

Antioksidan bileşiklerin çok yönlü mekanizmaları göz önüne alındığında bunların aktivitelerinin belirlenmesinde çeşitli tiplerde ölçüm yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır (Biel vd., 2020). Antioksidanların serbest radikal süpürme aktivitelerinin tayininde yaygın olarak kullanılan DPPH kararlı bir serbest radikal (DPPH•) olup mor renkli bu madde antioksidanlarla etkileştiğinde sarı renkli indirgenmiş DPPH formuna (DPPH-H) dönüşmektedir (Chen ve Yen, 2007; Wojdyło vd., 2007). Bu nedenle ölçülen absorbans ne kadar düşük ise antioksidanın serbest radikal süpürme aktivitesi de o derece yüksek kabul edilmektedir (Avcı vd., 2006; Chen ve Yen, 2007). Buna göre bu çalışmada DPPH radikal süpürücü aktivitesinin MeOH ekstresinde (87,73% inhibisyon) en yüksek olması bu ekstrede total fenolik madde miktarının da diğerlerine göre yüksek olması ile açıklanabilir. Ayrıca bitki ekstraktlarının antioksidan özelliğinin, hidrojen atomları veya elektronları vericisi olan ve serbest radikalleri (DPPH gibi) nötralize etme yeteneği bulunan polifenollerden kaynaklandığı bildirimiyle de bu sonuçlar uyumlu bulunmaktadır (Sahoo vd., 2013). Nitekim kafeolkuinik asit ve flavonoidler gibi polifenoliklerin antioksidan kapasitesi yapılarındaki H verebilen OH gruplarının sayısı ve yerleşimi ile ilişkili bulunmaktadır. Buna göre yapılan bir çalışmada flavonoidlerden kateşindeki 3-OH grubu ile luteolindeki 1,4-piron parçasının DPPH radikalini (DPPH•) süpürmede benzer bir rolü oynadığı hatta kateşinin luteoline göre radikallere tek elektron transferinde daha etkili olduğu gösterilmektedir. Bu sonuca göre bunlar fenoksil radikalinin rezonans stabilitesi nedeniyle, reaktif radikallere kolayca hidrojen verebilir ve böylece serbest radikal zincir reaksiyonlarını geciktirebilmektedir (Ahmadi vd., 2020). Sunulan çalışmada bu aktivitenin *n*-hekzan ve EtOAc ekstratlarında total fenolik madde miktarının azalmasına bağlı olarak düştüğü de görülmektedir. Biel vd. (2020) enginar metanollü ekstresinde bu aktiviteyi trolox standartına göre yaklaşık olarak 44% inhibisyonda bildirmekte olup sunulan çalışma sonuçlarındaki farklılık askorbik asit standartına göre değerlendirme yapılmasıyla ilişkili olabilir.

Çalışmada ekstratlerde kullanılan çözücüler polariteleri açısından değerlendirildiğinde en nonpolar çözücü olarak *n*-hekzan>EtOAc>MeOH şeklinde sıralanmaktadır. Buna göre ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin radikal süpürücü aktiviteyi etkilediği ve polar ekstratlerde bu aktivitenin daha fazla olduğu bildirilmektedir (Hayouni vd., 2007; Özcan vd., 2007). Yapılan benzer bir çalışmada, zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağının metanolik

ekstresinin diğer ekstrelelere (EtOAc ve *n*-hekzan) göre total fenolik madde miktarı, linoleik asit sisteminde ferrik tiyosiyanat metodu ile antioksidan aktivitesi ile indirgeme kapasitesi açısından daha etkin olduğu rapor edilmiştir (Erdoğan vd., 2020). Nitekim benzer bir çalışmada bitki ekstraktları arasında DPPH radikali süpürme aktivitesinin metanol ekstraktında diğer ekstrelelere göre (aseton ve EtOAc) en etkili olduğunu bildirilmiştir (Miliauskas vd., 2004). Başka bir çalışmada ise sıcak su ve metanol ekstraktlarının *n*-butanol, etil asetat ve kloroform ekstraktlarına göre daha iyi olduğu belirtilmiştir (Shon vd., 2003). Konuya ilişkin bir başka çalışmada ise su distilasyonu ile elde edilen çörek otu (*Nigella sativa* L.) esansiyel yağında *in vitro* antioksidan aktivitelerde bulunan farklı sonuçların kullanılan çözücü ve ekstraksiyon yöntemlerinin farklılığından kaynaklanmış olabileceğini bildirilmiştir (Avcı vd., 2022). Buna göre bu bildirimlerin dışında bitkilerin fenolik madde içeriklerini etkileyen faktörler arasında aynı bitkinin farklı türleri, farklı tarımsal uygulamalar, gün ışığı, iklim gibi farklı coğrafi koşullar ile hasat zamanı ve depolama şartları da yer almaktadır (Heimler vd., 2007). Belirtilen bu faktörler göz önüne alındığında sunulan çalışmadaki *in vitro* deney sonuçlarındaki farklılıkların bu faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Hücrenin farklı bölümlerinde açığa çıkan süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı ilk savunma hattını oluşturan SOD, süperoksit radikalini H_2O_2 ve O_2 'e dönüştüren metalloenzimlerden (Halliwell vd., 2000). Genel olarak yüksek yapılı bitkilerde SOD'un Mn-SOD, Fe-SOD ve CuZn-SOD olmak üzere üç farklı izoenzimi bulunmakta olup bunlar mitokondri, peroksizom, kloroplast gibi hücrenin farklı organellerinde bulunmaktadır (Fridovich, 1986; Corpas vd., 2006). Bu çalışmada süperoksit radikal süpürme aktivitesi EtOAc > MeOH > *n*-hekzan şeklinde sıralanmış olup konuya ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır. Benzer çözücülerin kullanıldığı bir çalışmada zeytin yaprağı ekstrelerinde süperoksit radikali süpürücü aktivitenin EtOAc > MeOH > *n*-hekzan şeklinde belirlendiğini bildirmekte olup bu çalışma sonuçları da ekstre çözücülerini açısından benzerlik göstermektedir (Erdoğan vd., 2020).

Lipid peroksidasyonu üzerine yapılan çalışmalarda iyon katalizörü olarak Fe kullanılmaktadır. Bir geçiş metali olan Fe, biyolojik önemi ve peroksidatif olayları başlatabilen türler oluşturmak için oksijen ile veya reaksiyonu ilerleten lipid peroksidatlarla doğrudan reaksiyona girme kabiliyeti bulunması nedeniyle lipid peroksidasyonunun bir katalizörü olarak görev yapmaktadır (Dinis vd., 1994). Bu

çalışmada metal bağlama aktivitesi *n*-hekzan ekstresinde (289,32 µM Fe) en yüksek olup diğerleri EtOAc > MeOH olarak sıralanmıştır ve konuya ilişkin benzer bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Kanser kemoterapilerinde yaygın olarak kullanılan CP'nin sitotoksik etkileri ilacın kullanımını sınırlamakla birlikte maruziyet sonrası redoks dengesinin bozulmasına aracılık eden oksidatif stresi artırması da pek çok biyokimyasal ve fizyolojik rahatsızlıklara yol açmaktadır (Nagi vd., 2011). Nitekim tümörlerin antineoplastik ilaçlara direnç göstermesi nedeniyle CP gibi ilaçların aralıklı olarak yüksek dozda kullanılması tedavide avantaj sağlarken kalp, KC ve böbrekte istenmeyen yan etkilere de neden olmaktadır (Cavalletti vd., 1986). Biyolojik olarak inaktif olan CP' nin toksik yan etkileri metabolize edilmesiyle ortaya çıkan akrolein ve CAA ile bağlantılıdır (Ayza vd., 2022).

KC sekretorik ve ekskretorik fonksiyonları yanında detoksifikasyon yapması nedeniyle metabolizma için en önemli organ olup terapötik ajanlar ve çevresel toksinler gibi kimyasallara maruziyeti hepatotoksisiteye neden olmaktadır. Karaciğer fonksiyonları için altın standart klinik kimya belirteci olarak kabul edilen serum ALT aktivitesi hepatotoksisitenin en sık güvenilen laboratuvar göstergesidir. Hasarlı miyositlerden ve hepatositlerden salınan AST aktivitesi ise ALT aktivitesine kıyasla karaciğer fonksiyonları için daha az spesifiktir (Ozer vd., 2008). Buna göre AST ve ALT gibi sitoplazmik transaminazların serumdaki artışı KC'deki ve ALP'nin artışı ise hepatobilier hasarın ve dolayısıyla toksik profilin bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Aubrecht vd., 2013; Abdelfattah-Hassan vd., 2019).

Lösemi, lenfoma ve meme kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılan CP uygulamalarında, geçici de olsa serum enzim yükselmeleri ve akut karaciğer hasarı vakaları görülmektedir. Aynı zamanda yüksek dozlarda verildiğinde ilaç akut sinüzoidal obstrüksiyon sendromuna neden olabilmektedir. Ayrıca tedavi edilen kanser hastalarının yaklaşık %43'ünde serum aminotransferaz düzeylerinde hafif ve geçici yükselmeler görülürken bu anormallikler genellikle asemptomatiktir ve dozun değiştirilmesini gerektirmemektedir. Enzim yükselmeleri, daha ziyade yüksek dozlarda ve intravenöz tedavilerde yaygın olup doz değişikliği veya CP'nin tamamen kesilmesini gerektiren enzim yükselmeleri ile ortaya çıkabilir (İnt. Kay.7). Nitekim CP ve CCl₄ gibi

hepatotoksik ajanların KC'de transaminazların artışı ile seyreden hasara neden olduğu pekçok çalışmada görülmektedir (Aktay vd., 2000; Mehmetçik vd., 2008; Abdelfattah-Hassan vd., 2019). Sunulan çalışmada kontrole göre CP (200 mg/kg, *i.p.*, 7. gün, tek doz) grubundaki AST, ALT ve ALP düzeylerindeki artış, ilacın KC'de metabolize edilmesiyle ortaya çıkan akrolein ve CAA gibi toksik metabolitlerin ROS üretimini tetiklemesi, buna bağlı artan lipid peroksidasyonun hepatositleri lize etmesi ve sitoplazmik hepatik transaminazların kan dolaşımına geçmesinden kaynaklanmaktadır.

Konuya ilişkin ratlarda yapılan bir çalışmada CP (20 mg/kg/gün, *i.p.*, 2 hafta) uygulamasının AST, ALT ve ALP'yi artırdığı bildirimi sonuçlarımız ile uyumlu bulunurken globulini etkilemediği, TP'yi, albümin ve albümin/globulin oranını düşürdüğü bildirimi ile uyumlu bulunmamıştır (Abdelfattah-Hassan vd., 2019). Konuya ilişkin yapılan başka bir çalışmada ratlara 3 gün süreyle 50 mg/kg, *i.m* CP uygulanmasının TP, lizozim, seruloplazmin ve γ -globulin düzeylerini 0. günde etki etkilemediği ancak 8., 15. ve 22. günlerde kontrole göre düşürdüğü bildirilmiştir (Wójcik ve Dąbkowska, 2010). Aynı zamanda CP'nin immun sistemi baskıladığı ve hepatositlerde protein sentezinden sorumlu enzim aktivitelerini inhibe ettiğini belirtmiştir. Konuya ilişkin yapılan farklı çalışmalarda düşük (150 mg/kg) ve yüksek (300 mg/kg) doz asetaminofenin indüklediği akut hepatotoksisite proteomiks analizleri sonucu karaciğere spesifik sekiz protein belirtecinin doza bağlı olarak ilk 24 saat içinde arttığı rapor edilmiş (Hu vd., 2014), benzer şekilde naftalen verilmesinin serum transaminazları ile birlikte TP düzeyini de artırdığı, bu artışın karaciğerin kronik enflamasyonuna bağlı olarak geliştiği bildirilmiştir (Chukwunonyelum vd., 2016). Bu bildirimlerde protein artışının sebebi olarak sitoplazmik ve nükleer proteinlerin hücre hasarı yada ölümü ile hücre dışına sızması veya proteoliz ile hücre zarından salgılanması olabileceği belirtilmektedir (Hu vd., 2014). Çalışmamızda ise 200 mg/kg CP uygulamasının TP artırdığı ve TB düzeylerindeki değişimlerin anlamlı olmadığı görülmüş olup bu benzer çalışma bildirimleriyle kısmen uyumlu bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda çeşitli dozlardaki CP uygulamalarının AST, ALT, ALP, CK, laktat dehidrojenaz (LDH) gibi enzimleri artırdığı ve KC'de histopatolojik değişimlere yol açtığı bildirilmiştir (Senthilkumar vd., 2006a; Avcı vd., 2016). ROS'ların artışı veya bunların etkisizleştirilmesinin neden olduğu dokulardaki patolojik değişimlerin belirlenmesi hasarların tespitinde oldukça önemlidir (Senthilkumar vd., 2006b).

