



***DATURA INNOXIA* Mill. TOHUM EKSTRAKTLARININ
ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE DİYABET
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif GÜNEY

Danışman: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Ana Bilim Dalı

2021

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

***DATURA INNOXIA* Mill. TOHUM EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ
VE DİYABET ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Investigation of Antioxidant Activities of *Datura innoxia* Mill. Seed Extracts and Their Effects on
Diabetes)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif GÜNEY

Danışman: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Erzurum
Haziran, 2021

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Elif GÜNEY tarafından hazırlanan “*Datura innoxia Mill. Tohum Ekstraktlarının Antioksidan Aktiviteleri ve Diyabet Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması*” başlıklı çalışması, / . / 20. tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Biyoloji Ana Bilim Dalı, Botanik Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN

Danışman: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Jüri Üyesi: Dr.Öğr. Kemal Alp NALCI

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi BAP projesi kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2019-7002

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, Tablo, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek lisans Tezi olarak Prof. Dr. Ökkeş ATICI danışmanlığında sunulan “Datura innoxia Mill. Tohum Ekstraktlarının Antioksidan Aktiviteleri ve Diyabet Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	7	30
Kuramsal Temeller	3	30
Materyal ve Yöntem	10	35
Bulgular	7	20
Tartışma	1	20
Tezin Geneli	7	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Elif GÜNEY	Prof. Dr. Ökkeş ATICI
30.6.2021	30.6.2021
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayımlanmasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi araştırma projesi olarak hazırlanan bu araştırma, Atatürk Üniversitesi BAP: FYL-2019-7002 No’lu proje olarak desteklenmiş olup Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Bölümü Hayvan Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada her an bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çalışmalarım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI’ya en içten duygularıyla şükranlarımı sunarım. Tez çalışma kapsamında yer alan hayvan deneyleri kısmında bilgi birikimini esirgemeyen maddi ve manevi olarak her zaman destekleyen sayın hocam Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU’na en içten duygularıyla şükranlarımı sunarım. Çalışma boyunca, titizlikle hayvan çalışmalarını sürdürmemde fedakârlık gösteren sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Kemal Alp NALCI’ya şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca her türlü ilgi, yardım ve desteğini gördüğüm Öğr. Gör. Özlem GÜLMEZ ,Sayın İhsan YİĞİT, Gamze KARACA, ve Bitki Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında olduğu gibi eğitim hayatımda da hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, her zaman fikirlerini paylaşan tez konumu bulmamda yardımcı dokunan babam Erdoğan GÜNEY’e, yoğun çalışma tempomda destek ve ilgilerini her zaman gördüğüm annem Gülfem GÜNEY’e ve kardeşim Asel GÜNEY’e minnet ve şükranlarımı sunarım.

Elif GÜNEY

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***DATURA INNOXIA* Mill. TOHUM EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ ve DİYABET ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif GÜNEY

Danışman: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Amaç: Bu çalışmada, *Datura innoxia* Mill. (ebuzambak) tohumlarından elde edilen farklı polaritedeki ekstraktların streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan Wistar albino cinsi ratlarda Tip-I diyabet üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışma amacı doğrultusunda, bitki tohumlarından sırayla hekzan, etil asetat, metanol, bütanol ve saf su ekstraktları elde edildi ve sonra ekstraktların toplam fenolik ve flavanoid madde içerikleri belirlendi. Daha sonra aynı ekstraktların 75, 125 ve 250 µg dozlarının ABTS⁺, DPPH[•] ve süperoksit anyonu (O₂⁻) radikali (SAR) giderme aktiviteleri; demir (III) indirgeme (FRAP) ve Ferrik Tiyosiyanat (FTC) yöntemi ile total antioksidan kapasiteleri (TAC) belirlenmiştir. Diyabet çalışmasında, metanolik, bütanolik ve su ekstraktlarının STZ ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda anti-hiperglisemik etkileri insülin ile karşılaştırılmalı olarak değerlendirildi. Deneysel diyabet, intraperitoneal (İ.P.) olarak 55 mg/kg STZ enjeksiyonu ile oluşturuldu. Çalışılan 3 tohum ekstraktı (50, 100, 200, 400, 800, 120 mg/mL) ratlara gastrik gavaj yolu ile verildi ve kan glukoz düzeyleri deney süresince kaydedildi.

Bulgular: Bulgulara göre, *D. innoxia* tohumlarından elde edilen ekstraktlar arasında fenolik ve flavanoid madde içeriği bakımında en düşük hekzan ekstraktı olurken, en yüksek su ekstraktı olmuştur. İlave olarak özellikle metanolik, bütanolik ve su ekstraktlarının total antioksidan kapasiteleri ve ABTS⁺, DPPH[•] ve SAR'ı temizleme aktivitelerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Diyabet grubundaki (kontrol) bireylerin çoğu çalışmayı tamamlayamazken, çalışılan üç bitki ekstraktı uygulanan ratlar çalışmayı önemli oranda tamamlayabildi. STZ ile deneysel Tip-I diyabet oluşturulan ratlarda tohum ekstraktlarından özellikle metanolik ekstraktın 50 mg/mL dozunun insülin gurubu ile karşılaştırıldığında anlamlı etkisi belirlenmiştir.

Sonuç: *Datura innoxia* tohumlarından elde edilen metanolik, bütanolik ve su ekstraktlarının güçlü antioksidatif özelliklere sahip olduğu ve özellikle metanolik ekstraktın STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda hiperglisemik etkileri yatıştırabildiği bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, *Datura innoxia*, Rat, Diyabet, Fenolik, Flavonoid

Haziran 2021, 76 sayfa

ABSTRACT

INVESTIGATION of ANTIOXIDANT ACTIVITIES of *DATURA INNOXIA* MILL. SEED EXTRACTS and THEIR EFFECTS on DIABETES

Elif GÜNEY

Supervisor: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Purpose: In this work, The effect of extracts in different polarities obtained from *Datura innoxia* Mill. (downy thorn apple) seeds was investigated on Type-I diabetes in Wistar albino rats in which experimental diabetes was induced by streptozotocin (STZ).

Method: For this aim, hexane, ethyl acetate, methanol, butanol and aqueous extracts were obtained from the plant seeds, respectively, and then the total phenolic and flavonoid content of the extracts were determined. ABTS^{•+}, DPPH[•] and superoxide anion (O₂^{•-}) radical (SAR) scavenging activities, and the total antioxidant capacity by iron (III) reduction (FRAP) and Ferric Thiocyanate (FTC) methods were determined using the 3 different doses (75, 125 and 250 µg) of the same extracts. In the diabetes study, the anti-hyperglycemic effects of methanolic, butanolic and aqueous extracts were evaluated in STZ-induced Type-I diabetic rats in comparison with insulin. The experimental diabetes was induced by a single-dose intraperitoneal (I.P.) injection of STZ (55 mg/kg). The different doses (50, 100, 200, 400, 800, 120 mg/mL) of the 3 extracts studied were applied to the rats by gastric gavage and their blood glucose levels were recorded throughout the experiment.

Findings: According to the findings, of the extracts from *D. innoxia* seeds, hexane extract had the lowest phenolic and flavonoid content while aqueous extract had the highest. Also, it was determined that especially methanolic, butanolic and water extracts had the high total antioxidant capacity and powerful ABTS^{•+}, DPPH[•] and SAR scavenging activities. In addition, most individuals in the diabetes group alone were unable to complete the study, while almost all of those treated with the 3 extracts were able to complete it. It was determined that 50 mg/mL dose of the extracts, especially the methanolic extract, had a significant effect in STZ-induced Type-I diabetic rats compared to the insulin group.

Results: This study showed that methanolic, butanolic and aqueous extracts obtained from *Datura innoxia* seeds have strong antioxidative properties and that especially methanolic extract can alleviate hyperglycemic effects in STZ-induced Type-I diabetic rats.

Keywords: Antioxidant, *Datura innoxia*, Rat, Diabetes, Flavonoid, Phenolic,

June 2021, 76 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	viii
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	12
MATERYAL VE METOT	18
Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	18
Bitki Materyali ve Tohumların Temini	18
Tohumlardan Ekstraksiyon ve İzolasyon Yapılması	19
Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	20
Fenolik madde miktarı tayini için kullanılan çözeltiler	20
Flavanoid miktarı tayini için kullanılan çözeltiler	21
Antioksidan aktivite kararlılığı için kullanılan çözeltiler.....	21
DPPPH radikali uzaklaştırma aktivitesi için kullanılan çözeltiler	21
Süperoksit anyon radikal süpürücü aktivitesi için hazırlanan çözeltiler	21
Demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP) tayini için kullanılan çözeltiler	22
Ferric Thiocyanate Yöntemi (FTC) ile toplam antioksidan kapasitesi	22
Standart eğrilerin hazırlanmasında kullanılan çözeltiler	22
Ekstraktların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	23
Toplam fenolik madde tayini	23
Toplam flavonoid tayini	23
ABTS ⁺ radikali temizleme aktivitesi.....	24
DPPH [•] radikali giderme aktivitesi tayini	25
Süperoksit (O ₂ ⁻) radikali giderme aktivitesi	26
Demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP) tayini yöntemi	27
Ferrik tiyosiyanat yöntemi (FTC) ile toplam antioksidan kapasitesi (TAC)	28
Deney Hayvanları.....	29

Sıçanlarda STZ ile Tip-I DM oluşturulması	29
İnsülinin ve tohum ekstraktlarının hazırlanması ve uygulanması	29
Ratlara tohum ekstraktların verilmesi ve kan plazma glukoz değerinin ölçülmesi	30
Deneyin Sonlandırılması	30
ARAŞTIRMA BULGULARI	31
Çözücülerin Ekstraksiyon Verimleri	31
Ekstraktların Fenolik ve Flavonoid Madde İçerikleri	31
Ekstraktların ABTS ^{•+} Radikali Giderme Aktivitesi Bulguları	33
DPPH [•] Radikali Giderme Aktivitesi Bulguları	34
Süperoksit (O ₂ ^{•-}) Radikali Giderme Aktivitesi Bulguları	35
Demir (III) İndirgeme (Fe ³⁺ - Fe ²⁺) Kapasitesi Bulguları	37
Total Antioksidan Kapasitesi (TAC) Bulguları	38
Deney Hayvanlarının Ağırlıkları	42
<i>Datura innoxia</i> Tohum Ekstraktlarının Kan Plazma Glukoz Düzeyine Etkileri	43
TARTIŞMA ve SONUÇ	47
KAYNAKLAR	55
EKLER	61
EK 1. HADYЕК Kararı	61
ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Datura innoxia</i> Mill.	10
Şekil 2. Fenolik madde tayinide kullanılan standart grafik	23
Şekil 3. Flavanoid içerik tayini için kullanılan standart grafik	24
Şekil 4. ABTS radikali temizleme aktivitesi için kullanılan standart grafik	25
Şekil 5. DPPH radikali temizleme aktivitesi için standart grafik.....	26
Şekil 6. Süperoksit radikali giderme aktivitesi için standart grafik	27
Şekil 7. Demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP) aktivitesi için standart grafik	28
Şekil 8. Ekstraktlarda fenolik madde içeriği.	32
Şekil 9. Ekstraktlarda flavonid madde içeriği. :	32
Şekil 10. Ekstraktların ABTS radikali giderme aktivitesi.....	33
Şekil 11. Ekstraktların ABTS radikali giderme yüzdeleri.....	34
Şekil 12. Ekstraktların DPPH radikali giderme aktivitesi.....	35
Şekil 13. Ekstraktların DPPH radikali giderme yüzdeleri.....	35
Şekil 14. Süperoksit anyonu uzaklaştırma yüzdeleri.....	36
Şekil 15. Demir (III) indirgeme aktivitesi	37
Şekil 16. Ekstraktların Trolox eşdeğeri olarak demir (III) indirgeme eşdeğerleri	38
Şekil 17. Hekzan ekstraktının (HE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).....	39
Şekil 18. Etil asetat ekstraktının (EAE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).	39
Şekil 19. Metanol ekstraktının (ME) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).	40
Şekil 20. Bütanol ekstraktının (BE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).	40
Şekil 21. Su ekstraktının (SE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).	41
Şekil 22. Ekstraktların toplam antioksidan kapasitesi oranları (%).	42

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Deney Hayvanlarının Çalışma Öncesi ve Çalışma Sonlandırıldığında Ağırlık Ortalamaları (gr.)	42
Tablo 2. 50 mg/mL Bitki Ekstraktı Uygulanmış Sıçan Kan Glukoz Ortalama Sonuçları	43
Tablo 3. 100 mg/mL Bitki Ekstraktı Uygulanmış Sıçan Kan Glukoz Ortalama Sonuçları	44
Tablo 4. 200 mg/mL Bitki Ekstraktı Uygulanmış Sıçan Kan Glukoz Ortalama Sonuçları	44
Tablo 5. 400 mg/mL Bitki Ekstraktı Uygulanmış Sıçan Kan Glukoz Ortalama Sonuçları	45
Tablo 6. 800 mg/ mL Bitki Ekstraktı Uygulanmış Sıçan Kan Glukoz Ortalama Sonuçları	45
Tablo 7. 1200 mg/mL Bitki Ekstraktı Uygulanmış Sıçan Kan Glukoz Ortalama Sonuçları	46
Tablo 8. Sıçan Kan Glukoz Biyokimya Ortalama Sonuçları	46

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

[K₃ Fe(CN)₆]	: Potasyum Ferrosiyanat
4R	: Responsibility, Reduction, Replacement, Refinement
ABTS	: [2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic asit)]
ADA	: Amerikan Diyabet Cemiyeti
AlCl₃	: Alüminyum Klorür
BHT	: Bütilendirilmiş Hidroksi Toluen
CAT	: Katalaz Enzimi
CUPRAC	: Bakır (II) redüksiyon kapasitesi ile toplam antioksidan aktivite ölçümü
DM	: Diabetes Mellitus (Diyabet)
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Esetik Asit
ER	: Endoplazmik Retikulum
FCR	: Folin Ciocalteu Reagent
FRAP	: Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç
FTC	: Ferric thioycyanate
FT-IR	: Fourier Transform İnfrared Spektroskopi
GİP	: Gastrik İnhibitör Polipeptit
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptit 1
GPX	: Glutasyon Peroksidaz
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HUV-EC-C	: İnsan Endotel Hücresi
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IFG	: Bozulmuş Açlık Glukozu
IGT	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
İ.P.	: İntraperitoneal
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MTT	: 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NBT	: Nitroblue Tetrazolium Klorür
O₂⁻	: Süperoksit Anyonu
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
TAC	: Toplam Antioksidan Kapasite

TBA	: Toplam Safra Asidi
TC	: Toplam Kolesterol
TCA	: Trikloro Asetik Asit
TG	: Trigliseritler
TPTZ	: Tripiridiltriazin
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü



GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM) çağımızda bulaşıcı olmayan yaygın hastalıkların ön sıralarında yer almakla birlikte, diğer birçok kronik hastalığın ortaya çıkmasını da tetikleyen dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur. DM genellikle kan şekeri (glukoz) seviyelerinde normalden daha yüksek bir artışla karakterize edilir. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından yayımlanan istatistiklere göre her 11 yetişkinden 1'ine DM teşhisi konmakta ve her 6 saniyede 1 kişi DM'ye bağlı sorunlardan ölmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre ise dünya çapında 400 milyondan fazla insan diyabet hastasıdır ve bu hem hastalığı hem de onun sayısız yıkıcı komplikasyonlarını tedavi etme maliyetini giderek artırmaktadır. Yine IDF'ye göre, her yıl 4,6 milyon insan diyabetin sonuçlarından ölmektedir, bu oranın neredeyse %80 ise düşük ve orta gelirli ülkelerde görülmektedir. Ülkemizde ise son verilere göre, ne yazık ki 2030 yılında ulaşılacağı tahmin edilen 7 milyon diyabetli sayısına, 2015-2016 yılında ulaşılmıştır (IDF, 2014). Bu tablo, ülkemizde diyabet sayısının korkunç derecede arttığını ve artışın kontrol edilemediğini göstermektedir. Diyabet, yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasını etkileyen, pankreasta yetersiz insülin salgılanması veya insüline hücre yanıtının yitilmesi ile oluşan metabolik bir hastalıktır (Öntürk ve Özbek 2007; Yeğin ve Mert 2013). Çok sayıda bilimsel kayıtlara göre, diyabetli hastalar genellikle makro ve mikrovasküler hastalıklar, ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği ve hipertansiyon dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıklara karşı daha duyarlıdır (Benter *et al.* 2005; Öntürk ve Özbek 2007; Rao *et al.* 2010).