Çalışmanın histopatolojik sonuçlarına göre CP verilen ratların KC dokusunda sinüzoidal dilatasyon, vena sentralislerde hiperemi, vakuoler dejenerasyon ve Kupferr hücre aktivasyonu belirlenmiş olup (Şekil 4.3-A2) bu bulgular CP'nin toksik metaboliti olan akroleinin antioksidan savunma sistemlerini aşarak yüksek miktarda ROS oluşumuna yol açtığı bildirimlerini destekler niteliktedir (Senthilkumar vd., 2006b; McCarroll vd., 2008). Elde edilen histopatolojik değişimler aynı zamanda CP grubundaki plazma enzim aktivitelerinin artışıyla paralellik göstermekte olup bu sonucu destekler niteliktedir. Nitekim yüksek (200 mg/kg, *i.p.*) ve düşük (5 mg/kg, *i.p.*) doz CP uygulamalarının KC sinuzoidlerinde dilatasyon, hiperemi, dejenerasyon, nekroz ve yağlanma oluşturduğu rapor edilmiştir (Karaboğa, 2019).

KC hastalıklarının tedavisinde Asteraceae familyasına ait olan *Silybum marianum* ve *C. scolymus* gibi bazı bitkiler oldukça popülerdir. Koleretik aktivitesi nedeniyle geleneksel olarak hepatobilier şikayetlerde ve hepato-rejenerasyonda kullanılan enginarın, kendisi veya yaprak ekstralarının *in vitro* ve *in vivo* antioksidan aktivite ve hepatoprotektif etki gösterdikleri çalışmalarda belirtilmiştir (Mehmetçik vd., 2008; Biel vd., 2020; Albayrak vd., 2022). Aynı zamanda ticari olarak kullanılan tıbbi bitkilerin farklı ekstralarının antioksidan gücü ve buna bağlı terapötik etkilerinin içerdikleri fenolik madde çeşidine ve miktarına bağlı olarak değiştiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Speroni vd., 2003; Avcı vd., 2006; Avcı vd., 2022). Buna ilişkin olarak sunulan çalışmanın *in vitro* deneylerinde ekstraların (*n*-hekzan, EtOAc ve MeOH) toplam fenolik madde miktarları galik asit standardına göre sırasıyla 5,735 mg; 0,917 mg; 0,167 mg GAE/g ekstre düzeyinde belirlenmiştir (Albayrak vd., 2022). Bu çalışmada, aynı ekstraların fitokimyasal analiz sonuçlarına göre, luteolin-7-O-glycoside, apigenin 7-glikosit, apigenin ve okso oktadekatrienoik asit, hidroksi oktadekatrienoik asit ve hidroksi oktadekadienoik asit bileşikleri EtOAc ekstresinde MeOH ekstresinden daha yüksek bulunurken, apigenin-7-O -rutinozit ise sadece EtOAc ekstresinde bulunmuş ve tanımlanmıştır. *n*-Hekzan ekstresinde dikafeoil kinik asit izomer 1, luteolin-7-O-glikozit, apigenin ve yağ asitlerinden okso oktadekatrienoik asit, hidroksi oktadekatrienoik asit ve hidroksi oktadekadieniok asit bileşikleri bu çalışma kapsamında belirlenmiştir. Nitekim *Cynara* türlerinin flavonoit glikozitler (luteolin ve apigenin türevleri) ve kafeoilkinik asitin mono- ve di-izomerleri gibi fenolik bileşikleri açısından zengin olduğu bildirilmektedir (Gouveia ve Castilho, 2012).

Bu bitkinin biyolojik özelliklerinden sorumlu ana bileşikler olarak fenolik bileşikler tanımlanmaktadır (Pandino vd., 2012). 1,3-O-dikafeoilkinik asit (sinarin) genellikle biyolojik aktivitelerden sorumlu olduğu kabul edilmekte, ancak EtOAc ekstresinde yüksek oranda tespit edilen apigenin ve luteolin türevli flavonoit glikozitlerin de özellikle yüksek antioksidan ve hepatoprotektif aktivitesi bulunmaktadır (Xu et al. 2022). Ratlarda apigenin-7-glukozitin hepatoprotektif aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada CCl₄ ile indüklenen KC hasarına karşı apigenin -7-glukosidin koruyucu etkinliği ortaya konmuştur. Buna göre apigenin -7-glukosidin KC dokusundaki AST, ALT aktivitelerinin artışı, MDA ve 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) oluşumunu ve GSH'nin tükenmesini engelleyerek koruyucu etki gösterdiği bildirilmektedir (Zheng vd., 2005). Bunun yanı sıra luteolin türevleri ile ilgili hepatoprotektif aktivite çalışmaları da mevcuttur. Yapılan *in vivo* bir çalışmada *i.p.* luteolin enjeksiyonunun endoplazmik retikulum stresini azaltarak hepatoksisiteyi önlediği gösterilmiştir (Jegal vd., 2020).

Çalışmamızda, CP grubuna göre tüm ekstre gruplarında AST, ALT ve ALP düzeyleri istatistiki olarak azalırken TP düzeyi sadece EtOAc grubunda azalmış ve diğer ekstre gruplarında anlamlı bulunmamıştır. TB seviyesindeki değişimler ise CP grubu da dahil tüm deneme gruplarında önemsiz bulunmuştur. Konuya ilişkin yapılan çalışmalarda CCl₄'ün neden olduğu KC toksisitesinde enginar yaprak ekstresinin ALT, AST ve MDA düzeylerini azalttığı ve histopatolojik değişimleri iyileştirdiği bildirimi çalışma sonuçlarımızla uyumlu bulunmaktadır (Mehmetçik vd., 2008). Benzer şekilde CCl₄ toksikasyonunda 4 farklı yaprak ekstresinin ve saf fenoliklerin uygulandığı bir çalışmada klorojenik ve kaffeoil türevi en yüksek olan ekstrenin hepatoprotektif etki gösterdiği ve ayrıca saf fenoliklerin tek başına aynı etkiyi göstermediği bildirilmektedir (Speroni vd., 2003). Parasetamolün indüklediği KC hasarına karşı enginar bitkisinin farklı bölümlerinin etanolik ekstralarının araştırıldığı çalışmada ise ekstraların serum ALT ve AST seviyelerini düşürürken ALP, kreatinin, BUN seviyelerini düşürmediği belirtilmektedir (Sümer vd., 2020). Konuya ilişkin daha önce yaptığımız bir çalışmada bazı bitkilerin sulu bazı bitkilerin ise etanolik ekstralarının KC enzimlerini azalttığı ve hepatoprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Avcı vd., 2006). Bu bildirimler dikkate alındığında uzun yıllardır KC hastalıklarının iyileştirilmesinde kullanılan enginarın farklı ekstralarının yanı sıra yaprak gibi farklı kısımlarının da önemli etkileri gösterdiği görülmektedir. Konuya ilişkin yeterli çalışma olmamakla birlikte, CCl₄ ile indüklenen

hepatotoksosite modelinde enginarın tüm kısımlarının etanolik ekstraktının serum ALT ve AST seviyelerini düşürdüğü görülmektedir (Aktay vd., 2000).

Çalışmanın histopatolojik sonuçları ekstre verilen gruplar açısından değerlendirildiğinde CP grubuna göre EtOAc grubunda KC dokusunda sinüzoidal dilatasyon, vena sentralislerde hiperemi, vakuoler dejenerasyon ve Kupferr hücrelerindeki artışın önemli düzeyde düştüğü ve dokuda iyileşme sağladığı görülmektedir. MeOH (vena sentralislerde hiperemi, vakuoler dejenerasyon) ve *n*-hekzan (vakuoler dejenerasyon) gruplarında ise iyileşmenin ise sınırlı kaldığı görülmektedir (Şekil 4.3-A3- Şekil4.3-A5). Elde edilen histopatolojik iyileşmeler tüm ekstre gruplarındaki plazma enzim aktivitelerinin düşüşü ile de desteklenmektedir. Buna göre CP toksikasyonuna karşı özellikle MeOH ve EtOAc ekstreleri KC transaminazlarının düşürülmesine ve histopatolojik olarak doku iyileştirilmesine farklı seviyelerde destek olduğu görülmektedir.

İmmunosupresif ve kemoterapötik amaçla kullanılan CP, KC mikrozomal P450 oksidaz ile metabolize edildiğinde ortaya çıkan fosforamid hardalı ilacın antineoplastik etkisinden sorumludur. Ancak ikinci metaboliti olan akrolein toksiktir ve ksantin oksidazın aktivasyonu yoluyla ROS'ların artışını sağlayarak antioksidan molekülleri tüketmektedir (Fouad vd., 2016; Chen vd., 2019). Artan ROS'lar dış orbitallerinde ortaklanmamış elektron bulundurduğundan etkisiz hale getirilmezlerse enzim, reseptör ve iyon pompaları gibi makromoleküllerin fonksiyonlarına hasar vermektedir (Birdane vd., 2022). Bu durum KC'in antioksidan kapasitesinin aşılmasına ve multiple toksisiteye neden olmaktadır. Ortaya çıkan oksidatif stres lipidlerin peroksidasyonunun artışına yol açmaktadır. MDA, ROS'ların indüklediği lipid peroksidasyonunun en önemli belirteçlerinden biri olup buna karşı GSH gibi non enzimatik ve GPx, SOD ve CAT gibi enzimatik antioksidan savunma sistemleri de membranların oksidasyonunu önlenmeye çalışmaktadır (Güllü ve Avcı, 2013; Denk vd., 2022). Nitekim CP'nin KC'de transaminazların artışı ile seyreden hasara neden olduğu pekçok çalışmada görülmektedir (Aktay vd., 2000; Mehmetçik vd., 2008; Abdelfattah-Hassan vd., 2019). Buna ilişkin olarak yapılan bir çalışmada CP uygulamasının KC dokusundaki MDA'yı artırdığı, SOD, GPx ile CAT'ı tükettiği ve histopatolojik değişimlere yol açtığı bildirilmektedir (Abdelfattah-Hassan vd., 2019). Sunulan bu çalışmada CP uygulanmasının plazma ve KC'de MDA düzeyini artırması ve GSH, GPx ile SOD aktivitesini düşürmesi, toksik metabolitlerin tetiklediği lipid peroksidasyona karşı hücrenin antioksidan savunma

kapasitesinin aşıldığı ve buna bağlı olarak antioksidan moleküllerin ve enzimlerinin tüketildiğini göstermekte olup diğer bildirimlerle (Fouad vd., 2016; Abdelfattah-Hassan vd., 2019) uyumlu bulunmaktadır. Bu sonuçlar, plazma transaminaz düzeylerindeki artış ve histopatolojik değişimlerle de desteklenmekte olup KC'de CP metabolitlerinin neden olduğu lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. CP'nin neden olduğu toksisitenin hücrel mekanizması, ilacın dokularda serbest radikallerin üretimi tetiklemesi yoluyla oksidatif stresi artırmasına bağlanmaktadır (Basu vd., 2015). Nitekim CP metaboliti olan akroleinin GSH ile bağlanıp hücrel hasar yaptığı, ROS oluşuma yol açtığı ve mutajenik etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Senthilkumar vd., 2006b). Benzer bir çalışmada CP uygulamasının hem karaciğerde hem de hipokampüste GSH'ı tüketirken ROS, MDA ve DNA hasarı belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksi guanozin (8-OHdG) oluşumunu artırdığı ve bunun oksidatif genomik hasarı gösterdiği belirtilmiştir (Yadav vd., 2023).

Tüm ekstreler oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirildiğinde, MeOH grubunda hem KC dokusu hem de plazmada MDA'nın düşmesi, GPx ile SOD'un artması ve GSH'ın sadece plazmadaki artışının önemli olması MeOH ekstresinin diğerlerine göre daha antioksidan ve hepatoprotektif etkili olduğunu göstermektedir. Bu yönü ile çalışmanın *in vitro* deneylerindeki sonuçlar dikkate alındığında toplam fenolik madde miktarının MeOH ekstresinde diğerlerine göre daha fazla olduğu (Albayrak vd., 2022) bildirimi de oksidan-antioksidan parametreleri destekler niteliktedir. Nitekim ekstrelerdeki fenolik madde miktarının ve çeşidinin farmakolojik özelliklerini etkilediği bilinmektedir. Farklı *C. scolymus* ekstraktlarının koleretik aktivite ve antioksidan etkinliğine ilişkin bulgular, ekstraktın aktif maddelerdeki farklı bileşimlerinin bazı farklı etkilere neden olabileceğini göstermektedir (Speroni vd., 2003). Bu çalışmada MeOH ekstresinde kafeoil heksozit, kinik asit, sirinjik asit O-heksozit, kafeoil kinik asit izomeri, pinorezinol 4-O- β -D-glikozit, dikafeoil kinik asit izomerlerinin varlığı diğer ekstrele göre daha yüksek oranda tespit edilmiştir. EtOAc ekstresinde ise KC dokusu ve plazmada MDA'nın düştüğü, plazma GSH'nın ise arttığı görülmekte olup bu ekstrede fenolik madde çeşidinin diğerlerine göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. *n*-Hekzan ekstresi toplam fenolik madde miktarı ve çeşidi bakımından en düşük ekstre olup buna paralel olarak tüm *in vitro* ve *in vivo* oksidan-antioksidan parametrelerdeki değişimler de önemsiz bulunmuştur.

In vitro ve *in vivo* çalışmalarda enginar yaprak ekstraktlarındaki sinarin, klorojenik asit ve flavonoidler gibi bileşiklerin ROS'ları süpürücü ve metal iyonlarını şelatlayıcı aktivite gösterdiği buna bağlı olarak biyolojik molekülleri oksidatif hasardan koruduğu (Salem vd., 2015; Salekzamani vd., 2019) belirtilmektedir. Enginarın biyoaktif bileşikleri protein kinazlar, fosfatazlar ve transkripsiyon faktörlerinin de gerekli olduğu hücresel sinyal yollarında radikalleri indirgeyerek, hidrojen donörü, singlet-oksijen süpürücü ve metal şelatörleri olarak hareket etmektedir. Böylece ROS'ları süpürerek ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek hücre membranının hasarını azaltarak antioksidan aktivite göstermektedir (Valko vd., 2007).

Sitokinler uyarılan lenfositler, monositler ve makrofajlar ile diğer bazı somatik hücrelerden sentezlenen, hücrede enflamasyon, büyüme, iyileşme ve yaralanma gibi durumlarda immun sistemi, enflamatuvar olayları ve hematopoezi düzenleyen intersellüler sinyal peptidleridir. Pro-enflamatuvar sitokinlerden TNF- α özellikle Gram negatif bakterin lipopolisakkaridlerine immun cevap olarak makrofajlardan salınmakta ve akut enflamasyonda kemokinlerin üretimini sağlayan önemli bir aracı durumundadır (Yazar vd., 2010). Etkisi TNF- α 'ya benzeyen IL-1 β ise aktive makrofajlar tarafından üretilmekte ve T hücrelerinin aktive edilmesini sağlamaktadır. Anti-enflamatuvar bir sitokin olan IL-10 aktive edilmiş makrofajlar ile T hücreleri tarafından salınmakta ve proenflamatuvar sitokinleri baskılayarak immunosupresif etki göstermektedir. Pro-enflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi vazodilatasyon, çoklu organ yetmezliği ve şok gibi istenmeyen durumlara yol açmaktadır (Netea vd., 2003).

Çalışmada kontrol grubuna göre CP grubunda KC ve plazma TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin artması ve buna karşın IL-10 düzeyinin düşmesi CP'nin toksik metabolitlerinin neden olduğu immun sistemin uyarımına bağlı olarak hücresel enflamasyonun başladığının bir göstergesi olup histopatolojik değişimler de buna işaret etmektedir. Nitekim UV-ışınları, hipoksi, iyonize radyasyon ve kemoterapötik ajanlar gibi hücre dışı faktörlerin apoptozisi uyardığı bilinmektedir. CP gibi alkilleyici ajanlar negatif yüklü nükleik asitlerin nükleofilik gruplarına kovalent bağlarla bağlanarak DNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunu bozarak antineoplastik etki göstermektedir (León-González vd., 2015). Aynı zamanda CP metabolitlerinin artırdığı ROS'lar mitokondri membranındaki sitokrom c (Cyt c)'nin sitozole salınarak proteaz aktive edici faktörle (Apaf-1) birleşmesine neden olur ki bu kompleks apoptosom olarak

bilinmektedir. Apoptosom ise kaspaz 9 (CASP9)'u kaspaz 3 (CASP3)'e çevirerek pro-apoptotik proteinlerin (p53) ve TNF- α 'nın aracılık ettiği bir dizi uyarımla hücrede apoptozisi başlatmakta ve aynı zamanda pro-apoptotik aktivite gösteren Bax proteinin (BCL-2-ilişkili X protein) de inhibisyonuna neden olmaktadır (Raha ve Robinson, 2001). Konuya ilişkin yapılan bir çalışmada CP (20 mg/kg, i.p, 2 hafta) uygulamasının TNF- α , IL-1 β ve CASP 3'ü artırdığı buna karşın B-cell lenfoma-2 (BCL-2) gen ekspresyonunu azalttığı (Abdelfattah-Hassan vd., 2019) bildirimi sunulan çalışma sonuçlarımız ile uyumlu bulunmaktadır. Benzer şekilde tek doz CP (200 mg/kg, i.p) verilmesinin serum transaminazlarını (AST, ALT, ALP), lipid peroksidasyonunu, TB artırdığı, GSH, GPx, SOD ve serum albümin düzeylerini azalttığı belirtilirken; serum TNF- α , KC dokusu TNF- α ile COX-2 gen ekspresyonunun da arttığı bildirimi (Germoush ve Mahmoud, 2014) bu çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir.

In vitro araştırmalar yanında enginar ve yaprak ekstraktlarının antioksidan etkinliğinin gösterildiği pek çok *in vivo* çalışma da bulunmaktadır. Diazinonun neden olduğu KC hasarına karşı enginarın yaprak ekstraktlarının uygulandığı çalışmada hem KC dokusunda AST, ALT, ALP, MDA, TNF- α ve protein karbonil düzeylerinin düştüğü, CAT ve SOD aktivitelerinin ve KC histopatolojisinin iyileştiği bildirilmektedir (Ahmadi vd., 2019). Benzer şekilde ratlarda kadmiyum toksikasyonunda üre, kreatinin, MDA, TNF- α , KC transaminazları ve IL'lerin (IL-1 β ve IL-10) arttığı, KC ve böbrek dokusunda SOD, CAT, GSH ve GPx düzeylerinin azaldığını bildirilen çalışmada enginar yaprak ekstraktı verilmesinin tüm bu olumsuz etkileri gidererek hem hepatorenal oksidatif stresi azalttığı hem de immunosupresif etki gösterdiği belirtilmektedir (Ahmadi vd., 2019). Çalışmada CP grubuna göre ekstre grupları değerlendirildiğinde sadece MeOH grubunda KC ve plazmada TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin önemli düzeyde düşmesi ve IL-10 düzeyinin artması, CP uygulamasının artırdığı enflamasyon ve oksidatif strese karşı fenolik maddelerin antioksidan etkileri ile hücresel apoptozisi ve enflamasyonu önlemede hücresel antioksidan savunma sistemine destek olduğu ifade edilebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Flavonoidler güçlü antioksidan kapasiteleri nedeniyle besinlerdeki en önemli kanserden koruyucu bileşiklerden olup bitkilerin anti-enflamatuvar, antiviral, antibakteriyel, antiülseratif, antiosteoporotik, antiallerjik ve antihepatotoksik gibi pek çok aktiviteleri bu yapılarla ilişkilendirilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle kanser vakalarında kullanılan kemoterapötik ajanlar ile polifenoliklerin birlikte kullanıldığı kombine tedaviler, uygulanan ilacın dozunun ve süresinin azaltılmasında dolayısıyla ilacın toksik ve yan etkilerinin giderilmesinde önemli yer tutmaktadır.

Genel olarak bitkisel ekstrakt çalışmaları değerlendirildiğinde kullanılan çözücünün polaritesine, ekstraksiyon yöntemlerine, zaman ve uygulanan sıcaklığa bağlı olarak ekstrakttaki polifenolik bileşik miktarının ve çeşidinin değişebildiği dolayısıyla antioksidan aktivitenin de bundan etkilendiği dikkate alındığında çalışmanın *in vitro* deney kısmında antioksidan aktivitelerin yanı sıra total fenolik madde miktarı bakımından MeOH ekstresinin dikkati çektiği ve fenolik madde çeşitliliği bakımından ise EtOAc ekstresinin daha değerli bulunduğu görülmektedir. Buna karşın *n*-hekzan ekstresinin belirtilen değerler bakımından en düşük seviyede olduğu görülmektedir.

Sunulan çalışmanın *in vivo* deney kısmında ise her üç ekstrenin de KC transaminaz enzimlerini düşürdüğü görülmekle birlikte MeOH ekstresinin plazma ve KC dokusu lipid peroksidasyonunu azaltırken antioksidan molekülleri artırması, TNF- α ve IL-1 β düzeylerini düşürürken IL-10 düzeyini artırması dikkate alındığında CP'nin neden olduğu enflamasyon ve artan oksidatif strese karşı yüksek düzeyde fenolik madde içeren ekstrenin antioksidan savunma hattına destek olduğu açıkça görülmektedir. KC doku histopatolojisi açısından EtOAc ekstresinin MeOH'a kıyasla iyileştirici etkisinin daha fazla olduğu görülmekle birlikte *n*-hekzan ekstresinin ise antioksidanlar, sitokinler ve histopatolojik incelemeler açısından diğer ekstrele göre etkisiz kaldığı dikkati çekmektedir.