Tarihsel olarak değerlendirildiğinde, Diabetes ve Mellitus kelimeleri Yunanca'da "akıp gitmek" ve "bal kadar tatlı" kelimelerinden türetilmiştir. Hastalığın tarihi antik çağlara kadar uzanmaktadır. Bu dönemde yetersiz anatomi bilgisi, patofizyoloji ve tanı kriterlerinin eksikliği sebebiyle hekimler için oldukça kafa karıştırıcı bir hastalık olmuştur. M.Ö 1500 yıllarında Ebers papirüsünde; aşırı susama, bol idrara çıkma ve bitki özleri ile tedavi edilebilen karakteristik özelliklere sahip hastalık olarak tanımlanmıştır (Karamanou *et al.* 2016). Tıp tarihçisi ve Ebers papirüsünün tercümanı olan Paul Ghalioungui'ye göre Ebers'in yapmış olduğu diyabet tanımı yetersiz ve eksiktir. Kahun papirüsünde ise "susamış bir kadının tedavisi" için tarif başlığı mevcuttur ancak metin eksiktir (Ghalioungui 1987). Ünlü Hint cerrahı olan Sustura, diyabet teşhisinde sadece tatlı bir idrar değil, ayrıca yapışkan olduğuna da dikkat çekerek karıncaların idrara geldiğini belirtmiştir. Aynı zamanda diyabetin pirinç, tahıl ve tatlı gıdaların aşırı tüketim sebebiyle oluşan bir hastalık olduğunu ifade etmiştir (Peumery 1987). İngiliz anatomist ve hekim olan Thomas Willis, biyokimyayı insan işlevinin temeli olarak görmüş ve Pharmaceutice

Rationalis isimli eserinde diyabetle ilgili olarak idrar tatlılığından bahsederek Mellitus terimini ortaya koymuştur. Aynı zamanda Diabetes Mellitus'dan (DM) bahseden ilk Avrupalı hekim olmuştur. Willis diyabeti tanımlarken alışılan bulguların dışında hasta vücudunda iğneleme, sık sık veya aralıklı kasılmalar olduğunu ve kasların bükülmesinden bahsetmiştir (Reid *et al.* 1923). İbni Sina ise milattan sonra 1000'li yıllarda şeker hastalığının kalıtsal karakterini, damar komplikasyonlarını ve idrarın bal tadında olduğunu tanımlamıştır. Hastalığın pankreasla olan ilgisini ise Minkowski'nin bir köpeğe pankreatomi yapması ve diyabet olması ile ortaya koymuştur. Fransız fizyolog Claude Bernard ise 19. yüzyılda idrarda görülmekte olan şekerin karaciğerde glikojen olarak depo edildiğini bularak hastalığa dair yeni bir boyut kazandırmıştır. Daha sonra 1921'de ise Banting ve Best insülini bularak hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında önemli bir dönem başlatmışlardır (Banting and Best 1922).

Günümüzde artık DM'nin genellikle genetik ve çevresel faktörlerle birlikte ortaya çıkan ve kan glukoz seviyesinin yükselmesine (hiperglisemi) yol açan metabolik bir hastalık olduğu bilinmektedir. DM'nin kronik hiperglisemisi, özellikle gözler, böbrekler, sinir, kalp ve damar bozukluğu ve farklı kasların yetersiz çalışması ile ilişkilidir. Bunlara ilave olarak, diyabetin gelişimi, çeşitli patojenik süreçleri içerir. Bunlar, pankreas β hücrelerinin otoimmün yıkımını ve bunun sonucunda ortaya çıkan insülin eksikliği ve insülin direncine yol açan anormallikleri içerir. İnsan vücudundaki kan şekerinin düzenlenmesi, birçok kimyasal ve hormonun karmaşık etkileşimi ile sağlanır. Glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan en önemli hormon, pankreas β hücreleri tarafından salgılanan insülinidir. Diyabette anormal karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasının temeli insülinin hedef dokular üzerindeki yetersiz etkisidir. Yetersiz insülin eylemi, yetersiz insülin salgılanması ve/veya hormon eyleminin karmaşık yoluyla bir veya daha fazla noktada insüline azalmış veya yanıt vermeyen doku yanıtından kaynaklanmaktadır (Petersmann *et al.* 2019).

Diyabet vakaları genelde 2 geniş etiopatogenetik kategoriye ayrılır. Kategorilerden biri olan Tip-I diyabetin nedeni insülin salgılanmasındaki eksikliktir (Petersmann *et al.* 2019). Bu tip diyabette pankreasta bulunan Langerhans adacıklarında meydana gelen bir otoimmün patolojik süreç, serolojik ve genetik belirteçler ile tanımlanır. Bir diğeri daha yaygın olan kategori Tip-II diyabette ise insülin etkisine direnç ve yetersiz seviyede insülin salgılama tepkisinin birleşimidir. Tip-II diyabette, farklı hedef dokularda patolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olabilecek ancak klinik semptomlar oluşmadan önce uzun bir süre boyunca bir hiperglisemi derecesi olabilmektedir. Bu semptomsuz dönemde, açlık durumunda plazma glukozunun ölçülmesiyle veya glukoz yüklenmesi ile bireyde karbonhidrat metabolizmasının normal olmadığını gözlemlemek mümkündür. Ancak, ideal diyabet sınıflandırılmasının hem

klirik tanımlayıcı kriterlere dayanan hem de etiyolojik gruplandırmayı içermesi gerektiği düşüncesi ile Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) tarafından 1997 yılında terminolojide bazı değişiklikler yapılması gerektiği önerilmiştir (ADA 2012, Akçay vd. 2000). ADA yapmış olduğu diyabet kriterlerini 2003 yılında tekrar düzeltmeler yaparak yayınlamıştır (ADA 2012). Bu durumda başlıca 4 çeşit diyabet olduğu bildirilmiştir.

Tip-I Diyabet: Tip- I diyabetin klinik belirtilerinden önce, değişken süreli semptomsuz bir dönem gözlenebilir. Bu çeşitte, hücre yıkım oranı değişkendir. Özellikle bebekler ve çocuklarda hızlı iken yetişkinlerde ise yavaştır. Daha önce insüline bağımlı olmayan diyabet, Tip- I diyabet veya juvenil başlangıçlı diyabet şeklinde tanımlanan bu tip diyabet, pankreas β hücrelerinin tahrip olmasının bir sonucudur. Otoimmün enflamasyonla yok edilen pankreas β hücrelerinin tekrar insülin üretebilmesini sağlamak şimdiye kadar mümkün olmamıştır ve denenen çeşitli ilaçlardan da olumlu sonuç alınamamıştır. Öte yandan insülin hormonu dışardan verilerek Tip-I diyabet hastaları sağlıklı bir yaşam sürebilmektedir. Bazı hastalar, özellikle çocuklar ve ergenler hastalığın ilk semptomu olarak ketoasidoza sahip olabilir. Diğerlerinde, enfeksiyon veya diğer stres altında hızla şiddetli hiperglisemi ve/veya ketoasidoza dönüşebilen orta derecede açlık hiperglisemi vardır. Bazı insanlar, özellikle yetişkinler ketoasidozu önlemek için yıllarca yeterli kalan β hücre fonksiyonunu koruyabilirler. Bu tür bireyler sonunda hayatta kalmak için insüline bağımlı hale gelir. Hastalığın son safhasında insülin salgısı çok azdır veya hiç yoktur, düşük veya tespit edilemeyen plazma C-peptid seviyeleri ile kendini gösterir. Tip-I diyabetin immün kökenli olanında, β hücrelerin otoimmün yıkımı büyük miktarda genetik yatkınlığa sahiptir ve aynı zamanda çevresel faktörlerle güçlü bir şekilde ilişkilidir. Bu tip diyabeti olan hastalar nadiren obez olsalar da obezite ile tanı konulamamaktadır. Bu hastalar ayrıca Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi, Addison, Vitiligo, Çölyak, otoimmün hepatit, Miyastenia gravis ve Pernisiyöz anemi gibi diğer otoimmün hastalıklara da eğilimlidir. Ancak idiyopatik (patofizyolojisi bilinmeyen) Tip- I diyabette ise kalıcı insülinopeni (insülin salgılama bozukluğu) vardır ve ketoasidoza daha eğilimlidir, fakat otoimmünite kanıtı belirlenemez. Tip-I diyabet hastalarının çok az bir bölümü bu kategoriye girse de bu hastaların çoğu Afrika veya Asya kökenlidir. Aynı zamanda bu kategoride tanımlanan hastalar, epizodik ketoasidozdan muzdariptir ve epizodlar arasında farklı seviyelerde insülin eksikliği sergilerler.

Tip-II Diyabet: Genel olarak insülin direncinden kısmi insülin eksikliğine ve insüline dirençli olan insülin salgılama kusurlarına kadar değişir. Daha önce insüline bağımlı olmayan diyabet olarak bilinen bu diyabet formu, diyabetik hastaların %90-95'ini veya yetişkin başlangıçlı diyabeti oluşturur. Bu tip diyabetin birçok farklı nedeni olabilmektedir. Spesifik neden bilinmemekle birlikte, hiçbir hücresel otoimmün yıkım meydana gelmemiştir ve hastanın

belirgin bir diyabet nedeni yoktur. Tip-II diyabette β hücrelerde insülin sentezi, salgılanması ve depolanmasında bir kusur olmamakla birlikte, β hücre sayısı da normaldir, fakat periferik dokularda insülin aktivitesi ve insüline direnç azalmıştır. Glukoz yanıtının zayıflaması ve hipergliseminin oluşumunda en önemli faktör, insülin reseptörünün düzensizliğinin neden olduğu glukozun tanınmasındaki bir kusurdan kaynaklanmaktadır (Öbek1990; Kayaalp 2000; Kelly and Goodpaster 2001; Onat vd. 2006). Genel olarak, Tip-II diyabetin oluşumu için 3 faktör sorumlu tutulmaktadır (De Fronzo 1999). Bunlar:

1. Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT) ve Bozulmuş Açlık Glukozu (IFG): Bozulmuş glukoz toleransı ve bozulmuş açlık kan şekeri, normal glukoz toleransı ile diyabet arasında bir ara metabolik bozukluk olarak tanımlanmaktadır. Her iki bozukluğun da gelecekteki diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olduğu belirtilmiştir. Her iki sorunun bulunması birbirinin etkinliğini artırmaktadır (De Fronzo 1999; WHO 1999; Akçay vd. 2000; Rodriguez *et al.* 2002; Unwin *et al.* 2002; Onat vd. 2006; ADA 2012).

2. İnsülin Direnci: Vücut dokularının insülin etkisine karşı azalmış duyarlılığı olarak tanımlanmaktadır. Pankreas tarafından salgılanan insülin, karbonhidrat ve yağ metabolizmasını düzenler. İnsülin direnci durumunda karaciğer, kas ve yağ doku hücreleri kandaki fazla glukozu absorbe edemez ve hiperglisemi gerçekleşir. Yüksek kan şekeri, pankreasın daha fazla insülin salgılamasına, salgılanan insülin ise insülin salgısının azalmasına neden olacak ve pankreas bezlerinin belli bir süre sonra yorulmasına bağlı olarak Tip-II diyabet oluşacaktır (Porte 1991; Mitrakou *et al.* 1992; Polonsky 1995; De Fronzo 1999; Mahler and Adler 1999; Östenson 2001; Liu *et al.* 2007; Karpe *et al.* 2011).

3. Bozulmuş İnsülin Salgılanması: Bozulmuş insülin sekresyonu, Tip-II diyabetin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. İnsülin yanıtı (hiperinsülinemi) başlangıçta sürekli glukoz uyarımı nedeniyle artar ve insülin direnci nedeniyle kullanılamaz, ancak hücre yorgunluğu arttıkça insülin yanıtı azalmaya başlamaktadır. Obez yetişkinlerde, insülin direnci genellikle açlık ve yeme koşulları altında artan insülin konsantrasyonu ve azalan insülin reseptörü sayısı ile görülmektedir. İnsülin reseptörlerinin sayısındaki azalmanın, reseptörleri aşağı regüle eden insülin seviyelerindeki artışa bağlı olduğuna inanılmaktadır (Porte 1991; Mitrakou *et al.* 1992; De Fronzo 1999; Östenson 2001; Guillen *et al.* 2006; DeJkhamron *et al.* 2007).

Gestasyonal (Gebelik) Diyabet: Gestasyonal, yıllarca, hamilelik sırasında başlayan veya ilk kez keşfedilen bir glukoz intoleransı olarak tanımlandı. Çoğu vaka doğumla birlikte düzelse de durumun gebelikten sonra devam edip etmediği durumu hala tartışmalıdır. Devam eden obezite ve diyabet salgını, doğurganlık çağındaki kadınlar arasında Tip-II diyabet

insidansında bir artışa neden olurken, tanı konulmamış Tip-II diyabetli gebe kadınların sayısı giderek artmaktadır. Gebelik döneminde görülmekte olan bu tip diyabet gebelerin %3'ünde görülebilmektedir ve bu oran bölgelere göre değişim gösterebilmektedir (WHO 1999; Kayaalp 2000; Beers and Berkow 2002; Onat vd. 2006; Reece *et al.* 2009; ADA 2012). Hamilelik sırasında salgılanan birçok hormon kan glukozunun yükselmesine (hiperglisemi) neden olabilmektedir. Özellikle plasentadan salınan laktojenik hormon, bir miktar progesteron ve östrojen, insülin direnci üreterek hiperglisemiye neden olmaktadır (Alp and Molvalılar 1987; Kühl 1991; Ryan *et al.* 1995; Reece *et al.* 2009).

Diğer diyabet tipleri: Bu grup diyabet çeşidine, diğerlerine oranla daha az rastlanılmaktadır. Kalıtsal β hücre eksikliği, insülin etkisizliği, ekstrakapsüler fibroz, akromegali, Cushing sendromu ve glukagon gibi ekzokrin pankreatik hastalıklar ve β hücre fonksiyonunu bozan ilaçlar veya hormonlar ve insülin etkisini bozan ilaç ve kimyasallar (tiazidler, glukokortikoidler, β adrenerjikler), immün aracılı diyabetin nadir görülen formları ve Klinefelter sendromu, Down sendromu ve Porfiria gibi genetik sendromlar nedeniyle enfeksiyon meydana gelebilir (Beers and Berkow 2002; Onat vd. 2006, ADA 2012).

İnsülin (Latince, *İnsula*–adacık demektir), pankreatik Langerhans adacıklarının β hücreleri tarafından sentezlenen bir proteinik (polipeptid yapısında) hormondur. Normal koşullarda β -hücrelerinde 110 amino asitten oluşan tek zincirli bir insülin öncüsü olan pre-proinsülin oluşur. Bu, endoplazmik retikulum (ER) membranından salınmasından sonra, 24 amino asitten oluşan bir bölüm pre-proinsülininden kesilir ve proinsülin oluşur. Golgi cisimciğindeki bu proinsülin zinciri, granüllere doldurulur. Burada ise 4 ana amino asit, insülin ve C-terminal peptidi oluşturmak için koparılır (C-peptidin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir). Sonuçta, insülin iki polipeptit zincirinden ibaret olan bir polipeptid haline dönüşür. Bunlardan biri 21 amino asit (zincir A), ikincisi ise 30 amino asit (zincir B) içerir. Bu iki polipeptid, iki disülfid bağı ile birbirlerine bağlanır. İnsülin polipeptitlerin molekül ağırlığı yaklaşık 5700 KDa'dur. İnsülin hormonunun amino asit dizisi memelilerde yüksek oranda korunmuş olan bir gene sahiptir. Birçok memeli, tek bir tane proteini kodlayan bir insülin geni bulundurur. Ancak fareler istisna olarak her birinde iki insülin geni taşır ve B zincirinde sadece iki amino asitte farklılık taşıyan iki tip insülin sentezlerler. Kan glukozu insülin salgılanmasını gerektirecek seviyeye (80 mg/dL) geldiğinde proinsülinin yapısındaki iki peptit bağı golgi cisimciğinden koparılarak insülin oluşturulur. İnsülin salgılanırken yeni insülin moleküllerinin sentezi de uyarılır. Kan glukoz seviyesi normal seviyeye ulaşmaya kadar insülin salgısı devam etmektedir. Yarı ömrü 3-5 dakika olan insülin kandan kolaylıkla karaciğer ve böbrek tarafından temizlenebilir. Kan glukoz seviyesi arttığında, glukoz transporter 2 (Glut 2) taşıyıcıları glukozu

pankreas β hücrelerine taşıyarak glukozun hemen heksokinaz enzimi tarafından glukoz-6-fosfata çevirerek glikoliz yoluna sokar. Glukoz parçalanmasının hızı arttığında, ATP miktarı artacağından ATP hücre zarındaki K^+ kanallarının kapanmasına neden olmaktadır. K^+ iyonu çıkışının azalması hücre zarında depolarizasyona sebep olur. Bu sebepten Ca^{+2} artması ekzositoz nedeniyle insülin salgılanmasını tetiklemektedir. Proteince zengin bir yemekten sonra salgılanan insülin miktarı karbonhidrat bakımından zengin olan yemekten daha azdır. Yemek sonrasında salgılanan barsak hormonları olan Gastrik İnhibitör Polipeptit (GİP) ve Glukagon Benzeri Peptit 1 (GLP-1) insülin salgılanmasını başlatmaya yardımcı rol oynamaktadır. Açlık, stres, travma ve aşırı egzersizde salgılanmakta olan adrenalin, insülin salgılanmasını azaltmaktadır. Adrenalin salınımı enerji kullanılmakta olduğunu bildirir ve insülin depolanmasını uyarmasından dolayı daha az insüline ihtiyaç olduğuna işaret eder. Büyüme hormonu, kortizol, östrojenler ve progesterinlerin yüksek oranda salgılanmasına uzun süre maruz kalan bireylerde insülin salgılanma miktarı daha fazladır. Gebeliğin son evrelerinde insülin salgılanmasının artmasındaki temel sebep çeşitli hormonların salgılanmasıdır (Pacini 2017).