Biyoaktif maddeler açısından değerli bir bitki olan enginar yaprağının özellikle MeOH ekstresinin enflamasyonu azaltıcı ve antioksidan etkileri nedeniyle kemoterapötik ajanların yan etkilerini azaltmada kolay elde edilebilir, ucuz, güvenilir ve doğal destekleyici bir ürün olarak beşeri hekimlikte kullanılabileceği, aynı zamanda karaciğer

koruyucu etkisi nedeniyle pet hayvan mamalarında ve kemoterapötik tedavilerde de destekleyici bir ürün olarak veteriner hekimlik alanında da değerlendirilebileceği mümkün görülmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Abak, F., Akan, H. (2013). Şanlıurfa ilinin Asteraceae papatyagiller familyasının florası. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 7: 68-78.
- Abd El-Ghafar, O. A., Hassanein, E. H., Sayed, A. M., Rashwan, E. K., Shalkami, A. G. S., Mahmoud, A. M. (2021). Acetovanillone prevents cyclophosphamide-induced acute lung injury by modulating PI3K/Akt/mTOR and Nrf2 signaling in rats. *Phytotherapy Research*, 35: 4499-4510.
- Abdel-Moneim, A., Ahmed, O. M., Abd El-Twab, S. M., Zaky, M. Y., Bakry, L. N. (2021). Prophylactic effects of *Cynara scolymus* L. leaf and flower hydroethanolic extracts against diethylnitrosamine/acetylamino-flourene-induced lung cancer in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28: 43515-43527.
- Abdelfattah-Hassan, A., Shalaby, S. I., Khater, S. I., El-Shetry, E. S., Abd El Fadil, H., Elsayed, S. A. (2019). Panax ginseng is superior to vitamin E as a hepatoprotector against cyclophosphamide-induced liver damage. *Complementary Therapies in Medicine*, 46: 95-102.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*, 10: 141-147.
- Abraham, P., Sugumar, E. (2008). Increased glutathione levels and activity of PON1 (phenyl acetate esterase) in the liver of rats after a single dose of cyclophosphamide: a defense mechanism? *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59: 301-306.
- Abu-Reidah, I. M., Arráziz-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Extensive characterisation of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) by HPLC–DAD–ESI–QTOF–MS. *Food chemistry*, 141: 2269-2277.
- Adibhatla, R. M., Hatcher, J. (2008). Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in CNS pathologies. *BMB reports*, 41: 560.
- Adzet, T., Camarasa, J., Laguna, J. C. (1987). Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl₄ toxicity in isolated rat hepatocytes. *Journal of Natural products*, 50: 612-617.
- Ahlmann, M., Hempel, G. (2016). The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*, 78: 661-71.
- Ahmadi, A., Heidarian, E., Ghatreh-Samani, K. (2019). Modulatory effects of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract against oxidative stress and hepatic TNF- α gene expression in acute diazinon-induced liver injury in rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 30.
- Ahmadi, S. M., Farhoosh, R., Sharif, A., Rezaie, M. (2020). Structure-antioxidant activity relationships of luteolin and catechin. *Journal of food science*, 85: 298-305.

- Ahmed, Z., Ahmed, U., Walayat, S., Ren, J., Martin, D. K., Moole, H., Koppe, S., Yong, S., Dhillon, S. (2018). Liver function tests in identifying patients with liver disease. *Clinical and experimental gastroenterology*: 301-307.
- Aktay, G., Deliorman, D., Ergun, E., Ergun, F., Yeşilada, E., Cevik, C. (2000). Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 121-129.
- Al-Radadi, N. S. (2018). Artichoke (*Cynara scolymus* L.,) mediated rapid analysis of silver nanoparticles and their utilisation on the cancer cell treatments. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 15: 1818-1829.
- Albayrak, S., Denk, B., Karpuz, B., Akkol, E. K., Gülcan, A. (2022). Determination of in vitro antioxidant activities and macro and micro elements level in different extracts of *Cynara Scolymus* L. leaf. *Kocatepe Veterinary Journal*, 15: 412-422.
- Anvari, D., Jamei, R. (2018). Evaluation of antioxidant capacity and phenolic content in ethanolic extracts of leaves and flowers of some asteraceae species. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*, 9: 42-49.
- Arango Duque, G., Descoteaux, A. (2014). Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Frontiers in immunology*, 5: 491.
- Ardalani, H., Jandaghi, P., Meraji, A., Moghadam, M. H. (2020). The effect of *Cynara scolymus* on blood pressure and BMI in hypertensive patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Complementary medicine research*, 27: 40-46.
- Aubrecht, J., Schomaker, S. J., Amacher, D. E. (2013). Emerging hepatotoxicity biomarkers and their potential to improve understanding and management of drug-induced liver injury. *Genome medicine*, 5: 1-3.
- Avci, G., Kupeli, E., Eryavuz, A., Yesilada, E., Kucukkurt, I. (2006). Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 107: 418-423.
- Avci, G., Ulutas, E., Ozdemir, V., Kivrak, I., Bulbul, A. (2022). The positive effect of black seed (*Nigella sativa* L.) essential oil on thyroid hormones in rats with hypothyroidism and hyperthyroidism. *Journal of Food Biochemistry*, 46: e13801.
- Avci, H., Sekkin, S., Boyacioglu, M., Aksit, H. (2016). Protective and antigenotoxic effects of silymarin and curcumin in experimental cyclophosphamide intoxication in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 22: 693-701.
- Ayhanci, A., Yaman, S., Appak, S., Gunes, S. (2009). Hematoprotective effect of seleno-L-methionine on cyclophosphamide toxicity in rats. *Drug and chemical toxicology*, 32: 424-428.
- Ayza, M. A., Raj Kapoor, B., Wondafrash, D. Z., Berhe, A. H. (2020). Protective effect of *Croton macrostachyus* (euphorbiaceae) stem bark on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Experimental Pharmacology*: 275-283.
- Ayza, M. A., Zewdie, K. A., Yigzaw, E. F., Ayele, S. G., Tesfaye, B. A., Tafere, G. G., Abrha, M. G. (2022). Potential protective effects of antioxidants against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity. *International Journal of Nephrology*, 2022.

- Azzini, E., Bugianesi, R., Romano, F., Di Venere, D., Miccadei, S., Durazzo, A., Foddai, M., Catasta, G., Linsalata, V., Maiani, G. (2007). Absorption and metabolism of bioactive molecules after oral consumption of cooked edible heads of *Cynara scolymus* L.(cultivar Violetto di Provenza) in human subjects: a pilot study. *British Journal of Nutrition*, 97: 963-969.
- Bagley, C. M., Jr., Bostick, F. W., DeVita, V. T., Jr. (1973). Clinical pharmacology of cyclophosphamide. *Cancer Res*, 33: 226-33.
- Bahorun, T., Soobrattee, M., Luximon-Ramma, V., Aruoma, O. (2006). Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet Journal of Medical Update*, 1: 25-41.
- Balkwill, F. (2002). Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? *Cytokine & growth factor reviews*, 13: 135-141.
- Barbano, G., Gusmano, R., Damasio, B., Alpigliani, M. G., Buoncompagni, A., Gattorno, M., Perfumo, F. (2002). Childhood-onset lupus nephritis: a single-center experience of pulse intravenous cyclophosphamide therapy. *J Nephrol*, 15: 123-9.
- Basu, A., Bhattacharjee, A., Samanta, A., Bhattacharya, S. (2015). Prevention of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and genotoxicity: Effect of an L-cysteine based oxovanadium (IV) complex on oxidative stress and DNA damage. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40: 747-757.
- Bazewicz, C. G., Dinavahi, S. S., Schell, T. D., Robertson, G. P. (2019). Aldehyde dehydrogenase in regulatory T-cell development, immunity and cancer. *Immunology*, 156: 47-55.
- Beauchamp, R. O., Andjelkovich, D. A., Kligerman, A. D., Morgan, K. T., Heck, H. d. A., Feron, V. (1985). A critical review of the literature on acrolein toxicity. *CRC critical reviews in toxicology*, 14: 309-380.
- Belanich, M., Pastor, M., Randall, T., Guerra, D., Kibitel, J., Alas, L., Li, B., Citron, M., Wasserman, P., White, A. (1996). Retrospective study of the correlation between the DNA repair protein alkyltransferase and survival of brain tumor patients treated with carmustine. *Cancer research*, 56: 783-788.
- Ben Salem, M., Affes, H., Dhouibi, R., Charfi, S., Turki, M., Hammami, S., Ayedi, F., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., Ksouda, K. (2022). Effect of artichoke (*Cynara scolymus*) on cardiac markers, lipid profile and antioxidants levels in tissue of HFD-induced obesity. *Archives of physiology and biochemistry*, 128: 184-194.
- Berköz, M., Yalın, S., Özkan-Yılmaz, F., Özlüer-Hunt, A., Krośniak, M., Francik, R., Yunusoğlu, O., Adıyaman, A., Gezici, H., Yiğit, A. (2021). Protective effect of myricetin, apigenin, and hesperidin pretreatments on cyclophosphamide-induced immunosuppression. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 43: 353-369.
- Bhattacharya, S. (2015). Reactive oxygen species and cellular defense system. *Free radicals in human health and disease*: 17-29.
- Biel, W., Witkowicz, R., Piątkowska, E., Podsiadło, C. (2020). Proximate composition, minerals and antioxidant activity of artichoke leaf extracts. *Biological trace element research*, 194: 589-595.
- Birdane, Y. O., Avci, G., Birdane, F. M., Turkmen, R., Atik, O., Atik, H. (2022). The protective effects of erdosteine on subacute diazinon-induced oxidative stress and

- inflammation in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 29: 21537-21546.
- Brzezińska-Ślebodzińska, E., Ślebodziński, A., Pietras, B., Wieczorek, G. (1995). Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. *Biological trace element research*, 47: 69-74.
- Burgess, K., Moore, A., Rand, W., Cotter, S. M. (2000). Treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs with cyclophosphamide. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14: 456-462.
- Busse, D., Busch, F. W., Bohnenstengel, F., Eichelbaum, M., Fischer, P., Opalinska, J., Schumacher, K., Schweizer, E., Kroemer, H. K. (1997). Dose escalation of cyclophosphamide in patients with breast cancer: consequences for pharmacokinetics and metabolism. *Journal of Clinical Oncology*, 15: 1885-1896.
- Calatroni, M., Buzio, C., Vaglio, A. (2015). The evolving paradigm of cancer risk related to cyclophosphamide therapy in granulomatosis with polyangiitis. *Rheumatology (Oxford)*, 54: 1339-41.
- Casey, G. (2013). Jaundice: An excess of bilirubin. *Kai Tiaki: Nursing New Zealand*, 19: 20.
- Cavalletti, E., Tofanetti, O., Zunino, F. (1986). Comparison of reduced glutathione with 2-mercaptoethane sulfonate to prevent cyclophosphamide-induced urotoxicity. *Cancer letters*, 32: 1-6.
- Cengiz, M., Cetik Yildiz, S., Demir, C., Sahin, I. K., Teksoy, O., Ayhanci, A. (2019). Hepato-preventive and anti-apoptotic role of boric acid against liver injury induced by cyclophosphamide. *J Trace Elem Med Biol*, 53: 1-7.
- Cengiz, M., Sahinturk, V., Yildiz, S. C., Şahin, İ. K., Bilici, N., Yaman, S. O., Altuner, Y., Appak-Baskoy, S., Ayhanci, A. (2020). Cyclophosphamide induced oxidative stress, lipid per oxidation, apoptosis and histopathological changes in rats: Protective role of boron. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62: 126574.
- Chabner, B. A., Roberts Jr, T. G. (2005). Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews Cancer*, 5: 65-72.
- Chamorro-Cevallos, G., Garduño-Siciliano, L., Barrón, B., Madrigal-Bujaidar, E., Cruz-Vega, D., Pages, N. (2008). Chemoprotective effect of spirulina (arthrospira) against cyclophosphamide-induced mutagenicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 567-574.
- Chaube, S. (1967). Teratogenic effects of cyclophosphamide (NSC-26271) in the rat. *Cancer Chemother. Rep.*, 51: 363-379.
- Chen, H.-Y., Yen, G.-C. (2007). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food chemistry*, 101: 686-694.
- Chen, L., Xiong, X., Hou, X., Wei, H., Zhai, J., Xia, T., Gong, X., Gao, S., Feng, G., Tao, X. (2019). Wuzhi capsule regulates chloroacetaldehyde pharmacokinetics behaviour and alleviates high-dose cyclophosphamide-induced nephrotoxicity and neurotoxicity in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 125: 142-151.

- Chen, X., Guo, C., Kong, J. (2012). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural regeneration research*, 7: 376.
- Chukwunonyelum, I., Odiba, A., Edeke, A., Anunobi, O., Ukegbu, C. (2016). Liver enzymes and total protein levels as index of hepatotoxicity of naphthalene. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci*, 11: 28-31.
- Cicek, B., Genc, S., Yeni, Y., Kuzucu, M., Cetin, A., Yildirim, S., Bolat, I., Kantarci, M., Hacimuftuoglu, A., Lazopoulos, G. (2022). Artichoke (*Cynara Scolymus*) methanolic leaf extract alleviates diethylnitrosamine-induced toxicity in BALB/c mouse brain: involvement of oxidative stress and apoptotically related Klotho/PPAR γ Signaling. *Journal of Personalized Medicine*, 12: 2012.
- Colvin, M. E., Quong, J. N. 2002. DNA-alkylating events associated with nitrogen mustard based anticancer drugs and the metabolic byproduct Acrolein. *Advances in DNA Sequence-Specific Agents*. Elsevier.
- Conklin, D. J., Haberzettl, P., Jagatheesan, G., Baba, S., Merchant, M. L., Prough, R. A., Williams, J. D., Prabhu, S. D., Bhatnagar, A. (2015). Glutathione S-transferase P protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 285: 136-148.
- Contassot, E., Beer, H.-D., French, L. E. (2012). Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss medical weekly*, 142: w13590-w13590.
- Cooper Jr, J. A. D., Merrill, W. W., Reynolds, H. Y. (1986a). Cyclophosphamide modulation of bronchoalveolar cellular populations and macrophage oxidative metabolism: possible mechanisms of pulmonary pharmacotoxicity. *American Review of Respiratory Disease*, 134: 108-114.
- Cooper Jr, J. A. D., White, D. A., Matthay, R. A. (1986b). Drug-induced pulmonary disease: part 1: cytotoxic drugs. *American Review of Respiratory Disease*, 133: 321-340.
- Corpas, F. J., Fernandez-Ocana, A., Carreras, A., Valderrama, R., Luque, F., Esteban, F. J., Rodriguez-Serrano, M., Chaki, M., Pedrajas, J. R., Sandalio, L. M. (2006). The expression of different superoxide dismutase forms is cell-type dependent in olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant and cell physiology*, 47: 984-994.
- Crohns, M., Saarelainen, S., Laitinen, J., Peltonen, K., Alho, H., Kellokumpu-Lehtinen, P. (2009). Exhaled pentane as a possible marker for survival and lipid peroxidation during radiotherapy for lung cancer—a pilot study. *Free radical research*, 43: 965-974.
- Çiftçi, O., 2021 Boswellik asit, betulinik asit ve ürsolik asit uygulamalarının Sıçanlarda siklofosfamid ile indüklenmiş nefrotoksisiteye karşı koruyucu rollerinin araştırılması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Van.
- de Francisco, A. L. M., Arias Guillen, M., Perez-Valderrama, B., Sebastia, C. (2019). Post-contrast acute kidney injury in cancer patients. *Nefrologia (Engl Ed)*, 39: 563-567.
- de Oliveira, A. M., de Freitas, A. F. S., Paiva, P. M. G., Napoleão, T. H. (2020). Genotoxicity assessment of saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) and its chemopreventive effect against cyclophosphamide-induced DNA damage. *Heliyon*, 6: e03811.

- Demir, T., Ağaoğlu, S. (2021). Antioxidant, antimicrobial and metmyoglobin reducing activity of artichoke (*Cynara scolymus*) powder extract-added minced meat during frozen storage. *Molecules*, 26: 5494.
- Deng, A., Liu, F., Tang, X., Wang, Y., Xie, P., Yang, Q., Xiao, B. (2022). Water extract from artichoke ameliorates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22: 1-11.
- Denk, B., Avcı, G., Aydoğan, B., Fidan, A. F., Aslan, R. (2022). Redox-changing effects of popular tobacco products in rats. *Turkish Journal of Biochemistry*, 47: 341-347.
- Dhalla, N. S., Temsah, R. M., Netticadan, T. (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of hypertension*, 18: 655-673.
- Di Meo, S., Venditti, P. (2020). Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.
- Diggavi, M., Parveen, N. (2021). An overview on anticancer drugs.
- Dinis, T. C., Madeira, V. M., Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of biochemistry and biophysics*, 315: 161-169.
- Edwards, C. L., Herson, J., Gershenson, D. M., Copeland, L. J., Wharton, J. T. (1983). A prospective randomized clinical trial of melphalan and cis-platinum versus hexamethylmelamine, adriamycin, and cyclophosphamide in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 15: 261-77.
- El-Akhras, B. A., Talaat, R. M., El-Masry, S. A., Bassyouni, I. H., El-Sayed, I. H., Ali, Y. B. (2023). Crosstalk between miR-146a and pro-inflammatory cytokines in patients with systemic lupus erythematosus. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 37: 03946320231154998.
- El-Serafi, I., Afsharian, P., Moshfegh, A., Hassan, M., Terelius, Y. (2015). Cytochrome P450 oxidoreductase influences CYP2B6 activity in cyclophosphamide bioactivation. *PLoS One*, 10: e0141979.
- El Morsy, E. M., Kamel, R. (2015). Protective effect of artichoke leaf extract against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Pharm Biol*, 53: 167-73.
- Elangovan, N., Chiou, T.-J., Tzeng, W.-F., Chu, S.-T. (2006). Cyclophosphamide treatment causes impairment of sperm and its fertilizing ability in mice. *Toxicology*, 222: 60-70.
- Emadi, A., Jones, R. J., Brodsky, R. A. (2009). Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nature reviews Clinical oncology*, 6: 638-647.
- Erdogan, O., Abbak, M., Demirbolat, G. M., Birtekocak, F., Aksel, M., Pasa, S., Cevik, O. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles via *Cynara scolymus* leaf extracts: The characterization, anticancer potential with photodynamic therapy in MCF7 cells. *PloS one*, 14: e0216496.
- Erdoğan, S., AKKOL, E. K., Gülcan, A. (2020). Research on the antioxidant efficiency of olive (*olea europaea* l.) leaf using by in vitro methods. *Kocatepe Veterinary Journal*, 13: 319-326.

- Fahmy, S. R., Amien, A. I., Abd-Elgleel, F. M., Elaskalany, S. M. (2016). Antihepatotoxic efficacy of *Mangifera indica* L. polysaccharides against cyclophosphamide in rats. *Chem Biol Interact*, 244: 113-20.
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Res Int*, 64: 171-181.
- Famurewa, A. C., Edeogu, C. O., Offor, F. I., Besong, E. E., Akunna, G. G., Maduagwuna, E. K. (2021). Downregulation of redox imbalance and iNOS/NF-kB/caspase-3 signalling with zinc supplementation prevents urotoxicity of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. *Life Sci*, 266: 118913.
- Fleming, R. A. (1997). An overview of cyclophosphamide and ifosfamide pharmacology. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 17: 146S-154S.
- Fortin, D., McAllister, L. D., Nesbit, G., Doolittle, N. D., Miner, M., Hanson, E. J., Neuwelt, E. A. (1999). Unusual cervical spinal cord toxicity associated with intra-arterial carboplatin, intra-arterial or intravenous etoposide phosphate, and intravenous cyclophosphamide in conjunction with osmotic blood brain-barrier disruption in the vertebral artery. *American journal of neuroradiology*, 20: 1794-1802.
- Fouad, A. A., Qutub, H. O., Al-Melhim, W. N. (2016). Punicalagin alleviates hepatotoxicity in rats challenged with cyclophosphamide. *Environmental toxicology and pharmacology*, 45: 158-162.
- Fraiser, L. H., Kanekal, S., Kehrer, J. P. (1991). Cyclophosphamide toxicity: characterising and avoiding the problem. *Drugs*, 42: 781-795.
- Fратиanni, F., Pepe, R., Nazzaro, F. (2014). Polyphenol composition, antioxidant, antimicrobial and quorum quenching activity of the “carciofo di montoro”(Cynara cardunculus var. scolymus) Global artichoke of the campania region, southern italy. *Food and Nutrition Sciences*, 5: 2053.
- Fridovich, I. (1986). Superoxide dismutases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 58: 61-97.
- Fu, D., Calvo, J. A., Samson, L. D. (2012). Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. *Nature Reviews Cancer*, 12: 104-120.
- Gao, T., Yao, H., Song, J., Zhu, Y., Liu, C., Chen, S. (2010). Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family. *BMC Evolutionary Biology*, 10: 1-7.
- Ge, Y., Domschke, C., Stoiber, N., Schott, S., Heil, J., Rom, J., Blumenstein, M., Thum, J., Sohn, C., Schneeweiss, A. (2012). Metronomic cyclophosphamide treatment in metastasized breast cancer patients: immunological effects and clinical outcome. *Cancer immunology, immunotherapy*, 61: 353-362.
- Gedikli, S., Şengül, E. (2019). The effects of quercetin on cyclophosphamide induced hepatotoxicity in the rats. *Dicle Med J*, 46: 41-50.
- Geller, M. A., Miller, J. S. (2011). Use of allogeneic NK cells for cancer immunotherapy. *Immunotherapy*, 3: 1445-1459.

- Germoush, M. O., Mahmoud, A. M. (2014). Berberine mitigates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity by modulating antioxidant status and inflammatory cytokines. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 140: 1103-1109.
- Giang, D. W., Goodman, A. D., Schiffer, R. B., Mattson, D. H., Petrie, M., Cohen, N., Ader, R. (1996). Conditioning of cyclophosphamide-induced leukopenia in humans. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 8: 194-201.
- Gouveia, S. C., Castilho, P. C. (2012). Phenolic composition and antioxidant capacity of cultivated artichoke, madeira cardoon and artichoke-based dietary supplements. *Food research international*, 48: 712-724.
- Grinberg-Funes, D. J., Sheldon, C., Weiss, M. (1990). The use of prostaglandin F2 alpha for the prophylaxis of cyclophosphamide induced cystitis in rats. *The Journal of urology*, 144: 1500-1504.
- Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Choudhary, A. K., Jha, U. K., Yadav, U. C., Gupta, P. K., Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 15: 4405-4409.
- Gupta, S., Portales-Castillo, I., Daher, A., Kitchlu, A. (2021). Conventional chemotherapy nephrotoxicity. *Adv Chronic Kidney Dis*, 28: 402-414 e1.
- Güllü, E. B., Avcı, G. (2013). Timokinon: Nigella Sativa'nın biyoaktif komponenti. *Kocatepe Veterinary Journal*, 6: 51-61.
- Habibi, E., Shokrzadeh, M., Chabra, A., Naghshvar, F., Keshavarz-Maleki, R., Ahmadi, A. (2015). Protective effects of Origanum vulgare ethanol extract against cyclophosphamide-induced liver toxicity in mice. *Pharm Biol*, 53: 10-5.
- Hales, B. F. (1981). Modification of the teratogenicity and mutagenicity of cyclophosphamide with thiol compounds. *Teratology*, 23: 373-381.
- Hales, B. F. (1982). Comparison of the mutagenicity and teratogenicity of cyclophosphamide and its active metabolites, 4-hydroxycyclophosphamide, phosphoramidate mustard, and acrolein. *Cancer research*, 42: 3016-3021.
- Halliwell, B. (1987). Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc Nutr Soc*, 46: 13-26.
- Halliwell, B., Clement, M. V., Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS letters*, 486: 10-13.
- Halliwell, B., Zentella, A., Gomez, E. O., Kershenovich, D. (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition reviews*, 55: S44.
- Han, J., Xia, J., Zhang, L., Cai, E., Zhao, Y., Fei, X., Jia, X., Yang, H., Liu, S. (2019). Studies of the effects and mechanisms of ginsenoside Re and Rk3 on myelosuppression induced by cyclophosphamide. *Journal of Ginseng Research*, 43: 618-624.
- Harman, D. (1998). Aging and oxidative stress. *J Int Fed Clin Chem*, 10: 24-7.
- Hassanein, E. H., Ahmed, M. A., Sayed, A. M., Rashwan, E. K., Abd El-Ghaffar, O. A., Mahmoud, A. M. (2021). Edaravone mitigates hemorrhagic cystitis by modulating Nrf2, TLR-4/NF- κ B, and JAK1/STAT3 signaling in cyclophosphamide-intoxicated rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35: e22889.