Organizmada insülinin fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini oluşturan temelde aktifleşmiş insülin reseptörleridir. İnsülin etki ettiği hücrelerin içerisine girmez, fakat plazma zarında bağlandığı reseptöründen, sitozoldeki insüline duyarlı enzimlere ve spesifik gen ifadelerinin uyarıldığı çekirdeğe uzanan çok kompleks bir yolak aracılığıyla sinyalini başlatır. Hormonun ilk mesajı aktif hale gelmiş reseptör ve ikinci haberci tarafından hücre içi enzimlere aktarılır. İnsülin reseptörü, Büyüme Faktörü Reseptör Ailesi üyesidir. Sürekli olarak insülin sentezlenip yıkılmaktadır. İnsülin reseptörünün sahip olduğu ekstraselüler olan ve yapısında sisteince zengin bölgelerde bulunan α alt ünitesine insülin bağlanmaktadır. Transmembran proteini olarak işlev gören ve sinyal iletiminde görevli olan β alt ünitesinin sitozoldeki kısmı ATP'den belirli hedef proteinlere bir fosfat grubu aktarılmasını sağlayan tirozin kinaz aktivitesine ve otofosforilasyon noktasına sahiptir ve β ile α subunite disülfid bağı ile bağlıdır. İnsülin, kendi reseptörlerinin yanı sıra düşük düzeylerde de olsa somatomedinler ve insülin benzeri bazı büyüme faktörlerine ait reseptörlere bağlanabilir (Hubbard 2007).

Günümüzde diyabet için uygulanan tedavi yöntemleriyle iyi bir glisemik kontrol sağlanmasına rağmen, diyabete bağlı olarak ortaya çıkan komplikasyonları önlemede yeterince etkili olamadıkları ileri sürülmüştür. Bu nedenle, diyabetin, çeşitli organlarda hasar oluşturma potansiyeli ile kendine özgü komplikasyonların gelişmesine yol açan etkileri yaygındır (Doğan 2005; Sağlam 2008). Örneğin, organizmada serbest radikallerin (süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi) oluşum hızı ile bunları etkisizleştiren antioksidan savunma sistemi (enzimatik veya enzimatik olmayanlar) arasında bir denge bulunmaktadır. Oksidatif

denge olarak kabul edilen bu dengenin sağlandığı sürece, organizma serbest radikallerin oluşturduğu hasarları tolere edebilmektedir. Serbest radikallerin veya diğer bir tanımla reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretilme hızında aşırı artma ya da bunların detoksifikasyonunda bir düşme, bu dengenin bozulmasına sebep olacaktır. Böyle bir durumda ise hücre ve dokularda hasara neden olan oksidatif stres ortaya çıkacaktır. Oksidatif stresin sürekliliği ve ilerlemesi diyabetin sebebi ve diyabete bağlı komplikasyonların oluşma nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Hem deneysel hem de klinik çalışmalarda, oksidatif stresin pankreatik β -hücrelerinin yıkımı/disfonksiyonu ve diyabetin sonraki komplikasyonlarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Diyabet süresince antioksidan savunma sisteminin düştüğu, serbest radikallerin biyomoleküllere (lipidler, proteinler ve DNA gibi) verdiği hasar sonucu oluşan reaktif bileşiklerin oranında artış olduğu bildirilmiştir. Tip-I diyabet tedavisinde insülinin tek alternatif olması, Tip-II diyabet tedavisinde kullanılan anti diyabetik ilaçların çeşitli organlarda oluşturdukları yüksek toksisiteden dolayı yeni ilaçların keşfedilmesi için yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır (Dikilidal 2013; Baz *et al.* 2016). Diğer taraftan, diyabet tedavisinde tam olarak hastalığın seyrini geri evirmese de yaşam tarzı değişiklikleri (diyet ve egzersiz) de büyük önem kazanmıştır. Vücudumuz kan şekeri glukozun ekmekten ya da tatlıdan geldiğini anlayamaz ve bu yüzden karbonhidrat alınınının sınırlandırılması gerekmektedir. İşlenmiş yiyecekler ise içerdikleri boyalar, katkı maddeleri ve sentetik kimyasallar nedeniyle vücutta enflamasyonu artırır ve nihayetle insülin direncini tetikler. Bu durum Tip-II diyabete zemin hazırlamakla kalmaz, hastalığın ilerlemesine de neden olur. Diyabetten korunmak için ve dengeli kan şekeri seviyesine sahip olabilmek için sağlıklı yağlar tüketilmelidir. Sebze ve meyveler fazla miktarda tarım ilacı ve hormon içerdiklerinden mevsiminde tercih edilmelidir. Bu besinler yoluyla vücudumuza alınan toksik maddeler, ROT bileşiklerini artırarak tüm hücresel fonksiyonları olumsuz etkiler ve diyabeti tetikler. Probiyotik besinler tüketilerek barsak florasında bulunan yararlı bakterileri artırarak insülin direnci kırılabilir. Tip-II diyabet hastalığının tedavisinde önemli besin takviyelerinden bir diğeri de insülin direncini kırmada yardımcı olan omega-3 yağ asidi olduğu belirlenmiştir. Tüm hücreleri etkileyen ve tüm metabolik fonksiyonlarda rol alan insülin hormonun eksikliği, vücutta insülin direncini artırır. Bu yüzden D vitamini değerlerinin normal değerlerde olmasına da dikkat edilmelidir. Anti-diyabetik beslenme modeli egzersizle desteklendiğinde, insülin direnci kırılarak kan şekeri daha hızlı düzene girmektedir (Pari and Latha 2004).

Son yıllarda diyabeti de içine alan neredeyse tüm hastalıklarda tıbbi bitkilerin kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Pek çok ülkede, bu büyüme 15-20 yıl önceki tüketimin 2-3 katıdır. Tıbbi bitkilerin tüketimine paralel olarak tarımına olan ilgi de artmıştır (Arslan 1986). Ancak halen ülkemizde ilaç endüstrisinin ihtiyacı olan hammaddelerin %70'i veya daha fazlası ithal

edilmektedir. Ülkemiz ilaç endüstrisi her yıl 100 milyon dolardan fazla hammaddeye ihtiyaç duymaktadır (Kırıcı ve Özgüven 1993). İthal farmasötik hammaddeler arasında bitkilerde doğal olarak bulunan, kültüre alınıp yetiştirilebilen hammaddeler de bulunmaktadır (Kuyumcu 1986).

Tıbbi bitkilerin hastalıkları tedavi etmek ve önlemek için kullanımına ilişkin en eski bilimsel kanıtlar, 5000 yıl önceki Çin, Hindistan ve Yakın Doğu medeniyetlerine kadar uzanır. Anadolu'da şifalı bitki kullanımının en eski kaydı Hitit başkenti Boğazköy'de bulunan Hitit stellerinde bulunmuştur. Kayıtlara göre bazı tedavilerde mandala, badem, hardal, haşhaş, mazı, meyan kökü, sarımsak, söğüt, pegasum ve zeytin kullanılmıştır (Anonymous 1997). On sekizinci yüzyıla kadar, şifalı bitkilerin tozları, dekoksyon ve infüzyonları kullanılmış ve aktif maddeler bitkilerden ayrılmıştır. Yirminci yüzyılda analitik kimya endüstrisinin gelişmesi nedeniyle tıpta sentetik maddeler oluşmaya başlamıştır. Bugün yaygın sentetik ilaçlara rağmen, bitkisel ilaçlarla tedavi önemini kaybetmemiş ve giderek de artmaktadır. Sentetiklerin aksine, bitkilerden üretilen kimyasallar organizma ve ekosistemin doğal yapısına daha uygun olduklarından, genellikle yan etkileri yoktur veya azdır (Akın ve Ceylan 1986).

Tıbbi bitkilerle tedavi anlamına gelen fitoterapi terimi, ilk kez Fransız hekim olan Henri Lecrec tarafından kullanılmıştır. Bitkilerin üretmiş oldukları primer ve sekonder metabolitler doğrudan ve direkt olarak endüstrinin en temel ürünleridir. Ülkemiz, geniş coğrafi konumu ve çeşitli iklimlerin olması nedeniyle fitoterapide kullanılan bitki florası çeşitliliği açısından oldukça zengindir. Ülkemizdeki etnobotanik bilgi birikimi, deneme yanılma yoluyla elde edilmiş ve nesilden nesle aktarılarak bitkilerin bilimsel olarak değerlendirilmelerine önemli katkıda bulunmuştur. Anadolu'da tarih öncesi dönemden başlayarak günümüze kadar bitkisel ilaçlar hakkında araştırmalar bulunmaktadır. Osmanlı İmparatorluğu döneminde halk, ilaç gereksinimlerini doktorlar veya aktarlar tarafından hazırlanan karışımlarla sağlamaktaydı. Seksenli ve doksanlı yıllarda tıbbi ve aromatik bitkiler üzerinde başlayan araştırmalar bitkilerin üretimindeki gelişmelere, bioaktif bileşenlerin ekstraksiyonuna ve tıbbi uygulamaların doğrulanmasına liderlik etmiştir (Khan *et al.* 2019). Son yıllarda ise bireylerin tıbbi bitkilere yönelmelerindeki sebeplerden biri, hastalık çeşitlerinin geliştirdikleri direnç sonucu ortaya çıkan dirençli patojenik mikroorganizma suşlarıdır. Örneğin sıtma tedavisinde Atebrin kullanılsa da tropik bölgelerde yetişmekte olan chinchoa ağacından elde edilen kinin önem taşımaya devam etmektedir (Faydaoğlu 2011).

Farklı kültürlerde birçok bitki türü, diyabet tedavisi için destekleyici bir ajan olarak kullanılmakta ve anti-diyabetik ilaçların keşfinde de önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Literatürde diyabet tedavisinde kullanılan bitkiler ve bitkilerden elde edilen çeşitli bileşikler ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bitki ekstreleri (özütleri); etkinliklerinden, yan

etkilerin düşük olmasından, erişilebilirliklerinden ve düşük maliyetlerinden dolayı diyabet tedavisinde giderek daha çok popülerite kazanmaktadır. Örneğin streptozotosin (STZ) verilerek deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda *Punica granatum* bitkisinin çiçek ekstraktının diyabetik sıçanlarda açlık kan glukoz, lipid profili, lipid peroksidasyonu, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan parametreleri üzerinde yararlı etki gösterdiği belirlenmiştir (Sani *et al.* 2012). Yine deneysel diyabet modelinde keten ve kabak çekirdeği karışımının etkisinin incelendiği bir çalışmada diyabetik sıçanlara uygulanan karışımın antioksidan parametreler üzerinde faydalı etkiler gösterdiği, aynı zamanda karaciğer enzimlerinde görülen yükselmelerin önüne geçerek kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını belirlenmiştir (Deutschländer *et al.* 2009). *Stevia rebaudiana* yaprağının diyabetin neden olduğu hasarın düzeltilmesinde olumlu sonuçlar gösterdiği belirtilmiştir (Doğan 2005). Hipoglisemik ve antioksidatif aktiviteleri olan bitkilerden yeni bileşiklerin belirlenmesi giderek daha büyük önem taşımaktadır. Sentetik ilaçlar istenmeyen yan etkilere veya kontrendikasyonlara sahip olduklarından, WHO diyabet için geleneksel bitki tedavilerinin değerlendirilmesini de önermiştir. Bu kapsamda tıbbi ve aromatik bitkiler, çeşitli sağlık sorunlarına yönelik olarak dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Mevcut farmasötiklerin müstahzarların yaklaşık %50'si bitkilerden elde edilir. Bitkilerden izole edilen çok sayıda molekül (bazı alkaloidler ve lektinler gibi), plazma glukoz seviyelerini azaltarak hipoglisemik ajan olarak kullanıma potansiyeline sahip olabilmektedir. Örneğin, diyabetik bireylerde glukoz seviyelerini etkili bir şekilde azaltan biguanid sınıfının bir ilacı olan metformin, başlangıçta diyabet ve diğer rahatsızlıklarla ilgili semptomları tedavi etmek üzere orta çağ Avrupa'sında bir tıbbi bitki olan *Galega officinalis*'den (keçi sedefotu veya diyabet otu) izole edilen bir guanidinden üretilmiştir. Bilindiği gibi bitki sekonder metabolitleri; glukozitler, alkaloidler, saponinler, fenolik bileşikler, terpenler, steroidler ve antrakinonları içerir. Son yıllarda bitki sekonder metabolitleri arasında, glisemik normalizasyonu destekleyen, insülin salınımını teşvik eden, insülin direncini azaltan, alkaloid ve flavonoidler dahil olmak üzere insülino-mimetik etkileri olan yüksek çeşitliliğe sahip moleküller izole edilmiştir. Diyabet tedavisinde kullanılan birçok ilaç, bu tür hipoglisemik etki mekanizmalarını sunması nedeniyle, bu moleküller için prospeksiyon ve yeni ilaçların geliştirilmesini sağlaması bakımından önemlidir (Sani *et al.* 2012; Baz *et al.* 2016).

Etnobotanik veya etnomedikal bitkiler çoğunlukla sağlık alanında sayısız tedavilere yol açmış olsa da hızla sanayileşme ve yöresel kültürlerin hızlı kaybı ile bu bilgilerin bir kısmı yok olması kaçınılmaz görülmektedir. Etnobotanik verilerin ve araştırılmamış halk bitkisi ilaçlarının validasyonu, şüphesiz yeni bileşiklerin ve yeni ilaçların keşfine yönelik yenilikçi stratejilere yol açabilir (Baz *et al.* 2016; Bhardwaj *et al.* 2016). Etnomedikal perspektifte önemli bir tıbbi bitki olan *Datura innoxia* Mill. (Ebuzambak) (*Solanaceae*), Türkiye, Çin, Meksika,

Amerika Birleşik Devletleri ve çoğu Asya ülkelerinde sulak alan kenarlarında doğal olarak yetişir. Bu bitki fazla tüketildiğinde halüsinasyonlara ve sayıklamaya neden olur ki bu da psikoza yol açabilir. *Datura innoxia*, basit glandüler tüyleri ve genellikle tümüyle nadiren tırtıklı ve tüylü yaprakları ile ayırt edilir (Şekil 1). Dallar (gövde) genellikle mor renklidir. Meyve sarkık, tüylü ve kuruduğunda sert dikenler (emergens) ile kaplıdır. *Datura* türleri bazı ülke halkları tarafından astım tedavisi için tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Fatima *et al.* 2015; Bhardwaj *et al.* 2016). *Datura* türleri özellikle içerdiği alkaloidlerle öne çıkmaktadır. Örneğin, *Datura innoxia* bitkisinin içerdiği önemli alkaloidler atropin, hiyosiyamin ve skopolamin'dir. *Datura* alkaloidleri (özellikle atropin) günümüzde göz hastalıklarının tanı ve tedavisinde kullanılmaktadır. Göz dibi muayenelerinin yanı sıra genel narkozda senkoplara karşı, kalp hastalıklarında digitalin sinir bloğuna karşı ve morfin, kurşun gibi zehirlenmelerinin antidotu vb. olarak kullanılır. Skopolaminin merkezi sinir sisteminde depresyon yapıcı etkisi ameliyat öncesi hastaların ve akıl hastalarının sakinleştirilmesi ve deniz tutmasına karşı da etkileri vardır. *Datura* alkaloidlerinin en çok kullanıldığı yerlerden biri de Parkinson hastalığıdır. Skopolamin, Parkinson hastalığında görülen titremeleri azaltır. Bu yönden atropine nazaran on kat daha etkilidir. Bitkinin diğer bildirilen kullanımları tüm kısımlarının anti-enflamatuvar özelliği, merkezi sinir sistemini uyarması, solunum yolu tıkanıklığı, deri enfeksiyonları ve aynı zamanda diş ağrısı tedavisinde kullanıldığı ile ilgili bilgiler bulunmaktadır (Babalola *et al.* 2015; Fatima *et al.* 2015; Bhardwaj *et al.* 2016).



Şekil 1. *Datura innoxia* Mill. (<http://www.flora.sa.gov.au/efsa/lucid/Solanaceae>)

Bu araştırma öncesinde, Ülkemiz Doğu Akdeniz Bölgesi, özellikle Gaziantep yöresinde, etnobotanik anlamda sahada yaptığımız incelemelere ve gözlemlere göre, *Datura innoxia* tohumlarının diyabete iyi geldiği ve kan şekerini düşürdüğü yönünde sözlü veriler elde edilmiştir. Belirlediğimiz etnobotanik bulgulara göre, bu bitkinin tohumlarından bir miktarını (yaklaşık 5 adet) oral yolla günlük alan diyabet hastalarının kan şekerlerinin anlamlı bir şekilde

düştüğü ifade edilmektedir. Bunun halk arasındaki bazı kişilerde genel bir kanaat olduğunu ve diyabet hastalarına tavsiye edildiği belirlenmiştir. Bu gözlemler doğrultusunda, *D. innoxia* tohumlarının diyabet üzerindeki etkisinin ve etkili madde/maddelerin bilimsel olarak ortaya konulmasıyla birlikte, diyabet için ilaç olarak kullanım potansiyelinin araştırılmasının önemli olduğunu değerlendirdik. Bu nedenle mevcut araştırmamızda, streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet (Tip-I) oluşturulan sıçanlarda, *Datura innoxia* tohumlarından farklı çözücülerle elde edilen (düşük polariteden yükeğe göre; hekzan, etilasetat, bütanol, metanol ve su) ekstraktların diyabet üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, *Datura innoxia* tohumlarından elde edilen ekstraktların diyabet (Tip-I hiperglisemi) ve diyabetin sebep olduğu çeşitli komplikasyonlar üzerinde iyileştirici etkilerin olup olmadığı bilimsel olarak ilk kez ortaya konmuştur.