- Haubitz, M. (2007). Acute and long-term toxicity of cyclophosphamide. *Transplantationsmedizin*, 19: 26.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105: 1126-1134.
- Hedmer, M., Höglund, P., Cavallin-Ståhl, E., Albin, M., Jönsson, B. A. (2008). Validation of urinary excretion of cyclophosphamide as a biomarker of exposure by studying its renal clearance at high and low plasma concentrations in cancer patients. *International archives of occupational and environmental health*, 81: 285-293.
- Heimler, D., Isolani, L., Vignolini, P., Tombelli, S., Romani, A. (2007). Polyphenol content and antioxidative activity in some species of freshly consumed salads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 1724-1729.
- Hennig, B., Chow, C. K. (1988). Lipid peroxidation and endothelial cell injury: implications in atherosclerosis. *Free radical biology and medicine*, 4: 99-106.
- Hogg, N. (1998). Free radicals in disease. *Semin Reprod Endocrinol*, 16: 241-8.
- Honeycombe, J. R. (1981). The cytogenetic effects of busulphan therapy on the Ph1-positive cells and lymphocytes from patients with chronic myeloid leukemia. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 81: 81-102.
- Horton, N. D., Mamiya, B. M., Kehrer, J. P. (1997). Relationships between cell density, glutathione and proliferation of A549 human lung adenocarcinoma cells treated with acrolein. *Toxicology*, 122: 111-122.
- Hu, Z., Lausted, C., Yoo, H., Yan, X., Brightman, A., Chen, J., Wang, W., Bu, X., Hood, L. (2014). Quantitative liver-specific protein fingerprint in blood: a signature for hepatotoxicity. *Theranostics*, 4: 215.
- Huang, H.-Y., Appel, L. J., Croft, K. D., Miller III, E. R., Mori, T. A., Puddey, I. B. (2002). Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: results of a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, 76: 549-555.
- Ibrahim, H. M., Mohammed-Geba, K., Tawfic, A. A., El-Magd, M. A. (2019). Camel milk exosomes modulate cyclophosphamide-induced oxidative stress and immuno-toxicity in rats. *Food Funct*, 10: 7523-7532.
- İnt. Kay. 1*, . <https://ekutuphane.saglik.gov.tr/Yayin/452>, Erişim Tarihi:(28.01. 2023).
- İnt. Kay. 2*, . <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2907>, Erişim Tarihi:(01.05 2023).
- İnt. Kay. 3*, . <https://docs.boehringerlingelheim.com/Prescribing%20Information/PIs/Roxane/Cyclophosphamide/Cyclophosphamide%20Tablets%20USP.pdf>, Erişim Tarihi:(24.04 2023).
- İnt. Kay. 4*, . [https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/itosun/140672/1.%20hafta%20do%C4%9Fal%20antioksidan.pptx](https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/itosun/140672/1.%20hafta%20do%C4%9Ffal%20antioksidan.pptx), Erişim Tarihi:(30.04. 2023).

- Int. Kay. 5, . www.imageria.com Cynara scolymus - Floral and botanical image library*
Erişim Tarihi:(17.04 2023).
- Int. Kay. 6, . <http://brilliantbotany.com/post/25113480924/an-artichoke-is-a-thistle-cynara-cardunculus-va>, Erişim Tarihi:(30.03 2023).*
- Int. Kay. 7, . <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547852/> Erişim Tarihi:(12.06. 2023).*
- Ionescu, D., Popescu, M., Rizea, G. D., Mihele, D., Bulearca, G., Ivopol, M., Mihalcea, F. (2014). Polyphenols and minerals, antioxidants in the plants used in the natural treatment of hepatobiliary disorders. *Rev. Chim*, 65: 507-511.
- Jegal, K. H., Kim, E. O., Kim, J. K., Park, S. M., Jung, D. H., Lee, G. H., Ki, S. H., Byun, S. H., Ku, S. K., Cho, I. J. (2020). Luteolin prevents liver from tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress via nuclear factor erythroid 2-related factor 2-dependent sestrin 2 induction. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 399: 115036.
- Jiang, Z., Chen, K., Cheng, L., Yan, B., Qian, W., Cao, J., Li, J., Wu, E., Ma, Q., Yang, W. (2017). Resveratrol and cancer treatment: updates. *Ann N Y Acad Sci*, 1403: 59-69.
- Jimenez-Moreno, N., Cimminelli, M. J., Volpe, F., Anso, R., Esparza, I., Marmol, I., Rodriguez-Yoldi, M. J., Ancin-Azpilicueta, C. (2019). Phenolic composition of artichoke waste and its antioxidant capacity on differentiated Caco-2 cells. *Nutrients*, 11.
- Kalogianni, A. I., Lazou, T., Bossis, I., Gelasakis, A. I. (2020). Natural phenolic compounds for the control of oxidation, bacterial spoilage, and foodborne pathogens in meat. *Foods*, 9: 794.
- Kamel, S. S., Baky, N. A. A., Karkeet, R. M., Osman, A. M., Sayed-Ahmed, M. M., Fouad, M. A. (2022). Astaxanthin extenuates the inhibition of aldehyde dehydrogenase and Klotho protein expression in cyclophosphamide-induced acute cardiomyopathic rat model. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 49: 291-301.
- Kaneko, M., Kawakita, T., Kumazawa, Y., Takimoto, H., Nomoto, K., Yoshikawa, T. (1999). Accelerated recovery from cyclophosphamide-induced leukopenia in mice administered a Japanese ethical herbal drug, Hochu-ekki-to. *Immunopharmacology*, 44: 223-31.
- Karaboğa, M., 2019, Ratlarda deneysel siklofosfamid toksikasyonunda sodyum selenit'in karaciğer ve böbrekte metalotiyonin ekspresyonu üzerine etkisinin araştırılması, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Aydın.
- Kawabata, T. T., Chapman, M. Y., Kim, D. H., Stevens, W. D., Holsapple, M. P. (1990). Mechanisms of in vitro immunosuppression by hepatocyte-generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroperoxycyclophosphamide. *Biochem Pharmacol*, 40: 927-35.
- Kayaalp, S. O. (2012). Akılcı tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Pelikan Yayıncılık, Ankara.
- Kayahan, S., Saloglu, D. (2021). Microwave-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from artichoke (*Cynara scolymus* L. cv Bayrampasa): optimisation and kinetic modelling. *International Food Research Journal*, 28.

- Kehrer, J. P., Biswal, S. S. (2000). The molecular effects of acrolein. *Toxicological Sciences*, 57: 6-15.
- Kern, J. C., Kehrer, J. P. (2002). Acrolein-induced cell death: a caspase-influenced decision between apoptosis and oncosis/necrosis. *Chemico-biological interactions*, 139: 79-95.
- Khan, J. A., Shahdad, S., Makhdoomi, M. A., Hamid, S., Bhat, G. M., Jan, Y., Nazir, S., Bashir, Z., Banoo, S. (2014). Effect of cyclophosphamide on the microanatomy of liver of albino rats. *Int J Res Med Sci*, 2: 1466-1469.
- Khedr, A. I. M., Farrag, A. F. S., Nasr, A. M., Swidan, S. A., Nafie, M. S., Abdel-Kader, M. S., Goda, M. S., Badr, J. M., Abdelhameed, R. F. A. (2022). Comparative estimation of the cytotoxic activity of different parts of *Cynara scolymus* L.: crude Extracts versus green synthesized silver nanoparticles with apoptotic investigation. *Pharmaceutics*, 14.
- Khorwal, G., Chauhan, R., Nagar, M. (2017). Effect of cyclophosphamide on liver in albino rats: A comparative dose dependent histomorphological study. *International Journal of Biomedical and Advance Research*, 8: 102-107.
- Kim, S. H., Lee, I. C., Ko, J. W., Moon, C., Kim, S. H., Shin, I. S., Seo, Y. W., Kim, H. C., Kim, J. C. (2015). Diallyl disulfide prevents cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats through the inhibition of oxidative damage, MAPKs, and NF-kappaB pathways. *Biomol Ther (Seoul)*, 23: 180-8.
- Kim, S. H., Lee, I. C., Lim, J. H., Moon, C., Bae, C. S., Kim, S. H., Shin, D. H., Park, S. C., Kim, H. C., Kim, J. C. (2012). Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats. *Food Chem Toxicol*, 50: 109-15.
- Klaunig, J. E., Kamendulis, L. M., Hocevar, B. A. (2010). Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. *Toxicologic pathology*, 38: 96-109.
- Klaunig, J. E., Wang, Z., Pu, X., Zhou, S. (2011). Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis. *Toxicology and applied pharmacology*, 254: 86-99.
- Komolafe, O., Arayombo, B., Abiodun, A., Saka, O., Abijo, A., Ojo, S., Fakunle, O. (2020). Immunohistochemical and histological evaluations of cyclophosphamide-induced acute cardiotoxicity in wistar rats: The role of turmeric extract (curcuma). *Morphologie*, 104: 133-142.
- Koyama, S., Ishii, K. J., Coban, C., Akira, S. (2008). Innate immune response to viral infection. *Cytokine*, 43: 336-41.
- Kummar, S., Oza, A. M., Fleming, G. F., Sullivan, D. M., Gandara, D. R., Naughton, M. J., Villalona-Calero, M. A., Morgan, R. J., Jr., Szabo, P. M., Youn, A., Chen, A. P., Ji, J., Allen, D. E., Lih, C. J., Mehaffey, M. G., Walsh, W. D., McGregor, P. M., 3rd, Steinberg, S. M., Williams, P. M., Kinders, R. J., Conley, B. A., Simon, R. M., Doroshow, J. H. (2015). Randomized trial of oral cyclophosphamide and veliparib in high-grade serous ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancers, or BRCA-mutant ovarian cancer. *Clin Cancer Res*, 21: 1574-82.
- Kunwar, A., Priyadarsini, K. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 1.

- Lattanzio, V., Kroon, P., Linsalata, V., Cardinali, A. (2009). Globe Artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients *Journal of functional foods*, 1: 131-144.
- Lavigne, J., Barry, A., D'ateuil, C., Delâge, J. (1975). Increase in the gastrointestinal absorption and in tissue storage of cyclophosphamide in L-1210 leukaemic mice at an advanced stage of the disease. *British Journal of Cancer*, 32: 720-729.
- Lawrence, H., Simone, J., Aur, R. (1975). Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in children with leukemia. *Cancer*, 36: 1572-1576.
- Lenz, A., Franklin, G. A., Cheadle, W. G. (2007). Systemic inflammation after trauma. *Injury*, 38: 1336-1345.
- León-González, A. J., Auger, C., Schini-Kerth, V. B. (2015). Pro-oxidant activity of polyphenols and its implication on cancer chemoprevention and chemotherapy. *Biochemical pharmacology*, 98: 371-380.
- Li, H., Xia, N., Brausch, I., Yao, Y., Förstermann, U. (2004). Flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) up-regulate endothelial-type nitric-oxide synthase gene expression in human endothelial cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 310: 926-932.
- Liang, L., Chen, D., Wang, X., Yang, Z., Zhou, J., Zhan, Z., Lian, F. (2017). Rare cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in a chinese population with rheumatic diseases. *Drugs-Real World Outcomes*, 4: 175-182.
- Linsley, P. S., Brady, W., Grosmaire, L., Aruffo, A., Damle, N. K., Ledbetter, J. A. (1991). Binding of the B cell activation antigen B7 to CD28 costimulates T cell proliferation and interleukin 2 mRNA accumulation. *The Journal of experimental medicine*, 173: 721-730.
- Lippi, G., Schena, F., Montagnana, M., Salvagno, G. L., Banfi, G., Guidi, G. C. (2011). Significant variation of traditional markers of liver injury after a half-marathon run. *European Journal of Internal Medicine*, 22: e36-e38.
- Lixin, X., Lijun, Y., Songping, H. (2019). Ganoderic acid A against cyclophosphamide-induced hepatic toxicity in mice. *J Biochem Mol Toxicol*, 33: e22271.
- Luca, S. V., Kulinowski, Ł., Ciobanu, C., Zengin, G., Czerwińska, M. E., Granica, S., Xiao, J., Skalicka-Woźniak, K., Trifan, A. (2022). Phytochemical and multi-biological characterization of two *Cynara scolymus* L. varieties: A glance into their potential large scale cultivation and valorization as bio-functional ingredients. *Industrial Crops and Products*, 178: 114623.
- Majeed, M. F., Numan, I. T., Noori, M. (2015). Study the anti-inflammatory activity of artichoke (*Cynara scolymus*) different extracts in experimentel models of acute inflammation in rats. *Pharmacie globale*, 6: 1.
- Mansour, H. H., Hasan, H. F. (2015). Protective effect of N-acetylcysteine on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40: 417-422.
- Masala, A., Faedda, R., Alagna, S., Satta, A., Chiarelli, G., Rovasio, P. P., Ivaldi, R., Taras, M. S., Lai, E., Bartoli, E. (1997). Use of testosterone to prevent cyclophosphamide-induced azoospermia. *Ann Intern Med*, 126: 292-5.

- Matar, P., Rozados, V. R., Gervasoni, S. I., Scharovsky, G. O. (2002). Th2/Th1 switch induced by a single low dose of cyclophosphamide in a rat metastatic lymphoma model. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 50: 588-596.
- Mateen, S., Moin, S., Khan, A. Q., Zafar, A., Fatima, N. (2016). Increased reactive oxygen species formation and oxidative stress in rheumatoid arthritis. *PLoS One*, 11: e0152925.
- Matsumoto, T., Nakashima, S., Nakamura, S., Hattori, Y., Ando, T., Matsuda, H. (2021). Inhibitory effects of cynaropicrin and related sesquiterpene lactones from leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.) on induction of iNOS in RAW264. 7 cells and its high-affinity proteins. *Journal of natural medicines*, 75: 381-392.
- Mazzotta, G., ao Morais, J., Oto, A., Smiseth, O. A. (2004). Guidelines on the diagnosis and management of pericardial diseases. *European Heart Journal*, 500: 1-28.
- McCarroll, N., Keshava, N., Cimino, M., Chu, M., Dearfield, K., Keshava, C., Kligerman, A., Owen, R., Protzel, A., Putzrath, R. (2008). An evaluation of the mode of action framework for mutagenic carcinogens case study: cyclophosphamide. *Environmental and molecular mutagenesis*, 49: 117-131.
- Mehmetçik, G., Özdemirler, G., Koçak-Toker, N., Çevikbaş, U., Uysal, M. (2008). Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60: 475-480.
- Miccadei, S., Di Venere, D., Cardinali, A., Romano, F., Durazzo, A., Foddai, M. S., Fraioli, R., Mobarhan, S., Maiani, G. (2008). Antioxidative and apoptotic properties of polyphenolic extracts from edible part of artichoke (*Cynara scolymus* L.) on cultured rat hepatocytes and on human hepatoma cells. *Nutrition and cancer*, 60: 276-283.
- Mileo, A. M., Di Venere, D., Abbruzzese, C., Miccadei, S. (2015). Long term exposure to polyphenols of artichoke (*Cynara scolymus* L.) exerts induction of senescence driven growth arrest in the MDA-MB231 human breast cancer cell line. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P., Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85: 231-237.
- Miller, L. J., Fischer, K. A., Goralnick, S. J., Litt, M., Burleson, J. A., Albertsen, P., Kreutzer, D. L. (2002). Interleukin-10 levels in seminal plasma: implications for chronic prostatitis-chronic pelvic pain syndrome. *The Journal of urology*, 167: 753-756.
- Mocelin, R., Marcon, M., Santo, G. D., Zanatta, L., Sachett, A., Schönell, A. P., Bevilaqua, F., Giachini, M., Chitolina, R., Wildner, S. M. (2016). Hypolipidemic and antiatherogenic effects of *Cynara scolymus* in cholesterol-fed rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26: 233-239.
- Mohamed, S. H., Ahmed, H. H., Farrag, A. R. H., Abdel-Azim, N., Shahat, A. A. (2013). *Cynara scolymus* for relieving on nonalcoholic steatohepatitis induced in rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5: 57-66.
- Nagel, D., Seiler, D., Franz, H., Jung, K. (1990). Ultra-long-distance running and the liver. *International journal of sports medicine*, 11: 441-445.

- Nagi, M. N., Al-Shabanah, O. A., Hafez, M. M., Sayed-Ahmed, M. M. (2011). Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 25: 135-42.
- Nair, S., Manalil, J., Ramavarma, S., Suseela, I., Thekkepatt, A., Raghavamenon, A. (2016). Virgin coconut oil supplementation ameliorates cyclophosphamide-induced systemic toxicity in mice. *Human & experimental toxicology*, 35: 205-212.
- Nasser, A. M. A. (2012). Phytochemical study of *Cynara scolymus* L.(artichoke)(Asteraceae) cultivated in Iraq, detection and identification of phenolic acid compounds cynarin and chlorogenic acid. *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences (P-ISSN 1683-3597 E-ISSN 2521-3512)*, 21: 6-13.
- Netea, M. G., Van Der Meer, J. W., Van Deuren, M., Kullberg, B. J. (2003). Proinflammatory cytokines and sepsis syndrome: not enough, or too much of a good thing? *Trends in immunology*, 24: 254-258.
- Nishikimi, M., Rao, N. A., Yagi, K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and biophysical research communications*, 46: 849-854.
- Noriega-Rodríguez, D., Soto-Maldonado, C., Torres-Alarcón, C., Pastrana-Castro, L., Weinstein-Opppenheimer, C., Zúñiga-Hansen, M. E. (2020). Valorization of globe artichoke (*Cynara scolymus*) agro-industrial discards, obtaining an extract with a selective effect on viability of cancer cell lines. *Processes*, 8: 715.
- Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J.-L., Fleury-Souverain, S. (2011). Analysis of anticancer drugs: a review. *Talanta*, 85: 2265-2289.
- O'Shea, J. J., Murray, P. J. (2008). Cytokine signaling modules in inflammatory responses. *Immunity*, 28: 477-487.
- Oboh, G., Ogunraku, O. O. (2010). Cyclophosphamide-induced oxidative stress in brain: protective effect of hot short pepper (*Capsicum frutescens* L. var. abbreviatum). *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62: 227-233.
- Ogino, M. H., Tadi, P. (2020). Cyclophosphamide.
- Oliveira, G. L. d. S., Oliveira, F. R. d. A. M. d., Alencar, M. V. O. B. d., Gomes Junior, A. L., Souza, A. A. d., Cavalcante, A. A. d. C. M., Freitas, R. M. d. (2014). Evaluation of antioxidant capacity of the aqueous extract of *Cynara scolymus* L.(Asteraceae) in vitro and in *saccharomyces cerevisiae*.
- Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 245: 194-205.
- Ozougwu, J. C. (2017). Physiology of the liver. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, 4: 13-24.
- Özcan, M., Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. (2007). Türkiye’de ticari açıdan önemli Lamiaceae familyasına ait baharat veya çeşni olarak kullanılan bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. *TÜBİTAK Projesi*.
- Pacifici, G. M., Nottoli, R. (1995). Placental transfer of drugs administered to the mother. *Clinical pharmacokinetics*, 28: 235-269.

- Pandino, G., Lombardo, S., Williamson, G., Mauromicale, G. (2012). Polyphenol profile and content in wild and cultivated *Cynara cardunculus* L. *Italian Journal of Agronomy*, 7: e35-e35.
- Patel, J. M. (1990). Metabolism and pulmonary toxicity of cyclophosphamide. *Pharmacol Ther*, 47: 137-46.
- Patwa, J., Khan, S., Jena, G. (2020). Nicotinamide attenuates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in SD rats by reducing oxidative stress and apoptosis. *J Biochem Mol Toxicol*, 34: e22558.
- Pérez-Herrero, E., Fernández-Medarde, A. (2015). Advanced targeted therapies in cancer: drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 93: 52-79.
- Petri, M. (2004). Cyclophosphamide: new approaches for systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 13: 366-371.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*, 4: 89-96.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30: 11-26.
- Pietta, P., Simonetti, P., Mauri, P. (1998). Antioxidant activity of selected medicinal plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4487-4490.
- Pinar, N. (2012). Ülkemizde ilaç harcamaları. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19: 59-65.
- Plowchalk, D. R., Mattison, D. R. (1991). Phosphoramidate mustard is responsible for the ovarian toxicity of cyclophosphamide. *Toxicology and applied pharmacology*, 107: 472-481.
- Pocernich, C. B., Cardin, A. L., Racine, C. L., Lauderback, C. M., Butterfield, D. A. (2001). Glutathione elevation and its protective role in acrolein-induced protein damage in synaptosomal membranes: relevance to brain lipid peroxidation in neurodegenerative disease. *Neurochemistry international*, 39: 141-149.
- Pratiwi, R., Nantasenamat, C., Ruankham, W., Suwanjang, W., Prachayasittikul, V., Prachayasittikul, S., Phopin, K. (2021). Mechanisms and neuroprotective activities of stigmasterol against oxidative stress-induced neuronal cell death via sirtuin family. *Front Nutr*, 8: 648995.
- Puddu, P., Puddu, G. M., Cravero, E., Rosati, M., Muscari, A. (2008). The molecular sources of reactive oxygen species in hypertension. *Blood Pressure*, 17: 70-77.
- Raha, S., Robinson, B. H. (2001). Mitochondria, oxygen free radicals, and apoptosis. *American journal of medical genetics*, 106: 62-70.
- Ramadori, G., Armbrust, T. (2001). Cytokines in the liver. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 13: 777-784.
- Ramirez-Prieto, M. T., Garcia-Rio, F., Villamor, J. (2006). Role of oxidative stress in respiratory diseases and its monitoring. *Medicina clinica*, 127: 386-396.
- Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. *Free radicals and antioxidants*, 1: 2-7.