KURAMSAL TEMELLER

Yapılan literatür araştırmalarında *Datura innoxia* bitkisi ile ilgili kardiyovasküler ve anti-kanser üzerine çalışmalarının bulunduğu, ancak bitkinin anti-diyabetik özelliği üzerine herhangi bir çalışma yapılmadığı tespit edilmiştir. Çalışmamız, anti-diyabetik özellikteki bitkiler alanında olduğu için kaynak özetleri kısmında literatürde yer alan bazı anti-diyabetik bitkilere, ekstraktlarında kullanılan organik çözeltilerine, kullanılan bitki ekstraktlarının ve insülin dozuna yer verilmiştir.

Geçmişten günümüze farklı kültürlerde birçok bitki türü, diyabet tedavisi için tamamlayıcı bir kaynak olarak kullanılmakta ve anti-diyabetik ilaçların keşfinde önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Literatürde diyabet tedavisinde kullanılan bitkiler ve bitkilerden elde edilen çeşitli bileşikler ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bitki ekstreleri (özütleri), etkinliklerinden, yan etkilerin düşük olmasından, erişilebilirliklerinin kolay olması ve düşük maliyetlerinden dolayı diyabet tedavisinde giderek daha çok popülerlik kazanmaktadır. Örneğin streptozotosin (STZ) verilerek deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda *Punica granatum* bitkisinin çiçek ekstraktının açlık kan glukozu, lipid profili, lipid peroksidasyon, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan parametreleri üzerinde olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir. Yine bir deneysel diyabet modelinde keten ve kabak çekirdeği karışımının diyabetik sıçanlarda antioksidan parametreler üzerinde faydalı etkiler gösterdiği, aynı zamanda karaciğer enzimlerinde görülen yükselmelerin önüne geçerek kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığı belirlenmiştir. *Stevia rebaudiana* yaprağının hipoglisemik aktivite göstermesinin yanında STZ'nin karaciğer ve böbreklerde neden olduğu hasarın iyileştirilmesinde olumlu sonuçlar gösterdiği belirtilmiştir (Pari and Latha 2004; Doğan 2005; Sağlam 2008; Deutschländera *et al.* 2009; Sani *et al.* 2012; Gonzales, 2013; Fatima *et al.* 2015).

Datura (tatula, şeytan elması veya ebuzambak) anavatanının neresi olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Buna rağmen Amerika ve özellikle Meksika'nın yüksek rakımlı alanları olduğu söylenmektedir. Ayrıca Batı Asya ve daha birçok yerde geniş yayılım gösterdiği bilinmektedir. Tek veya çok yıllık olan *Datura*'da sap 1-1,5 m boylanabilmektedir. Sap yuvarlak ve genellikle çıplaktır. Kotiledonlar 2-4 cm uzunluğunda, ensiz, büzülmüş, fakat tohum gelişmesi boyunca tohum üzerindedir. Meyvesi, çok tohumlu bir kapsüldür. 10 kadar türü vardır. Bunlardan *Datura innoxia*, *D. metel* ve *D. stramonium* yurdumuzda özellikle Doğu Akdeniz kesiminde yabani olarak yaygın bir şekilde yetişir. Ekolojik açıdan bakıldığında, *Datura* cinsi genellikle azot bakımından zengin topraklarda ve stresli habitatlarda bulunur (Bye

and Sosa, 2013; Kariño-Betancourt *et al.* 2014). Tüm *Datura* türleri tropane alkaloidleri içerir. Bitkinin tüm kısımları anodin, antispazmodik, halüsinojenik, hipnotik ve narkotiktir. Geçmişte ağrı kesici olarak ve ayrıca delilik, nezle ile ateş, ishal ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. Bitki, en aktif olanı skopolamin olan birkaç çeşit alkaloid içerir. Bu, şizoid (kişilik bozukluğu) hastaları sakinleştirmek için kullanılan güçlü bir kolinerjik bloke edici halüsinojendir. Yapraklar %0,52; kaliksler %1,08; gövdeler %0,3; kökler %0,39; meyveler %0,77; kapsüller %0,33; tohumlar %0,44 ve bütün bitki %0,52-0,62 arasında skopolamin içerir. Toksik doz, tıbbi doza çok yakın olduğundan, bu bitkinin her türlü kullanımı son derece dikkatli ve ancak bir uzmanın gözetimi altında yapılmalıdır (Emboden 1972; Weiner 1980; Chopra *et al.* 1986).

Datura innoxia birçok farklı sekonder metabolit içermektedir. Genel organlarında (kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohumlar) 53 alkaloid tanımlanmıştır. Bunlardan 17 tanesi ilk kez bu tür için ve bir nor-türevi olan 3-fenilasetoksinortropanın *Datura* cinsi için yaygın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, dört yeni tropan ester, 3-asetoksi-6,7-epoksitropan (asetilskopin), 3-asetoksi-6-propiyoniloksi-7-hidroksitropan, 6,7-dehidro 3-fenilasetoksitropan ve 3-(2'-fenilpropioniloksi)-6,7-epoksinortropan (dihidroaponor skopolamin), hyoscyamin ve skopolamin köklerde ve toprak üstü kısımlarında ana alkaloidler olarak tespit edilmiştir. Bu veriler *D. innoxia*'nın alkaloidler bakımından zengin olduğunu göstermektedir (El Bazaoui *et al.* 2012). Farklı bir çalışmada ise *Datura innoxia* tohumlarından lektin izole edilmiştir. Fizikokimyasal özellikleri belirlendiğinde, bunun hemaglutinize edici aktivitesi gösterilmiştir. Elde edilen lektin proteinin, murin B-16 melanomundan hibrid KML hücre çizgisinin proliferasyonu üzerindeki etkisi incelenmiş ve mitojenik özellikleri gösterdiği ileri sürülmüştür (Khashimova *et al.* 2000).

Datura innoxia ile yapılan bir çalışmada yaprak özütünden bir vitanolid, (izovitametelinin) saflaştırılmıştır. İzowithametelin, insan kanser hücre dizileri meme kanseri ve akciğer karsinomuna karşı önemli sitotoksikite sergilemiştir. Ayrıca lipopolisakkarit ile aktive edilmiş murin makrofaj RAW 264.7 hücrelerinde nitrik oksit üretimini inhibe etmiş ve orta derecede protein kinaz inhibisyonu göstermiştir (Fatima *et al.* 2020). Bir çalışmada, *Datura metel*'in tohumlarının öğütülmesiyle elde edilen unun, normal ve alloxan ile indüklenen diyabetik sıçanlarda hipoglisemik aktivite açısından test edilmiştir. Hem normal hem de diyabetik sıçanlara verildiğinde tohumunun dozları (25, 50 ve 75 mg/kg), 8. saatte kan glukozunda önemli bir azalma sağlamıştır (Murthy *et al.* 2004). Farklı bir çalışmada *D. innoxia*'nın anjiyogenezi inhibe etme yeteneği değerlendirilmiştir. *D. innoxia* çiçeklerinin metanol, petrol eteri, kloroform ve metanol fraksiyonları maserasyon yöntemi ile elde

edilmiştir. Ekstraktlar ayrıca sırasıyla MTT ve yara iyileştirme deneyleri aracılığıyla HUV-EC-C hücrelerinde sitotoksosite ve anti-anjiyogenez özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Metanol özütü, petrol eteri, kloroform ve metanol ekstreleri HUV-EC-C hücreleri için sitotoksik etki göstermiştir. Kloroform fraksiyonu ise yara iyileştirme deneyinde en fazla anti-anjiyogenez aktivitesini göstermiştir (Khoshkhoo *et al.* 2017).

Datura innoxia ve *D. metel*'in yaprak ve tohumlarından elde edilen metanolik ekstraktlar toplam fenolik, flavonoidler ve *in-vitro* antioksidan özellikleri açısından da değerlendirilmiştir. Bir çalışmada, toplam antioksidan, ABTS, DPPH testleri ve *in-vitro* lipid peroksidasyonu inhibe edici aktivite açısından toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid içeriği FT-IR (Fourier transform infrared spektroskopisi) ile belirlenmiştir. Bulgulara göre, en yüksek toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği, *D. innoxia* yaprak özütünde olduğu tespit edildi. Maksimum DPPH radikali süpürme aktivitesi, dört farklı metanolik ekstrakt arasında *D. innoxia*'nın yaprak özütünde gözlenmiştir. ABTS testinin ve toplam antioksidan kapasitenin en yüksek aktivitesi *Datura innoxia* yaprak ekstresinde bulunmuştur. Buna karşılık *D. metel* tohum özütü, maksimum lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesini gösterdi. FT-IR verileri ayrıca *D. innoxia* (yaprak ve tohum) ekstraktlarında belirlenen aktiviteleri destekledi. Araştırmacılar, *D. innoxia* bitkisinin *D. metel*'den daha fazla bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu nedenle potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebilmesi gerektiğini ileri sürdüler (Bhardwaj *et al.* 2016). Benzer bir çalışmada, Türkiye florasında bulunan *Datura innoxia* bitkisinin toprak üstü metanolik ekstraktının fenolik bileşenleri çalışılmıştır. Ayrıca bu bitki ekstraktlarında antioksidan (fosfomolibdenum, CUPRAC, FRAP, DPPH, ABTS) ve enzim inhibe edici aktiviteler (alfa-amilaz ve tirozinaz) ile toplam fenolik ve flavonoid içerikleri belirlenmiştir. Toplam 19 fenolik bileşik belirlenmiştir. Tanımlanan ana flavonoidler olarak (+)-kateşin ve (--epikateşin ve hiperosit bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bileşikler, yüksek antioksidan aktivite ve enzim inhibe edici aktivitelere sahip olduğu belirlenmiş ve tıbbi geleneksel kullanımları doğrulamıştır. Bu nedenle, bu bitkinin çiçekleri ve kökleri gibi farklı organlardaki biyoaktif bileşiklerin daha fazla çalışılması, yeni doğal antioksidan ve enzim inhibitör kaynaklarının keşfedilmesi için çok önemli olduğu ileri sürülmüştür (Benabderrahim *et al.* 2019).

STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmada, *Acacia arabica* özütü 21 gün boyunca 100 ve 200 mg/kg verilerek, serum glukozu, TC, TG, LDL ve MDA seviyelerinde önemli düşüşe neden olduğu ve HDL, koenzim Q10' da doza bağlı olarak anlamlı artış olmaktadır (Salehi *et al.* 2019). *Albizia lebbeck* bitkisinin sap kabuğunun metanol ve diklorometan özütleri otuz gün boyunca 100, 200, 300 ve 400 mg/kg gavaj yöntemiyle verilerek

STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda değerlendirilmiştir. Tedavi, kan glukoz seviyesini önemli ölçüde düşürdüğü ve plazma insülin seviyesini yükseltmiştir. Ayrıca TC, TG, LDL ve VLDL seviyelerini de önemli ölçüde düşürerek HDL düzeyini ise yükseltmiştir. Uygulama ayrıca, indirgen glutatyon, glutatyon peroksidaz (GPX), CAT ve SOD aktivitelerinde belirgin artışa ve STZ ile indüklenen sıçanların karaciğer ve böbreklerinde lipid peroksidasyonunun azalmasına neden olmuştur. Doza bağlı olarak pankreas, karaciğer, böbrek ve kalbin histopatolojik analizinde bu organların korunduğu, lezyonları ise doza bağlı olarak azalttığı görülmüştür (Salehi *et al.* 2019).

Caesalpinia ferrea bitkisinin kök kabuğunun su ekstraktı STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlara 250 ve 450 mg/kg gavaj olarak dört hafta süre ile uygulanmıştır. Çalışma sonucunda kan glukoz seviyelerinde önemli oranda düşüş görülerek hayvanların metabolik durumunda ise bir iyileşme (düşük seviyelerde TC, TG ve epididimis yağ dokusu) görülmüştür (Vasconcelos *et al.* 2011; Hassan *et al.* 2015). *Camelia sinensis* yaprakları su ekstraktlarının kan glukozu düşürme etkisi STZ ile indüklenen sıçanlarda günlük olarak 0,5 mL verilerek 15 ve 30 gün süre ile uygulanarak etkisine bakıldığında anti-hiperglisemik ve hipolipidemik aktiviteler görülmüştür (Al-Attar and Zari 2010). *Gymnema sylvestre* bitki yaprağının etanol özütü STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda dört hafta süre ile 100 mg/kg dozunda gavaj yoluyla verilerek in-vitro ve in-vivo olarak yapılan deneylerde anti-hiperglisemik etki göstererek antioksidan durumunu iyileştirmiştir. Ayrıca TBA, SOD ve 2,2-azino-bis-3 etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit deneylerinde in-vitro antioksidan etki göstermiştir (Kang *et al.* 2012).

Moringa oleifera bitkisinin metanol ekstraktının STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda 21 gün boyunca gavaj yoluyla 150 ve 300 mg/kg anti-diyabetik ve antioksidan etkilerini araştırmışlardır (Gupta, Mathur *et al.* 2012). Her iki dozda serum insülin ve protein seviyelerinde eşlik eden bir artışla birlikte, serum glukoz ve nitrik oksit seviyelerinde önemli bir düşüş sağlamıştır. Ayrıca metanol ekstraktlarının pankreas dokusunda antioksidan seviyelerini arttırarak TBA seviyelerini düşürmüştür (Villarruel-Lopez *et al.* 2018).

Origanum vulgare'nin un haline getirilmiş olan bitkinin yaprakları heksan, etil asetat, dikolarometan, metanol ve saf su ekstraktları kullanılmıştır. Metanolik ekstaktında fitokimyasal biyofenollerde zenginleştirilmiş bileşim göstermiştir ve yapılan DPPH deneylerinde antioksidan etki göstermiştir. Metanolik ve su ekstraktında STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda yapılan çalışmada su ekstraktının etkisi görülmemesine rağmen metanolik ekstraktının diyabet insidansını azalttığı bununla birlikte insülin sekresyonunu koruduğu görülmüştür (Vujicic *et al.* 2015).

Datura stramonium yapraklarının etanol ekstraktının uygulanmasının bazı serum biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkisini incelemek için beş hafta süreyle sıçanlara 50 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında ekstrakt uygulandı. Çalışılan parametreler, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının indeksleri ve bazı biyokimyasal ve hematolojik parametrelerdir. Sıçanlar tarafından alınan yem oranı son vücut ağırlığı, serum AST, ALT, bilirubin, toplam protein, üre ve incelenen elektrolitlerin tümü ekstrakt uygulanmasından etkilenmedi. Bununla birlikte, 200 mg/kg vücut ağırlığı olan sıçanlarda uygulanan etanol ekstraktının serum kreatinin seviyeleri önemli ölçüde yükselmiştir. Çalışılan biyokimyasal ve hematolojik parametreler de etkilenmedi. Bu nedenle özütün beş haftalık süre boyunca uygulanması, tam güvenilirliğini sağlamamıştır (Gidado *et al.* 2010).

Urtica dioica, *Thymus vulgaris*, *Myrtus communis*, *Scolymus hispanicus*, *Cinnamun zeylanicum* bitkilerinin sulu metanol ekstraktlarının STZ ile indüklenmiş (65 mg/kg) sıçanlara 1 hafta sonra her bitki ekstraktının yirmi sekiz gün boyunca günlük doz olarak 100 mg/kg ayrı ayrı sıçanlara uygulanmıştır. Sonuçlarda *Scolymus hispanicus* bitki ekstraktının açlık kan şekerlerini önemli ölçüde değiştirdiğini göstermiştir. Lipid profili özellikle *Thymus vulgaris*, *Myrtus communis* ve *Cinnamun zeylanicum* takviyesi ile iyileştirilmiştir. Hemen hemen tüm bitki ekstrakt muameleleri belirgin bir şekilde, hiçbir uygulama yapılmayan diyabetli sıçanlara kıyasla eritrosit katalaz aktivitesi, marker serum enzimleri (amilaz hariç), üre ve kan üre nitrojeni iyileştirmiştir. Bitki ekstraktlarından herhangi biri, sıçanlarda görülen vücut ağırlığı kaybına karşı koyamadı. Veriler muhtemelen antioksidan ve serbest radikalleri etkisiz hale getirme etkileri ile DM kaynaklı değişikliklere karşı önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koydu (Ozkol *et al.* 2013).

Allium sativum, *A. ascalonicum* ve *Salvia officinalis* bitkisinin yaprakları kullanılarak elde edilen metanol ekstraktlarının diyabetik sıçanlarda, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (CAT) enzimleri üzerinde aktiviteleri ve trigliseritler (TG), toplam kolesterol (TC) gibi yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) plazma lipid seviyeleri değerlendirilmiştir. Diyabetik tedavi gören sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla *A. ascalonicum* bitkisinin metanol ekstraktı, SOD'un %65, GPX'in %43 ve CAT'ın %55 oranında aktivitelerini artırmıştır. *Allium sativum* ve *S. officinalis* bitkilerinin metanol ekstraktları ise SOD aktivitesini sırasıyla %60 ve %30 artırmıştır. *A. sativum* ise TC'yi %34 düşürmüştür. *Salvia officinalis* TG'yi %40 ve LDL'yi %30 azalmaktadır ve *A. ascalonicum* metanol ekstraktı VLDL'yi %24 azaltmaktadır. Tip-II DM tedavisinde kullanılan metformin hafif antioksidan ve hipolidemik özellik göstermektedir. Kantitatif fitokimyasal analiz sonuçları,

metanolik *A. sativa* ve *A. ascalonicum* özleri sırasıyla %3,49 ve %3,43 oranında alkaloid, %18,02 ve %13,30 glikozit, %0,81 ve %0,75 saponin gibi sekonder metabolitler içermektedir. Metanolik *S. officinalis* yaprak ekstraktında flavonoidler %1,014, glikozitler %23,14 ve saponinler %2,09 içermektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda *A. sativum*, *A. ascalonicum*, *S. officinalis* bitkilerinin metanol ekstraktlarının antioksidan ve hipolidemik özellikleri ile DM kontrolünde faydalı olduğunu göstermektedir (Sani *et al.* 2012).

Murraya koenigii bitki yaprağının su özütü alloxan ile indüklenen diyabetik tavşanlara 200, 300 ve 400 mg/kg dozlarında gavaj ile verilmiştir. Bitki yaprağının sulu özütünün kan glukoz seviyesini önemli ölçüde düşürmektedir ve karbonhidrat metabolizması üzerinde yararlı etkiye sahip olmaktadır (Vasconcelos *et al.* 2011). Kronik düşük doz deksametazon enjeksiyonu ile indüklenen sıçanlara bu bitkinin farelerde etanolik özütü, iskelet kasına glukoz atılımını artırarak kısmen deksametazon kaynaklı hiperglisemi ve insülin direncini iyileştirmektedir (Pandey *et al.* 2014). *Paspalum scrobiculatum* tanelerinin sulu ve bazı yerlerde etanol bazı yerlerde ethanol, ya da methanol ve metanol gibi sözcükler kullanılmış, tek şekilde olması gerekiyor. Etanolik ekstraktlarının alloxan ile indüklenen sıçanlara 15 günlük çalışmada 250 ve 500 mg/kg gavaj ile verilerek anti-diyabetik etkisi değerlendirildiğinde doza bağlı olarak kan glukoz seviyesini ve lipid parametrelerini önemli ölçüde düşürmektedir. Ayrıca ekstrakt tedavisi, karaciğer glikojeninde önemli artış ve glikoliz hemoglobin seviyelerinde önemli düşüş göstermektedir (Jain *et al.* 2010).

Yukarıda verilen literatür bulguları genel olarak değerlendirildiğinde, eskiden beri tıbbi bir bitki olduğu bilinen ve Ülkemizde doğal olarak geniş bir yayılım gösteren *Datura innoxia* bitkisinin anti-diyabetik özelliklerine ait herhangi bir verinin olmadığı görülebilir. Ayrıca Ülkemizde, konumuz dışı dahil, *Datura innoxia* ile ilgili yapılmış herhangi bir tez de belirlenmemiştir. Bu nedenle *Datura innoxia* üzerinde yapılan bu araştırmanın, hem Ülkemiz bilim insanlarının dikkatini çekmesi hem de literatürde önemli bir boşluğu doldurması beklenmektedir.

MATERYAL VE METOT

Kullanılan Alet ve Cihazlar

Doku parçalayıcı	: Waring blender, 8011 Eb
Buzdolabı	: Arçelik
Çalkalayıcı	: Zhicheng –ZHWHY-21020
Derin dondurucu (-20°C)	: Arçelik
Derin dondurucu (-80°C)	: Nuaire
Evaporatör	: Buchi Rotary Evaporator R3
Glukometre	: Roche – Accu-Chek Performa Nano
Hassas terazi	: Shimadzu AY220
İnkübatör	: Memmert INCOmed 108
Karıştırıcı	: Fisons Whirli mixer
Manyetik karıştırıcı	: Daihan MSH-20
Otomatik pipetler	: Eppendorf, Axigen
pH metre	: WTW Inolab pH 720 Schott N61
Saf su cihazı	: GFL-2004
Santrifüj	: Thermofisher Scientific Megafuge 8R
Sıcak su banyosu	: Huber Polystat CC1
Spektrofotometre	: Multiskan GO Microplate
Spektrofotometre	: Shimadzu UV mini-1240
Sıcak su banyosu	: Wise Bath Fuzzy Control System
Homojenizatör	: Wiggen Hauser D- 500

Bitki Materyali ve Tohumların Temini

Araştırmada kullanılan *Datura innoxia* L. bitkisinin tohumları, Gaziantep yöresinde bitkinin doğal yetiştiği alanlardan Haziran-Temmuz aylarında yetişkin bitkilerden elde edilmiştir. Bitki, bitki sistematiği alanında bir uzman bilim insanına teşhis ettirilmiştir. Olgun meyve kapsidlerinden ayrılan tohumlar, musluk suyunda yıkanmış ve oda şartlarında gölgede 72 saat kurutulmuştur. Daha sonra tohumlar bir Waring blender yardımıyla un haline getirilmiş ve -20 °C’de saklanmıştır.

Tohumlardan Ekstraksiyon ve İzolasyon Yapılması

Datura inoxia tohumlarındaki aktif maddeleri ekstrakte etmek için kullanılan çözücüler, yapılan literatür çalışmalarına göre **Hekzan**, **Etilasetat**, **Metanol**, **n-Bütanol** ve **Su** olarak belirlendi. Bu çözücüler polaritelerine göre seçilmiş ve polariteleri düşükten yükseğe göre sıralandığında, Hekzan, etilasetat, metanol, bütanol ve su olarak sıralanır. Ekstraksiyon işlemleri aşağıda verilen aşamalara göre gerçekleştirildi (Satyajit *et al.* 2006).

1. İlk başta 100 gr un haline getirilen tohum örneği, 1000 mL hekzan ile bir erlen içinde 200 rpm ve 24 °C’de 12 saat çalkalandı. İşlem sonunda homojenat, hekzanla doyurulmuş bir süzme kâğıdı kullanılarak başka bir erlene süzüldü ve süzüntü +4 °C’de saklandı. Bu işlem aynı örnek üzerinden 3 kez tekrarlandı ve her seferinde elde edilen süzüntüler birleştirildi.
2. Toplanan süzüntü bir evaporatörde 40 °C’de evapore edilerek karışımdan hekzan uzaklaştırıldı. Buradan elde edilen ekstrakta **hekzan ekstraktı** (HE) adı verildi. Bu ekstrakt kullanılmadığı sürece +4 °C’de saklandı.
3. Hekzan ekstraktı elde edildikten sonra geri kalan tohum örneği (kalıntı), bir kurutma kâğıdı üzerine serilerek ışık almayan bir yerde 2 gün boyunca kurutulmuş ve hekzan kalıntısının örnekten iyice uçması sağlanmıştır.
4. Yukarıdaki işlem sonucu arta kalan tohum unu üzerine 1000 mL etil asetat (%100) eklendi. Karışım, yukarıda verilen aynı koşullarda ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu ve işlem sonunda toplanan süzüntü bir etil asetat ile doyurulmuş süzme kâğıdından geçirildi ve süzüntü +4 °C’de saklandı. Bu işlem aynı örnek üzerinden 3 kez tekrarlandı ve her seferinde elde edilen süzüntüler birleştirildi.
5. Toplanan süzüntü, bir evaporatörde 45 °C’de buharlaştırılarak elde edilen ekstrakt +4 °C’de saklandı. Buradan elde edilen ekstrakta **etil asetat ekstraktı** (EAE) adı verildi.
6. Etil asetat ekstraktı elde edildikten sonra geri kalan tohum örneği (kalıntı), bir kurutma kâğıdı üzerine serilerek ışık almayan bir yerde 2 gün boyunca kurutularak etil asetat kalıntısının uçması sağlandı.
7. Kurutulan tohum örneği 1000 mL %100 metanol içinde yukarıda ifade edilen aynı yöntemle ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon işlemi yukarıda da ifade edildiği gibi 3 kez tekrarlandı.
8. Toplam süzüntü, bir evaporatörde 50 °C’de buharlaştırılarak elde edilen ekstrakt +4 °C’de saklandı. Buradan elde edilen ekstrakta **metanolik ekstrakt** (ME) adı verildi.

9. Metanolik ekstrakt işlemi sonunda geri kalan tohum örneği (kalıntı), aynı koşullarda 2 gün boyunca kurutulmuş metanolün uçması sağlandı.
10. Yukarıdaki işlem sonucu geri kalan tohum örneği 1000 mL *n*-bütanola (%100) eklendi. Karışım, yukarıda verilen aynı koşullarda ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu ve işlem sonunda homojenat *n*-bütanol ile doyurulmuş bir süzme kâğıdından geçirildi ve süzüntü +4 °C’de saklandı. Bu işlem aynı örnek üzerinden 3 kez tekrarlandı ve her seferinde elde edilen özütler birleştirildi.
11. Belirlenen toplam süzüntü, bir evaporatörde 50 °C’de evapore edilerek elde edilen ekstrakt +4°C’de saklandı. Buradan elde edilen ekstrakta **bütanolik ekstrakt (BE)** adı verildi.
12. Son olarak su özütü için, 100 gr kurutulmuş ve un haline getirilmiş tohumlar 1000 mL saf suda 200 rpm’de ekstrakte edildi (2-3 gün). Bu işlem aynı örnek üzerinden 3 kez tekrarlandı ve her seferinde elde edilen özütler birleştirildi.
13. İşlem sonunda elde edilen süzüntü, bir filtre kâğıdı kullanılarak başka bir erlene geçirildi ve oluşan süzüntü +4 °C’de saklandı. Toplanan özüt, bir liyofilizatörde liyofilize edilerek suyu uzaklaştırıldı ve kuru un haline getirildi. Bu nihai özüte **su ekstraktı (SE)** adı verildi. Su ekstraktı da kullanılmadığı sürece un halinde +4 °C’de saklanmıştır.

Bu ekstraktlar kullanılmadan önce steril saf suda çözünmüştür. Suda çözünmeyen ekstraktlar, %50 dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüşlerdir.

Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

Çalışmada kullanılan çözeltilerin kullanıldığı yerler ve hazırlanışları aşağıda belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma-Aldrich Co.’dan temin edilmiştir.

Fenolik madde miktarı tayini için kullanılan çözeltiler

FCR çözeltisi (%10): Bunun için 1,5 mL FCR (folin ciocalteu reagent) üzerine 13,5 mL saf su eklenmiştir. Her zaman koyu renkli bir şişede saklanmıştır.

Na₂ CO₃ çözeltisi (%75): Yaklaşık 25 mL saf su içinde 22,5 gr Na₂ CO₃ çözülmüş ve son hacmi 30 mL’ye tamamlanmıştır.

Gallik asit stok çözeltisi (%0,1): Bunun için 0,01 gr gallik asit, yaklaşık 9 mL saf su içinde çözülmüş ve son hacmi 10 mL’ye tamamlanmıştır.

Flavanoid miktarı tayini için kullanılan çözeltiler

NaNO₂ çözeltisi (%5): Bunun için 0,5 gr NaNO₂ 9,95 mL saf su içinde çözünmüş ve son hacim 10 mL yapılmıştır.

AlCl₃ çözeltisi (%10): 1 gr AlCl₃ yaklaşık 9 mL saf su içinde çözündükten sonra son hacmi 10 mL yapılmıştır.

NaOH çözeltisi (1 M): 5,85 gr NaOH yaklaşık 90 mL saf su içinde çözündükten sonra son hacim 100 mL yapılmıştır.

Catechin stok çözelti (%0,1): Bunun için 0,01 gr catechin, yaklaşık 9 mL saf su içinde çözünmüş ve son hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

Antioksidan aktivite kararlılığı için kullanılan çözeltiler

ABTS çözeltisi (7 mM): Bunun için 38,5 mg ABTS, 85 mL 0,1 M KH₂ PO₄ içinde çözüldü. Ardından üzerine 66,25 mg K₂ O₈ S₂ eklendi. Toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözeltinin üzerine bi-distile su eklendi ve pH 7,4'e sabitlendi. Bu çözelti her zaman taze hazırlandı.

DPPH radikali uzaklaştırma aktivitesi için kullanılan çözeltiler

DPPH çözeltisi (0,1 mM): Bu çözeltiyi hazırlamak için 2,365 gr DPPH yaklaşık 50 mL metanolde (%100) çözündükten sonra son hacim metanolle 60 mL'ye tamamlanmış ve iyice çözünmüştür.

Süperoksit anyon radikal süpürücü aktivitesi için hazırlanan çözeltiler

Fosfat tamponu (67 mM): Bu tampon için 2,375 gr Na₂ HPO₄ yaklaşık 180 mL distile suda çözülerek pH 7,8'e ayarlandı ve toplam hacim 250 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı.

Riboflavin çözeltisi: Bu çözelti için 0,005 gr riboflavin yaklaşık 90 mL saf suda çözüldü ve pH 7,8'e ayarlandıktan sonra son hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Her zaman taze olarak hazırlandı.

EDTA (1 mM): Bunun için 0,0186 gr EDTA (Etilen diamin tetra esetik asit), yaklaşık 40 mL pH 7,8 olan fosfat tamponu ile çözündükten sonra son hacmi aynı tamponla 50 mL'ye tamamlanmıştır.

NBT (1,5 mM) çözeltisi: Bu çözelti için 0,06 gr NBT (Nitroblue tetrazolium klorür) pH 7,8 olan fosfat tamponu ile çözündükten sonra, son hacmi aynı tamponla 50 mL'ye tamamlanmıştır. Her zaman taze hazırlandı.

Demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP) tayini için kullanılan çözeltiler

Fosfat tamponu (0,2 M Na_2HPO_4): Bu tampon için 1,360 gr fosfat tamponu yaklaşık 40 mL saf suda çözüldükten sonra pH 6,6'ya ayarlanmış ve son hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır.

Potasyum ferrosiyanat ($[\text{K}_3 \text{Fe}(\text{CN})_6]$) çözeltisi (%1): 0,5 gr ($[\text{K}_3 \text{Fe}(\text{CN})_6]$) yaklaşık 40 mL saf suda çözüldükten sonra son hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır.

Trikloro asetik asit (TCA) çözeltisi (%10): 5 gr TCA yaklaşık 40 mL saf suda çözüldükten sonra son hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır.

FeCl_3 çözeltisi (%0,1): Bu çözelti için 0,01 gr FeCl_3 yaklaşık 9 mL saf suda çözüldükten sonra son hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

Ferric Thiocyanate Yöntemi (FTC) ile toplam antioksidan kapasitesi

Fosfat tamponu (0,04 M): Bu çözelti için 0,849 gr KH_2PO_4 yaklaşık 125 mL saf suda çözüldükten sonra pH 7,0'a ayarlanmış ve son hacmi 150 mL'ye tamamlanmıştır.

Linoleik asit çözeltisi (0,0017 M): Bu çözelti hazırlanırken, %1 oranında Tween-20 ($\mu\text{L}/\text{mL}$) içeren ve pH 7 olan fosfat tamponu içine 370 μL linoleik asit eklenmiş ve son hacim 70 mL'ye tamamlanarak pH 7,4 olarak ayarlanmıştır.

$\text{NH}_4 \text{CN}$ çözeltisi (%30): Bu çözelti için 3 gr $\text{NH}_4 \text{CN}$ 9 mL saf su içinde çözüldükten sonra, son hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

FeCl_2 çözeltisi (20 mM): Bunun için 0,0397 gr FeCl_2 yaklaşık 9 mL %3,5'luk HCl içinde çözüldükten sonra, son hacmi aynı HCL ile 10 mL yapılmıştır.

HCl (%3,5): Bu çözelti için %37'lik HCl'den 945 μL alındı ve üzerine 9055 μL saf su eklenerek son hacim 10 mL olarak ayarlandı.

Standart eğrilerin hazırlanmasında kullanılan çözeltiler

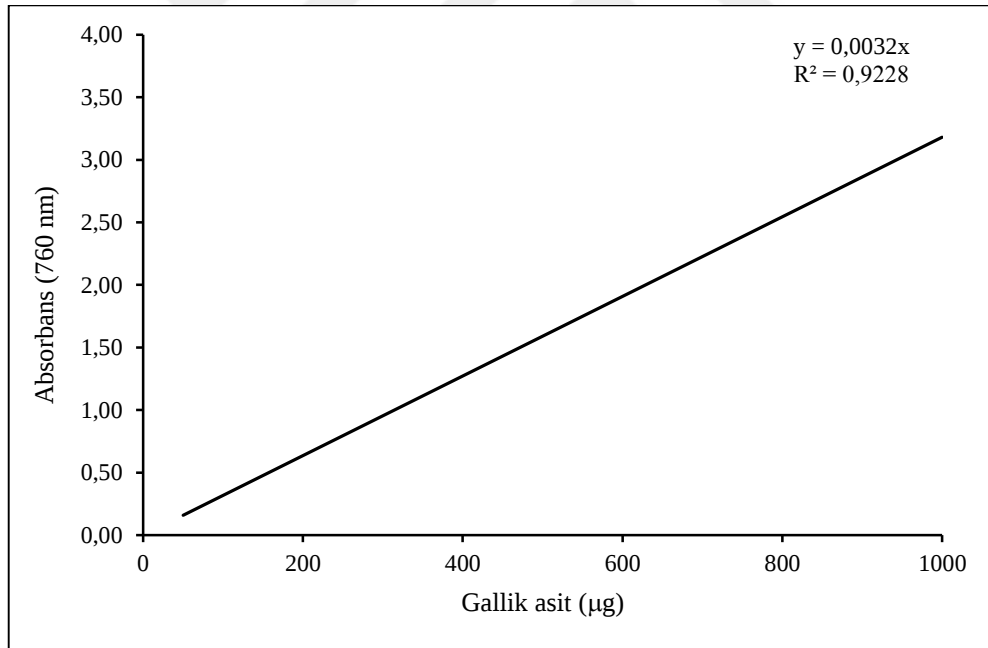
BHT stok çözeltisi: 0,05 gr BHT yaklaşık 90 mL saf suda çözüldükten sonra son hacim 100 mL yapılmıştır.