- Ray, P. K., Dohadwala, M., Bandyopadhyay, S. K., Canchanapan, P., McLaughlin, D. (1985). Rescue of rats from large dose cyclophosphamide toxicity using protein A. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 14: 59-62.
- Refaie, M. M., Shehata, S., El-Hussieny, M., Abdelraheem, W. M., Bayoumi, A. M. (2020). Role of ATP-sensitive potassium channel (K ATP) and eNOS in mediating the protective effect of nicorandil in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity. *Cardiovascular Toxicology*, 20: 71-81.
- Rezaei, Z., Mohammadi, T., Khaksary Mahabadi, M., Najafzadeh Varzi, H., Mohamadian, B. (2017). MESNA Protective effect against cyclophosphamide toxicity on histomorphometry of rat placenta. *Iranian Veterinary Journal*, 13: 52-60.
- Rezai-Zadeh, K., Ehrhart, J., Bai, Y., Sanberg, P. R., Bickford, P., Tan, J., Shytle, R. D. (2008). Apigenin and luteolin modulate microglial activation via inhibition of STAT1-induced CD40 expression. *Journal of neuroinflammation*, 5: 1-10.
- Roderick, P. (2004). Liver function tests: defining what's normal. *BMJ*, 328: 987.
- Rolnik, A., Olas, B. (2021). The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. *International journal of molecular sciences*, 22: 3009.
- Rong, L., Kun-Lung, H., Ji-Kai, L. (2009). A new sesquiterpene lactone from the leaves of *Cynara scolymus* (Compositae). *Plant Diversity*, 31: 383.
- Rouphael, Y., Bernardi, J., Cardarelli, M., Bernardo, L., Kane, D., Colla, G., Lucini, L. (2016). Phenolic compounds and sesquiterpene lactones profile in leaves of nineteen artichoke cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64: 8540-8548.
- Roy, P., Waxman, D. J. (2006). Activation of oxazaphosphorines by cytochrome P450: application to gene-directed enzyme prodrug therapy for cancer. *Toxicology in vitro*, 20: 176-186.
- Ruiz-Cano, D., Pérez-Llamas, F., Frutos, M. J., Arnao, M. B., Espinosa, C., López-Jiménez, J. Á., Castillo, J., Zamora, S. (2014). Chemical and functional properties of the different by-products of artichoke (*Cynara scolymus* L.) from industrial canning processing. *Food chemistry*, 160: 134-140.
- Ruiz, P. A., Haller, D. (2006). Functional diversity of flavonoids in the inhibition of the proinflammatory NF- κ B, IRF, and Akt signaling pathways in murine intestinal epithelial cells. *The Journal of nutrition*, 136: 664-671.
- Sahoo, S., Ghosh, G., Das, D., Nayak, S. (2013). Phytochemical investigation and in vitro antioxidant activity of an indigenous medicinal plant *Alpinia nigra* BL Burtt. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3: 871-876.
- Salama, R. M., Nasr, M. M., Abdelhakeem, J. I., Roshdy, O. K., ElGamal, M. A. (2022). Alogliptin attenuates cyclophosphamide-induced nephrotoxicity: A novel therapeutic approach through modulating MAP3K/JNK/SMAD3 signaling cascade. *Drug and Chemical Toxicology*, 45: 1254-1263.
- Sałata, A., Gruszecki, R. (2010). The quantitative analysis of polyphenolic compounds in different parts of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) depending on growth stage of plants. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 9: 175-181.

- Salekzamani, S., Ebrahimi-Mameghani, M., Rezazadeh, K. (2019). The antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus*): a systematic review and meta-analysis of animal studies. *Phytotherapy research*, 33: 55-71.
- Salem, M. B., Affes, H., Ksouda, K., Dhouibi, R., Sahnoun, Z., Hammami, S., Zeghal, K. M. (2015). Pharmacological studies of artichoke leaf extract and their health benefits. *Plant foods for human nutrition*, 70: 441-453.
- Salem, M. L., Kadima, A. N., El-Naggar, S. A., Rubinstein, M. P., Chen, Y., Gillanders, W. E., Cole, D. J. (2007). Defining the ability of cyclophosphamide preconditioning to enhance the antigen-specific CD8⁺ T-cell response to peptide vaccination: creation of a beneficial host microenvironment involving type I IFNs and myeloid cells. *Journal of immunotherapy*, 30: 40-53.
- Sangeetha, P., Das, U., Koratkar, R., Suryaprabha, P. (1990). Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 8: 15-19.
- Santos, G. W., Tutschka, P. J., Brookmeyer, R., Saral, R., Beschoner, W. E., Bias, W. B., Braine, H. G., Burns, W. H., Elfenbein, G. J., Kaizer, H. (1983). Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide. *New England Journal of Medicine*, 309: 1347-1353.
- Schütz, K., Kammerer, D., Carle, R., Schieber, A. (2004). Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MS n. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52: 4090-4096.
- Seelinger, G., Merfort, I., Wölflle, U., Schempp, C. M. (2008). Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin. *Molecules*, 13: 2628-2651.
- Senthilkumar, S., Devaki, T., Manohar, B. M., Babu, M. S. (2006a). Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity. *Clinica Chimica Acta*, 364: 335-342.
- Senthilkumar, S., Yogeeta, S. K., Subashini, R., Devaki, T. (2006b). Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats. *Chemico-biological interactions*, 160: 252-260.
- Shah, H., Sarker, K., Patel, R., Chaudhary, R., Pandit, D., Sanyal, A., Patel, Y., Rai, S., Basu, D., Patel, S. (2016). Bis-chloroethyl amino components as alkylating agents on nucleotide via formation of aziridinium cation.
- Sharma, P., Verma, P. K., Pankaj, N. K., Agarwal, S. (2021). The Phytochemical ingredients and therapeutic potential of *Cynara scolymus* L. *Pharmaceutical and Biomedical Research*, 7: 141-160.
- Sherif, I. O. (2018). The effect of natural antioxidants in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity: role of Nrf2/HO-1 pathway. *International immunopharmacology*, 61: 29-36.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P. (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1: 63.
- Shon, M.-Y., Kim, T.-H., Sung, N.-J. (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food chemistry*, 82: 593-597.

- Shulman, L. N. (1993). The biology of alkylating-agent cellular injury. *Hematology/oncology clinics of North America*, 7: 325-335.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Solomon, J., Alexander, M. J., Steinfeld, J. L. (1963). Cyclophosphamide: A clinical study. *JAMA*, 183: 165-170.
- Speroni, E., Cervellati, R., Govoni, P., Guizzardi, S., Renzulli, C., Guerra, M. (2003). Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints. *Journal of ethnopharmacology*, 86: 203-211.
- Stillwell, T. J., Benson Jr, R. C. (1988). Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis: a review of 100 patients. *Cancer*, 61: 451-457.
- Sümer, E., Senturk, G. E., Demirel, Ö. U., Yesilada, E. (2020). Comparative biochemical and histopathological evaluations proved that receptacle is the most effective part of *Cynara scolymus* against liver and kidney damages. *Journal of ethnopharmacology*, 249: 112458.
- Şençopur, S. (2021). Batı Akdeniz ve Ege bölgesinde yetişen yabani ve kültür enginarlarında (*Cynara scolymus* L.) moleküler karakterizasyon.
- Tekel, F. (2020). Halk hekimliğinde sağıltıcılar. *21. Yüzyılda Eğitim Ve Toplum Eğitim Bilimleri Ve Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 9: 819-840.
- Thurston, D. E., Pysz, I. (2021). Chemistry and pharmacology of anticancer drugs. CRC press.
- Tokur, O., Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksikite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6: 112-118.
- Torrano, V., Valcarcel-Jimenez, L., Cortazar, A. R., Liu, X., Urosevic, J., Castillo-Martin, M., Fernandez-Ruiz, S., Morciano, G., Caro-Maldonado, A., Guiu, M. (2016). The metabolic co-regulator PGC1 α suppresses prostate cancer metastasis. *Nature cell biology*, 18: 645-656.
- Tripathi, D., Jena, G. (2008). Astaxanthin inhibits cytotoxic and genotoxic effects of cyclophosphamide in mice germ cells. *Toxicology*, 248: 96-103.
- Trouillas, P., Calliste, C.-A., Allais, D.-P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., Duroux, J.-L. (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food chemistry*, 80: 399-407.
- Tsuchihashi, H., Kigoshi, M., Iwatsuki, M., Niki, E. (1995). Action of β -carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 323: 137-147.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39: 44-84.
- Vamanu, E., Vamanu, A., Nita, S., Colceriu, S. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extracts of *Cynara scolymus* (*Cynarae folium*, Asteraceae family). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10: 777-783.

- Waddington, R. J., Moseley, R., Embery, G. (2000). Periodontal disease mechanisms: reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral diseases*, 6: 138-151.
- Wadhwa, N., Mathew, B. B., Jatawa, S., Tiwari, A. (2012). Lipid peroxidation: mechanism, models and significance. *Int J Curr Sci*, 3: 29-38.
- Wagner, E. F., Eferl, R. (2005). Fos/AP-1 proteins in bone and the immune system. *Immunological reviews*, 208: 126-140.
- Wagner, H., Cheng, J. W., Ko, E. Y. (2018). Role of reactive oxygen species in male infertility: an updated review of literature. *Arab journal of urology*, 16: 35-43.
- Wagner, T., Fenneberg, K. (1984). Bioavailability of cyclophosphamide from oral formulations. *European journal of clinical pharmacology*, 26: 269-270.
- Waldmann, T., Tagaya, Y. (1999). The multifaceted regulation of interleukin-15 expression and the role of this cytokine in NK cell differentiation and host response to intracellular pathogens. *Annual review of immunology*, 17: 19-49.
- Wang, M., Simon, J. E., Aviles, I. F., He, K., Zheng, Q.-Y., Tadmor, Y. (2003). Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 51: 601-608.
- Wauquier, F., Boutin-Wittrant, L., Viret, A., Guilhaudis, L., Oulyadi, H., Bourafai-Aziez, A., Charpentier, G., Rousselot, G., Cassin, E., Descamps, S. (2021). Metabolic and Anti-Inflammatory Protective Properties of Human Enriched Serum Following Artichoke Leaf Extract Absorption: Results from an Innovative Ex Vivo Clinical Trial. *Nutrients*, 13: 2653.
- Weijl, N. I., Cleton, F. J., Osanto, S. (1997). Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treat Rev*, 23: 209-40.
- Wickens, A. P. (2001). Ageing and the free radical theory. *Respir Physiol*, 128: 379-91.
- Wójcik, R., Dąbkowska, A. (2010). Experimental immunology The effect of cyclophosphamide on the selected parameters of immunity in rats. *Central European Journal of Immunology*, 35: 1-9.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105: 940-949.
- Yadav, V., Krishnan, A., Zahiruddin, S., Ahmad, S., Vohora, D. (2023). Amelioration of cyclophosphamide-induced DNA damage, oxidative stress, and hepato-and neurotoxicity by Piper longum extract in rats: The role of γ H2AX and 8-OHdG. *Frontiers in Pharmacology*, 14.
- Yang, M., Ma, Y., Wang, Z., Khan, A., Zhou, W., Zhao, T., Cao, J., Cheng, G., Cai, S. (2020). Phenolic constituents, antioxidant and cytoprotective activities of crude extract and fractions from cultivated artichoke inflorescence. *Industrial Crops and Products*, 143: 111433.
- Yazar, E., Bulbul, A., Avci, G., Er, A., Uney, K., Elmas, M., Tras, B. (2010). Effects of enrofloxacin, flunixin meglumine and dexamethasone on disseminated intravascular coagulation, cytokine levels and adenosine deaminase activity in endotoxaemia in rats+. *Acta Veterinaria Hungarica*, 58: 357-367.
- Yener, N. A., Sinanoglu, O., Ilter, E., Celik, A., Sezgin, G., Midi, A., Deveci, U., Aksungar, F. (2013). Effects of spirulina on cyclophosphamide-induced ovarian

toxicity in rats: biochemical and histomorphometric evaluation of the ovary. *Biochem Res Int*, 2013: 764262.

- Yildirim, A., Basay, S., Turker, A. (2020). A comparison of organically and conventionally grown artichokes: phenolic constituents, antioxidant and antibacterial activities. *Acta Alimentaria*, 49: 69-75.
- Yılmaz, S., Kaya, E. (2018). Ratlarda siklofosfamid ile oluşturulmuş hemorajik sistitte propolis ve enginarın koruyucu etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 32: 93-98.
- Yoshimura, A. (2006). Signal transduction of inflammatory cytokines and tumor development. *Cancer science*, 97: 439-447.
- Young, I. S., Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 54: 176-86.
- Zackheim, H. S., Epstein Jr, E. H., Crain, W. R. (1990). Topical carmustine (BCNU) for cutaneous T cell lymphoma: a 15-year experience in 143 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 22: 802-810.
- Zhang, J., Tian, Q., Zhou, S.-F. (2006). Clinical pharmacology of cyclophosphamide and ifosfamide. *Current Drug Therapy*, 1: 55-84.
- Zheng, Q.-S., Sun, X.-L., Xu, B., Li, G., Song, M. (2005). Mechanisms of apigenin-7-glucoside as a hepatoprotective agent. *Biomed Environ Sci*, 18: 65-70.