Trolox ve askorbik asit stok çözeltileri (%1): Bunun için ayrı ayrı 0,01 gr Trolox ve askorbik asit yaklaşık 9 mL saf suda çözüldükten sonra son hacimleri 10 mL'ye tamamlanmıştır.

Ekstraktların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi

Toplam fenolik madde tayini

Ekstraktlardaki toplam fenolik madde miktarı, Singleton ve Rossi (1965) tarafından tanımlanan yöntemle göre yapıldı. Bunun için reaktif olarak Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ve standart olarak ise gallik asit kullanıldı. Bitki ekstraktlarında fenolik madde tayini için 0,2 gr ekstrakt, 2 mL %80'lik metanol içinde homojenize edildi ve karışım 20 dakika 70 °C'deki bir su banyosunda hafifçe çalkalanarak inkübe edildi. Daha sonra, çalışılan ekstrakt örneklerinin (0,5 mL) üzerine %10'luk FCR reaktifinden 2,5 mL eklendi. Bu işlem 6 dakika sonra, karışım üzerine 2 mL sodyum karbonat (Na_2CO_3 , 75 g/L) pipetlendi ve toplam hacim 5 mL'ye tamamlandı. Bu haliyle reaksiyon oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildikten sonra, örnekler 4 °C'de 10 000 rpm'de 15 dk santrifüjlendi. Süpernatantın absorbansı bir spektrofotometrede 760 nm'de kör örneğe karşı okundu. İçerisinde sadece ekstrakt içermeyen örnekler kör olarak kullanıldı. Ekstraktlardaki toplam fenolik madde içeriği, bilinen miktarlarda gallik asit kullanılarak aynı yöntemle göre belirlenen bir standart eğri (Şekil 2) üzerinde belirlenmiş ve bulgular μg fenolik madde/gr doku olarak sunulmuştur (Albano *et al.* 2012).

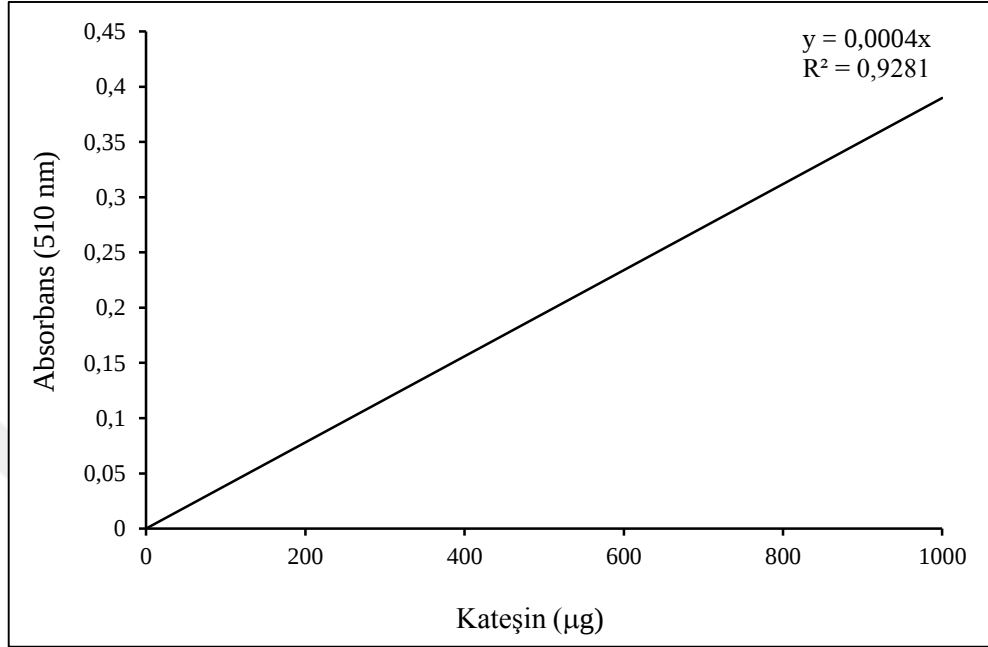


Şekil 2. Fenolik madde tayininde kullanılan standart grafik.

Toplam flavonoid tayini

Toplam flavonoid tayini için ekstraktlardan 250 μL alındı ve üzerlerine 1,275 mL distile su ilave edilerek karıştırıldı. Bu işleme takiben örnekler üzerine %5'lik NaNO_2 çözeltisinden 75 μL pipetlendi. Bundan 6 dakika sonra, %10'luk AlCl_3 çözeltisinden 150 μL tüm örneklerle eklenerek 5 dakika karıştırıldı. Son olarak her örneğe 1M NaOH çözeltisi eklendi ve örneklerin

absorbansı bir spektrofotometrede 510 nm’de köre karşı okundu. Kör örnek ekstrakt yerine 250 µL metanol içermektedir. Ekstraktlardaki toplam flavonoid madde içeriği, bilinen miktarlarda kateşin (catechin) kullanılarak aynı yöntemle göre belirlenen bir standart eğri (Şekil 3) üzerinde belirlenmiş ve bulgular µg flavonoid/gr doku olarak sunulmuştur (Wu *et al.* 2012).



Şekil 3. Flavanoid içerik tayini için kullanılan standart grafik

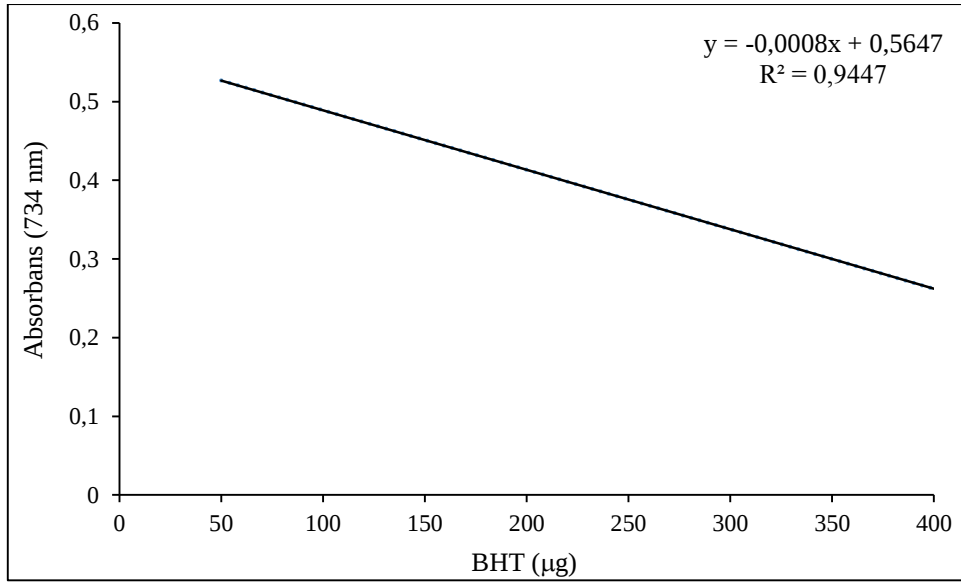
ABTS⁺ radikali temizleme aktivitesi

ABTS⁺ radikali temizleme aktivitesi için Re *et al.* (1999) tarafından önerilen yöntem kullanıldı. Bunun için 7 mM ABTS [2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic asit)], potasyum persülfat (2,45 mM) çözeltisi ile reaksiyona sokuldu ve 1 gece boyunca karanlıkta tutularak ABTS radikal katyonları içeren koyu renkli bir çözelti elde edildi. ABTS çözeltisi kullanılmadan önce, %100'lük metanol ile seyreltilerek spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda absorbans değeri $0,70 \pm 0,05$ olana kadar seyreltme yapıldı. Sonra 1 mL ekstrakt örneklerine 1 mL ABTS⁺ çözeltisi eklenerek 734 nm'de ölçüm yapıldı. Bu işlem sonrası örnekler 30 °C'de 30 dakika inkübe edildi ve örneklerin absorbansı 734 nm'de tekrar ölçüldü. Absorbanstaki azalma, solüsyon karıştırıldıktan tam olarak bir dakika sonra ölçüldü. Örnekler içindeki ABTS⁺ miktarını hesaplamak için konsantrasyonu (1 ve 20 µM) arasında değişen Trolox ve askorbik asit (ASA) kullanıldı (Şekil 4). Hesaplama için aşağıdaki formülden faydalanılmıştır.

$$\text{ABTS radikali temizleme (\%)} = [(Kör - Örnek) / Kör] \times 100$$

Kör: ABTS radikal çözeltisinin örnek içermeyen olan absorbansı

Örnek: ABTS radikal çözeltisinin ekstrakt içeren absorbansı



Şekil 4. ABTS radikali temizleme aktivitesi için kullanılan standart grafik.

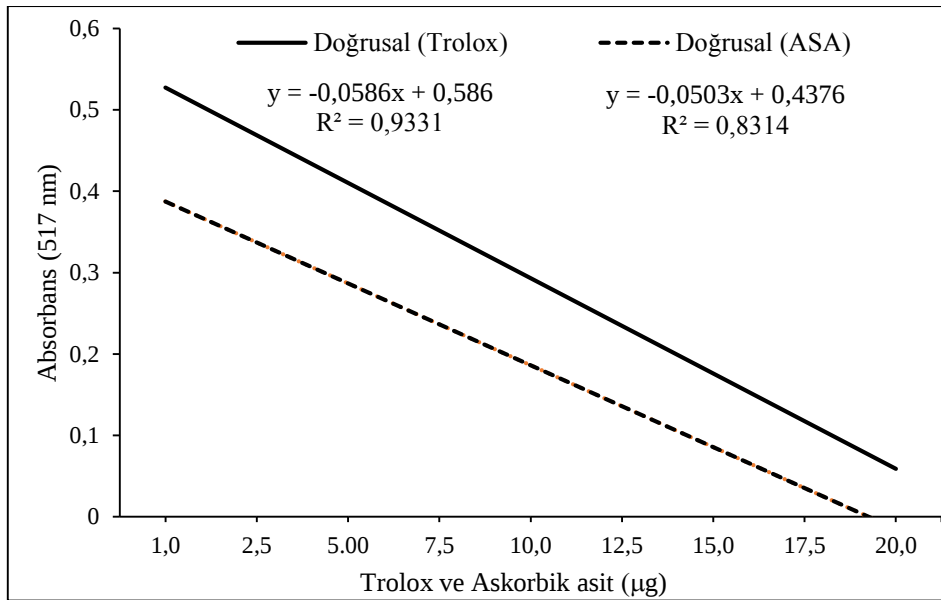
DPPH[•] radikali giderme aktivitesi tayini

Bitki ekstratların serbest radikal giderme aktiviteleri Blois (1958) metoduna göre yapıldı. Serbest radikal olarak DPPH[•] (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil) kullanıldı. Önce bu radikalin 0,1 mM'lık çözeltisi hazırlandı. Ekstrakt örneklerinden 500 µL alınarak tüplere pipetlendi ve üzerlerine 0,1 mM metanolik DPPH solüsyonundan 1 mL eklenerek karıştırıldı. Örnekler oda sıcaklığında (25°C) ve karanlıkta 30 dakika boyunca bekletilerek 517 nm'de absorbans değerleri okundu. Kör örnek, 500 µL metanol ve 1,5 mL DPPH solüsyonundan oluşmaktadır. Reaksiyon karışımındaki absorbans düşüklüğü, DPPH radikal temizleme aktivitesinin yüksekliğini gösterir (Şekil 5). Temizleme aktivitesi, aşağıdaki denklemde DPPH radikal süpürme yüzdesine göre hesaplandı.

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

A_0 : DPPH radikal çözeltisinin örnek içermeyen olan absorbansı

A_1 : DPPH radikal çözeltisinin ekstrakt içeren absorbansı

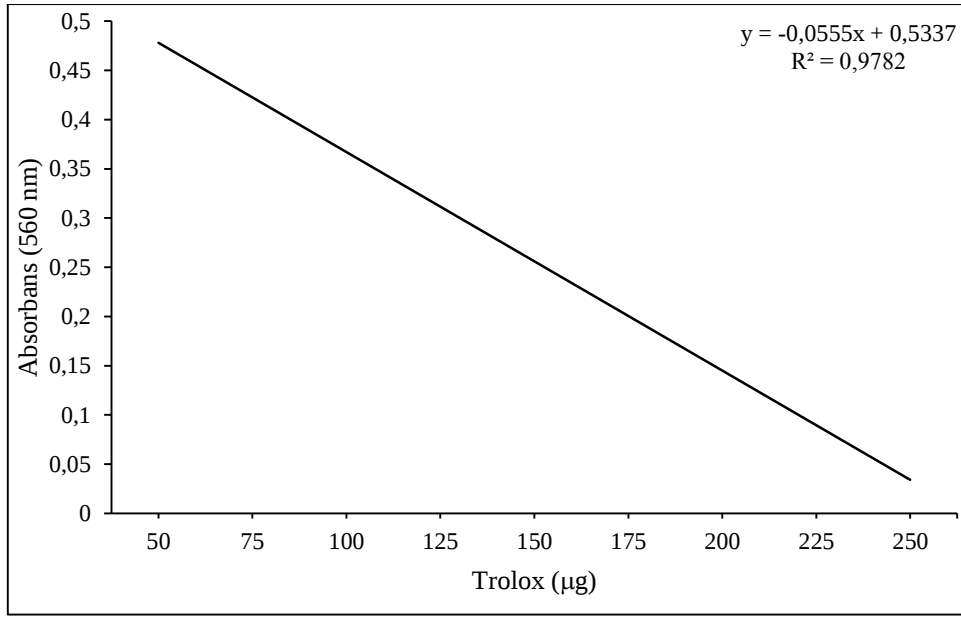


Şekil 5. DPPH radikali temizleme aktivitesi için standart grafik

Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikali giderme aktivitesi

Bitki ekstraktlarının süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) radikalini giderme aktivitesi, nitroblue tetrazolium (NBT) ürününün spektrofotometrik ölçümüyle belirlendi. Bu amaçla Zhishen *et al.* (1999) tarafından sunulan metot kullanıldı. Reaksiyon karışımı (3 mL); 300 µL NBT (1,5 mM), 300 µL EDTA (1 mM), 50 µL riboflavin (0,13 mM), 390 µL metionin (100 mM) ve 2 mL fosfat tamponu (67 mM; pH 7,8) içermektedir. Bu karışım üzerine değişik konsantrasyonlarda hazırlanan (75, 125 ve 250 µg) bitki ekstraktları eklenmiştir. Örnek hacmi artınca, fosfat tamponundan aynı oranda çıkarılmış ve her zaman toplam hacim 3 mL yapılmıştır. Aynı deney koşullarında örnek yerine aynı miktarda saf su kullanılarak kör örnek çalışılmıştır. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 20 dk boyunca 20 W'lık beyaz floresan ışığa maruz bırakılmış ve absorbanslar köre karşı 560 nm'de okunmuştur. Fotokimyasal olarak indirgenen riboflavin, $O_2^{\cdot-}$ üretir, bu da NBT'yi indirgeyerek 560 nm'da maksimum absorpsiyon yapan mavi formazan oluşturur (Gülçin *et al.* 2010). Hesaplamalarda kullanılan standart eğri için farklı dozlarda (50-400 µg/mL) BHT kullanıldı (Şekil 6). Hesaplama kör absorbansı, ışıklandırılmamış kör absorbansından çıkarılmıştır. Reaksiyon karışımının absorbasındaki azalma, süperoksit anyon süpürme aktivitesinin arttığını gösterir. Hesaplama için aşağıdaki formülden faydalanılmıştır.

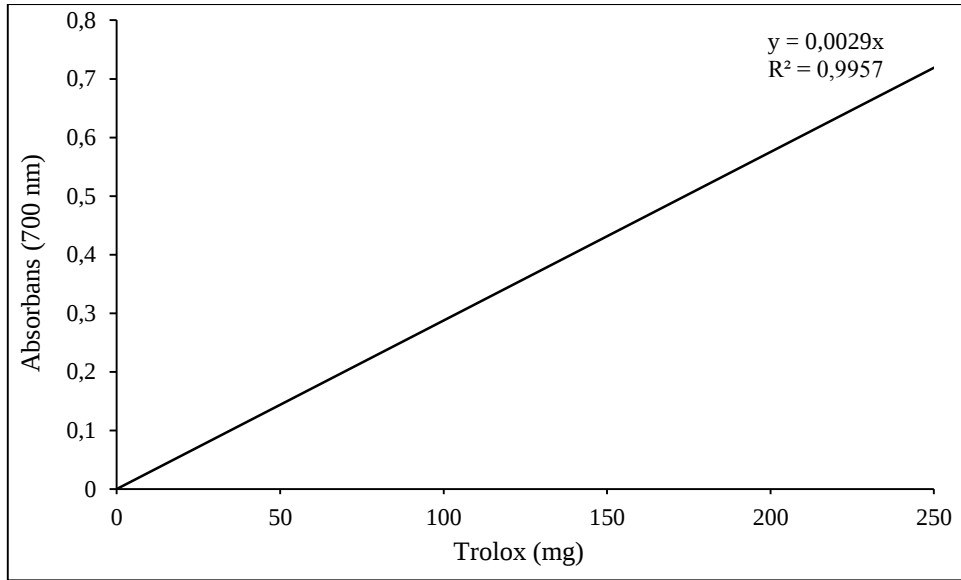
$$\text{Süperoksit radikali giderme (\%)} = [(Kör - Örnek)/Kör] \times 100$$



Şekil 6. Süperoksit radikali giderme aktivitesi için standart grafik

Demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP) tayini yöntemi

Bitki ekstraktlarının demir (III) indirgeme gücü Oyaizu (1986) metoduna göre belirlenmiştir. Ekstraktlardan 3 farklı konsantrasyonda (75, 125 ve 250 µg) alınan örnekler, DMSO ile 1'er mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra örnekler üzerine 2,5 mL fosfat tamponu (0,2 M; pH 6,6) ve 2,5 mL %1'lik potasyum ferrosiyanat ($[K_3 Fe(CN)_6]$) çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırıldı. Sonra tüpler 50 °C'de 30 dk bir su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra örnekler 2,5 mL %10'luk TCA ilave edildi ve karıştırıldı. Bu halde örnekler 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatanttan 2,5 mL alınarak başka bir tüpe aktarıldı ve aktarılma yapılan tüplerin üzerine 2,5 mL saf su ve 0,5 mL %0,1'lik $FeCl_3$ ilave edilerek karıştırıldı. Oluşan yeşil renkli çözeltinin absorbansları 700 nm'de ölçüldü. Reaksiyon karışımında absorbans artışı, Fe^{+3} indirgeme kapasitesinin arttığını gösterir. Aynı metot uygulanarak standart Trolox kalibrasyon eğrisi (Şekil 7) denkleminde bitki ekstraktlarının Trolox eşdeğeri cinsinden demir (III) indirgeme kapasiteleri hesaplanmıştır (Apak *et al.* 2006; Gülçin *et al.* 2010).



Şekil 7. Demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP) aktivitesi için standart grafik

Ferrik tiyosiyanat yöntemi (FTC) ile toplam antioksidan kapasitesi (TAC)

Ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan durumu (TAC) Mitsuda *et al.* (1966) tarafından önerilen metoda göre belirlendi. Bu amaçla önceden hazırlanmış bitki ekstraktlarından 75, 125 ve 250 µg olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda örnekler alındı. Örneklerin üzeri DMSO ile 1 mL'ye tamamlanarak karıştırıldı ve üzerlerine 1,5 mL fosfat tamponu (40 mM; pH 7,4) ilave edilerek son hacimleri 2,5 mL yapıldı. Daha sonra, örnekler üzerine 2,5 mL 0,017 M linoleik asit emülsiyonu (fosfat tamponu pH 7,4 ve 50 µl Tween-20 içerir) eklendi. Kontrol (Kör) örnek için 2,5 mL tampon çözelti ve 2,5 mL linoleik asit emülsiyonu kullanıldı. Bütün örnekler 37 °C'ye ayarlı bir etüve transfer edildi. Bu işlem sonrası, 5 gün boyunca her 12 saatte bir, bütün test tüplerinden 100'er µL alındı ve temiz yeni tüplere aktarıldı. Bu işlemin hemen peşine, üzerlerine 4,7 mL %75'lik ethanol ve 0,1 mL %30'luk NH₄ SCN eklenip karıştırıldı. Hemen sonra örnekler üzerine %3,5 HCl içeren 0,1 mL 20 mM FeCl₂ eklenerek karıştırıldı. Linoleik asit peroksidasyonu sırasında, Fe²⁺ 'nin Fe³⁺'e oksidasyonuna yol açan peroksitler oluşur. Peşine, bu peroksit iyonları, amonyum tiyosiyanat ile bir kompleks oluşturur ve bu kompleks, maksimum 500 nm'lik bir soğurma gücüne sahiptir (Gülçin *et al.* 2010). Örneklerdeki peroksit seviyeleri 5 dakika sonra 500 nm'de ölçüldü. Bu işleme, her 12 saatte bir, Kör örnek 500 nm'de maksimum pik noktasına ulaşıncaya kadar tekrarlandı ve Kör örnek (kontrol) en yüksek değerdeki absorbansa ulaştığı noktadan sonra işlemler durduruldu. Yüksek absorbans, linoleik asidin yüksek bir peroksidasyonunu gösterir, buna karşılık düşük absorbans antioksidan kapasitenin yüksekliğine işaret eder. Hesaplamalar için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{FTC inhibisyon (\%)} = 1 - (\text{Örnek absorbansı} / \text{Kör absorbansı}) \times 100$$

Deney Hayvanları

Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) 22.11.2018 tarihli 218 numaralı karar ile hayvan deneyleri gerçekleştirilmiştir (EK 1). Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'nden (ATADEM) temin edilen 70 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 250-300 gr ağırlığında olup 25 ± 1 °C oda sıcaklığı, 12/12 saat aydınlık/karanlık ışık periyodunda ad libitum (kısıtlama olmaksızın) beslenerek büyütüldü. Yapılan çalışmada, hayvanlara ve deneysel parametrelere olumsuz etki edecek faktörler en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındıktan sonra uygulamaya geçildi. Tüm deney süresince 4R (responsibility, reduction, replacement, refinement) kurallarına uygun olarak tüm deney aşamaları gerçekleştirildi. Deneye başlamadan önce grupların ağırlıkları eşit olacak şekilde 7 gruba oluşturuldu. Bunlar; her bir grup için 10 sıçan olacak şekilde; 1. Kontrol, 2. DM (*Diabetes Mellitus*), 3. DM+SF (Serum Fizyolojik, SHAM grubu), 4. DM+İnsülin, 5. DM+Metanol Ekstraktı, 6. DM+n-Butanol ekstraktı, 7. DM+Su Ekstraktı olacak şekilde gruplandırıldı. Sıçanlar renksiz (R0), kırmızı baş (KB), siyah baş (SB), kırmızı baş siyah kuyruk (KBSK), siyah baş kırmızı kuyruk (SBKK) şeklinde işaretledi.

Sıçanlarda STZ ile Tip-I DM oluşturulması

Wistar albino sıçanlarda tip DM modeli literatüre uygun olarak oluşturuldu. Öncesinde tüm deney hayvanlarının kan plazma glukoz değeri Accu-Check glukometre cihazı ile ölçüldü, hipoglisemik olanlar 50 mg/dL dışı bırakıldı. Deney hayvanları streptozotosin (STZ) enjeksiyonu öncesi aç bırakıldı. 12. saat sonunda 0,1 M Sitrat tamponu (pH 4,5) içinde hazırlanan 55 mg/kg STZ (streptozotosin) intraperitoneal (İ.P.) olarak enjekte edildi. İ.P. STZ enjeksiyonu sonrasında deney hayvanlarının suluklarına %5'lik dekstroz çözeltisi verildi ve hayvanlar hipoglisemik durum açısından takip edildi. Ardından deney hayvanlarının sulukları normal su ile değiştirildi ve ad libitum beslendi. STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra deney hayvanlarının kuyruk venlerinden Accu-Check glukometre cihazı ile kan plazma glukoz değeri ölçüldü ve 200 mg/dL kan plazma glukoz seviyesine sahip sıçanlar Tip-I DM olarak kabul edilip çalışmaya dahil edilirken 200 mg/dL altındakiler çalışma dışı bırakıldı. 200 mg/dL üzerinde olan sıçanlar Tip- I DM olarak kabul edildi (Sani *et al.* 2012; Gonzales *et al.* 2013; Doğan 2015; Fatima *et al.* 2015; Baz *et al.* 2016; Demir *et al.* 2016).

İnsülinin ve tohum ekstraktlarının hazırlanması ve uygulanması

İnsülin ve metanol ekstraktı (ME), butanol ekstraktı (BE) ve su ekstraktı (SE), ayrı ayrı distile su ile çözülerek hazırlandı. Ekstraktlar 50, 100, 200, 400, 800 ve 1200 µg/mL dozlarında verildi. İnsülin için yapılan literatür araştırmalarında uygulanabilecek dozun 0,25 IU/kg olarak

hazırlandı (King 2012). İnsülin uygulaması için sığır pankreasından elde edilen saf insülin kullanıldı. Çalışmada kullanılan bitki ekstraktları metanol ekstraktı (ME), butanol ekstraktı (BE) ve su ekstraktı (SE), 50, 100, 200, 400, 800 ve 1200 µg/mL olarak hazırlandı (Krishna *et al.* 2004).

Ratlara tohum ekstraktların verilmesi ve kan plazma glukoz değerinin ölçülmesi

Hazırlanan insülin İ.P. yolla, bitki ekstraktları ise gavaj yolu ile deney hayvanlarına verildi. STZ enjeksiyonu sonrasında bütün deney hayvanlarının kan plazma glukoz değerleri ölçülerek 200 mg/dL üzeri Tip1 diyabet kabul edildi. Kontrol grubu 80-140 mg/dL kan plazma glukoz seviyesinde olan deney hayvanları kontrol grubu olarak deneye dahil edildi. Bu çalışmada uygulanan bitki ekstraktları ve insülinin farmakokinetik özelliklerini belirlemek amacı ile uygulama sonrasında saat başı (1., 2., 3., 4., 5., 6, 7. ve 8. saat) deney hayvanlarının kuyruk venlerinden alınan kanlarda plazma glukoz değerleri ölçüldü. Her 8 saatlik kan plazma glukoz ölçümlerinin ardından, deney hayvanlarının kuyruklarının iyileşmesi için 4 gün beklenildi ve bu şekilde tüm dozlar 50, 100, 400, 800, 1200 µg/mL verilerek kan plazma glukoz değerleri ölçüldü. Sıçanların kan plazma glukoz değerleri, her çalışma öncesinde glukometre ile ölçülerek kaydedildi. Tip- I DM oluşumu görüldükten sonra kontrol grubuna herhangi bir madde verilmeden rutin beslenmelerine devam edildi. DM+insülin grubuna 0,25 IU/kg insülin verildi. Diğer gruplara da ilgili ekstraktlar, ilk başta 50 mg/mL olarak verildi ve doz zamanla artırıldı. Ekstraktların farmakokinetiğinin araştırılması amacıyla; verilen ekstraktların her birinin yarılanma ömrü ve etkilerinin bitiş süreleri, saat başı belirlenen kan glukoz değerleri ile valide edildi (Kaplan *et al.* 2019).

Deneyin Sonlandırılması

Deney hayvanları yüksek doz inhale anestezik (sevofluran) ile derin anesteziye sokulmuştur. Deney hayvanlarının derin anesteziye girip girmedikleri korneal refleksleri kontrol edilerek ve ağırlı uyarana verilen tepkisizlik valide edildi. Deney hayvanları derin anesteziye girdikten sonra intrakardiyak (kalp içi) ponksiyonla kan alınarak ötenazi gerçekleştirilmiştir. Kanlar tüplere alınarak 10000 rpm'de 5 dakika süre boyunca santrifüj edildikten sonra plazmalar ayrı eppendrof tüplerine alınarak -20 °C'de muhafaza edildi. Ardından ilgili organlar %10'luk formaldehit çözeltisi içerisine konularak sonraki çalışmalar için oda sıcaklığında saklandı. Toplanan plazmalar, Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında kan plazma glukoz değerleri ölçülerek Accu-Check cihazıyla ölçülen sonuçlar valide edildi.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, *Datura innoxia* tohumlarından **Hekzan, Etil asetat, Metanol, *n*-Bütanol** ve **Su** çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktların öncelikle antioksidan özellikleri belirlenmiş ve daha sonra aynı ekstraktların (STZ) ile deneysel diyabet Tip-I oluşturulan deney hayvanlarında kan plazma glukoz düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışılan bu parametrelere ait bulgular, SPSS 20.0 yazılım programında Anova One Way Posthoc testlerinden Duncan kullanılarak $P < 0,05$ seviyesi anlamlı kabul edilerek değerlendirilmiştir.

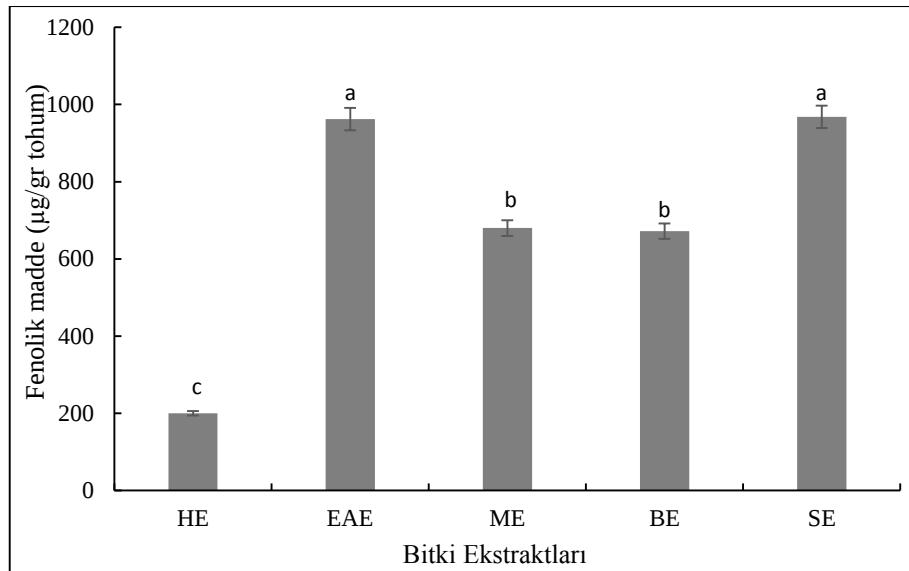
Çözücülerin Ekstraksiyon Verimleri

Çalışmada, *D. innoxia* tohumlarında hekzan, etil asetat, metanol, bütanol ve su ekstraksiyonları kendi içinde değerlendirildiğinde, bu çözücülerden elde edilen ekstrakt verimleri hekzan için %12,73; etil asetat için %0,098; metanol için %1,69; bütanol için %0,91 ve su ekstraktı için %2,59 (w/w) olarak belirlenmiştir. Bu verilere göre ekstrakt verimi en yüksek hekzan ekstraktı olurken, en düşük verim etil asetat ekstraktından elde edilmiştir.

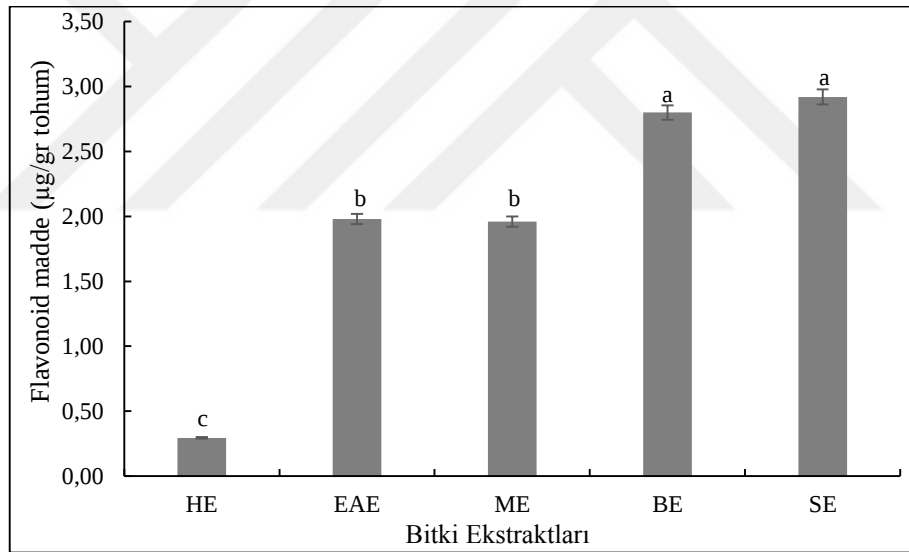
Ekstraktların Fenolik ve Flavonoid Madde İçerikleri

Çalışılan ekstraktların fenolik madde içeriği Şekil 8'de sunulmuştur. Ekstraktlar arasında fenolik madde içeriği en düşük hekzan ekstraktı (150 µg/gr) olurken, en yüksek fenolik madde içeriği su (968 µg/gr) ve etil asetat (962 µg/gr) ekstraktlarında belirlenmiştir. Metanolik ve bütanolik ekstraktlar ise hekzan ekstraktından yüksek, ancak su ve etil asetat ekstraktından daha düşük olmuştur. Bu verilere göre, *D. innoxia* tohumlarında bulunan fenolik bileşikler hemen her polaritede olurken, apolar olan etil asetat gibi polaritesi düşük bir çözücüde gelen apolar fenolikler olduğu gibi, polaritesi en yüksek olan sulu ortamda ekstrakte olabilen polar fenolikler bileşikler de bulunabilmektedir. Bu da tohumların fenolik madde bakımından zengin ve farklı çeşitlilikte olduğunu gösterir.

Ekstraktların flavonoid içerikleri değerlendirildiğinde farklı bir durum gözlenmiştir (Şekil 9). Genel olarak çözücülerin polariteleri arttıkça, elde edilen flavonoid içeriği artmaktadır. En yüksek flavonoid içeriği su ekstraktında (0,29 µg/gr) belirlenirken, en düşük flavonoid içeriği hekzan özütünde (2,92 µg/gr) belirlenmiştir (Şekil 9).



Şekil 8. Ekstraktlarda fenolik madde içeriği. He: Hekzan ekstraktı; BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı. Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 9. Ekstraktlarda flavonoid madde içeriği. He: Hekzan ekstraktı; BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı. Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.

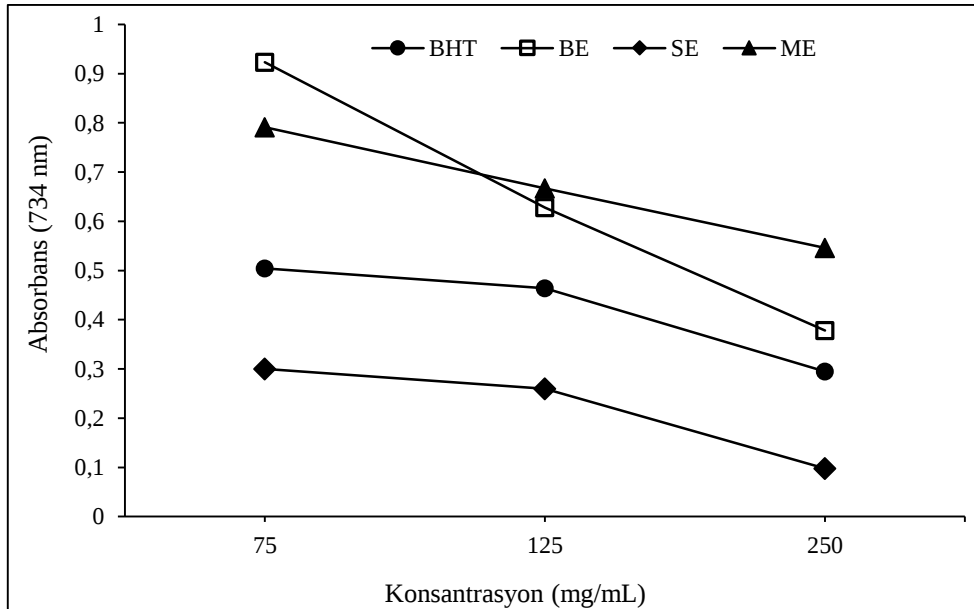
Bu verilere göre, *D. innoxia* tohumlarında bulunan flavonoid bileşikler hemen her polaritede olurken, tohumlarda bulunan flavonoidlerin büyük çoğunluğunun suda çözünebilir yani polar yapıda flavonoidler olduğu değerlendirilebilir.

Ekstraktların ABTS⁺ Radikalı Giderme Aktivitesi Bulguları

Ekstraktların standart antioksidan BHT (Butile edilmiş hidroksitoluen) eşdeğerine karşılık ABTS radikalı giderme aktiviteleri Şekil 10'da sunulmuştur. Ekstraktlardan HE ve EAE'de ABTS radikalı giderme aktivitesi belirlenememiştir. Diğer ekstraktlardan, su ekstraktı (SE) en güçlü ABTS radikalı giderme aktivitesi sergilemiştir. Hatta üç konsantrasyonda da su ekstraktı BHT'den daha güçlü bir giderme aktivitesi sergilemiştir. ME ve BE ise BHT ile kıyaslandığında radikalı giderme aktiviteleri düşük olmuştur (Şekil 10).

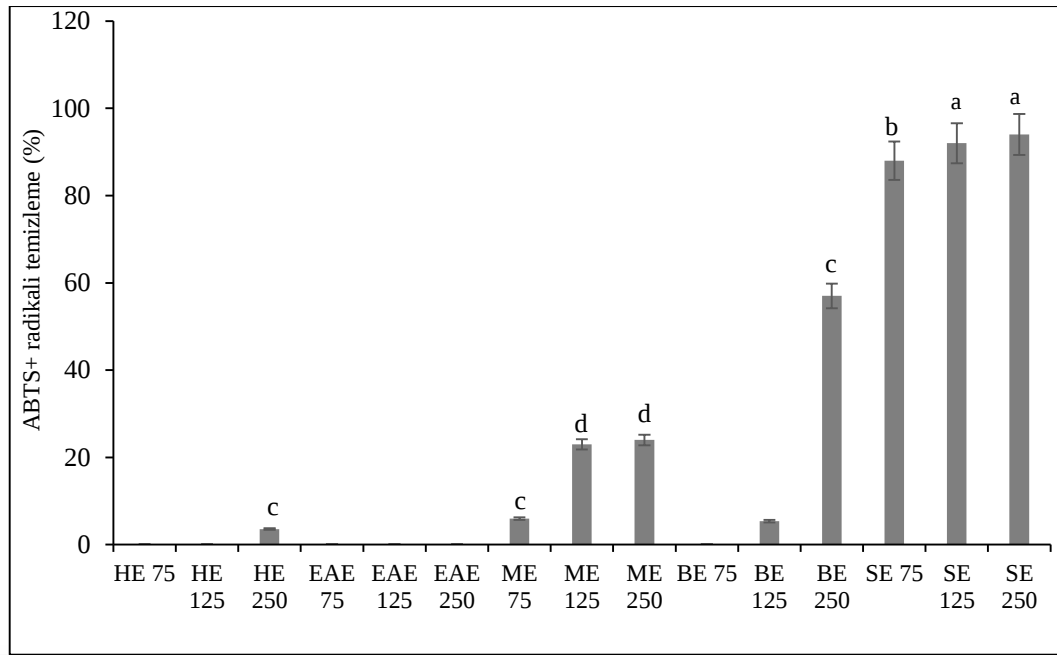
Çalışılan ekstraktların ABTS⁺ radikalı giderme oranları ise Şekil 11'de sunulmuştur. ABTS radikalı giderme oranları sadece ME, BE ve SE ekstraktlarında belirlenmiştir. HE ve EAE ekstraktlarında ABTS radikalı giderme aktivitesi belirlenemediğinden yüzdeleri verilmemiştir (Şekil 11). Radikalı giderme oranları belirlenen üç ekstrakt içerisinde ise en yüksek ABTS radikalı giderme oranı, su ekstraktında (SE) belirlenmiştir (Şekil 11). Örneğin su ekstraktlarında SE75, SE125 ve SE250 dozlarında ABTS radikalı giderme yüzdeleri sırasıyla %88, %92 ve %94 olmuştur. BE ekstraktında en yüksek aktivite BE250 dozunda olmak üzere %57 olmuştur. ME ekstraktında ise her ne kadar ABTS radikalı giderme aktivitesi belirlenmiş olsa da belirlenen aktiviteler %50'nin altında olmuştur. ABTS radikalı giderme oranları ve aktiviteleri birbirini desteklemiştir (Şekil 10 ve 11).

Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda ekstraktlar SE ekstraktı ile karşılaştırıldığında elde edilen veriler sonucunda ($P<0,05$) anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 11).



Şekil 10. Ekstraktların ABTS radikalı giderme aktivitesi.

BHT: Butile edilmiş hidroksi tolueen; BE: Bütanol ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı



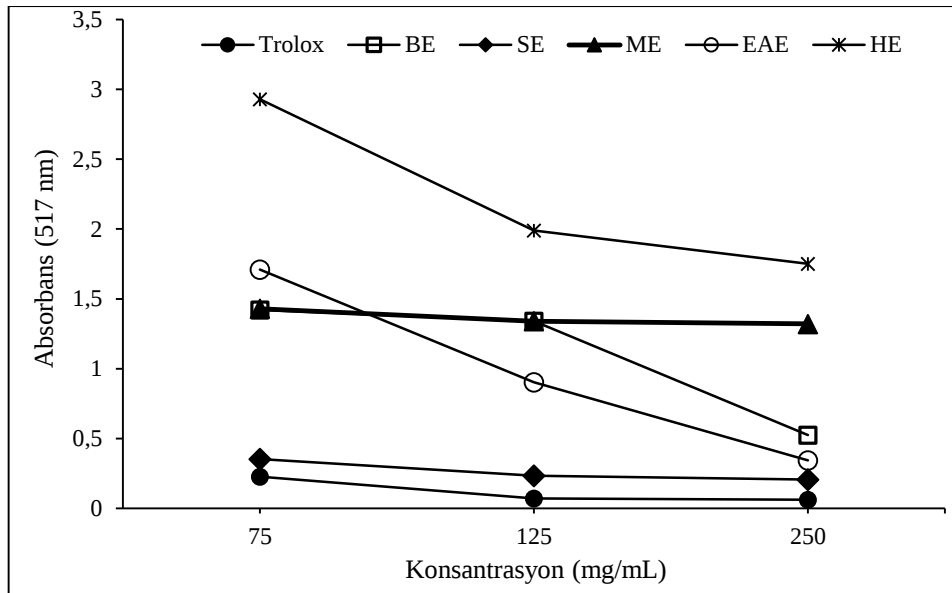
Şekil 11. Ekstraktların ABTS radikali giderme yüzdeleri.

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P < 0,05$). HE: Hekzan Ekstraktı; BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı

DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Bulguları

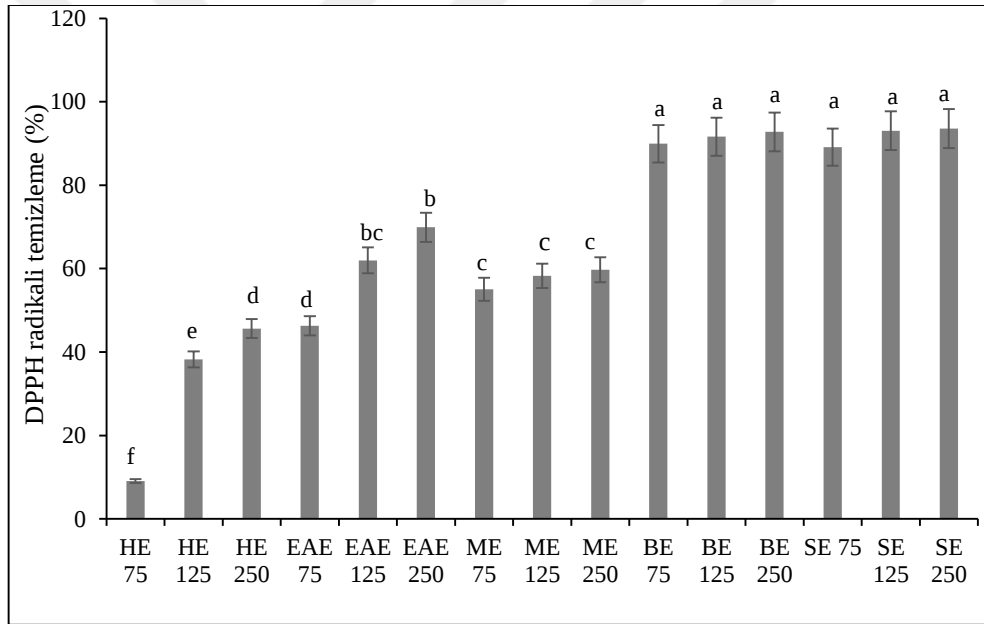
Ekstraktların standart antioksidan Trolox eşdeğerine karşılık DPPH radikali giderme aktiviteleri Şekil 12’de sunulmuştur. Ekstraktlar içerisinde, su ekstraktı (SE) en güçlü DPPH radikal giderme aktivitesi sergilemiştir. Hatta üç konsantrasyonda da su ekstraktı neredeyse Trolox’a çok yakın bir giderme aktivitesi sergilemiştir. En düşük DPPH radikal giderme aktivitesi HE ekstraktında belirlenmiştir. Ancak HE dozu arttıkça aktivite artmış ve HE250 dozda neredeyse %50 giderim sağlamıştır. BE, ME ve EAE ekstraktlarında ise 75 ve 125 dozlarında giderim aktivitesi Trolox’a göre düşük olsa da 250 dozlarında aktivite artmış ve hatta EAE250 ve BE250 ekstrakt dozlarında aktivite neredeyse Trolox’a yakın olmuştur (Şekil 12). DPPH radikal giderme oranları (%) değerlendirildiğinde (Şekil 13), genel olarak ekstraktların polariteleri arttıkça DPPH radikali giderme oranları da artmıştır. Aktivite bulgularını destekler nitelikte (Şekil 12), DPPH giderme oranları da en fazla SE ekstraktında belirlenmiştir (Şekil 13). Bu verilere göre *D. innoxia* tohumlarında DPPH radikalini temizleyen güçlü antioksidanların bulunduğu ve bu antioksidanların daha çok polar bileşikler olduğu değerlendirilmiştir.

Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda BE ve SE ile karşılaştırıldığında kendi aralarında anlamsızlık varken diğer HE, EAE, ME göre elde edilen veriler sonucunda ($P < 0,05$) anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 13).



Şekil 12. Ekstraktların DPPH radikali giderme aktivitesi

He: Hekzan ekstraktı; BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı



Şekil 13. Ekstraktların DPPH radikali giderme yüzdeleri

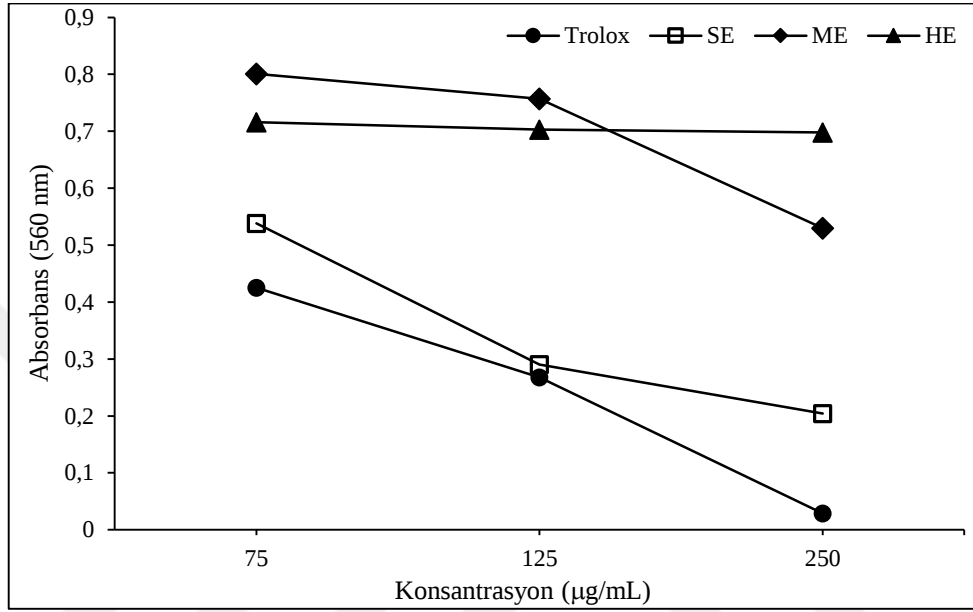
Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P < 0,05$). HE: Hekzan ekstraktı; BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı.

Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) Radikali Giderme Aktivitesi Bulguları

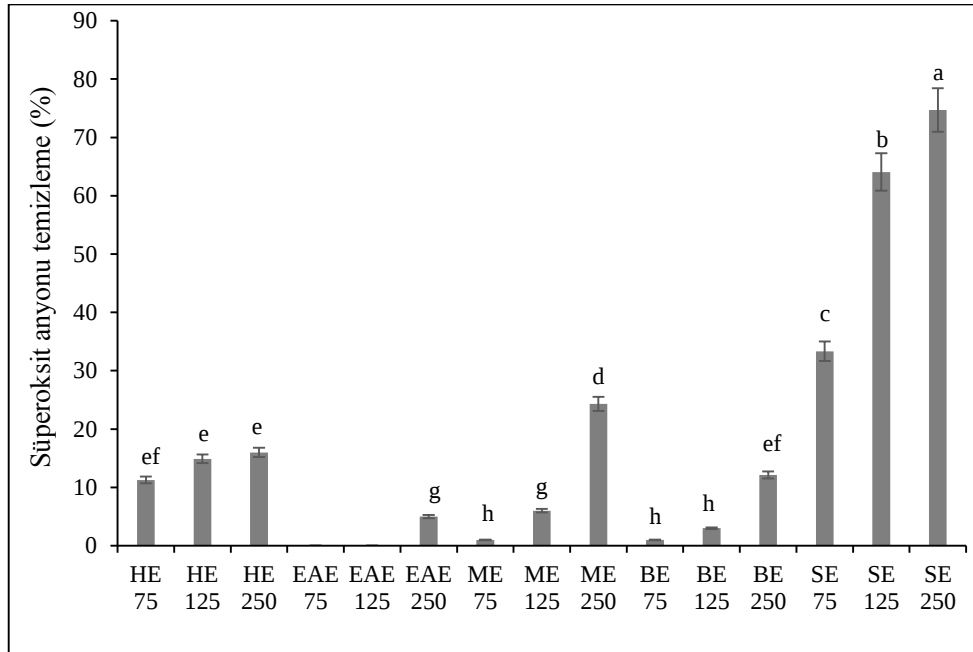
Süperoksit anyon radikali (SAR) temizleme aktivitesi ve yüzdeleri Şekil 14 ve Şekil 15'te sunulmuştur. Çalışmada BE ve EAE ekstraktlarında aktivite belirlenememiştir. Ancak diğer 3 ekstrakt SAR temizleme aktivitesinde anlamlı etkiler sergilemiştir. Bunlardan SE, Trolox standart eşdeğeri ile kıyaslandığında en yüksek aktivite sergilemiştir. SE üç dozunda da (75, 125 ve 250 μ g), Trolox'a yakın bir süpürme sağlamıştır. ME ve HE SAR giderme aktivitesi sergilese de SE'ye göre oldukça düşük olmuştur (Şekil 14). SAR giderme yüzdeleri değerlendirildiğinde elde edilen bulgu, aktivite bulgularıyla örtüştüğü belirlenmiştir (Şekil 15).

İlgili Şekil incelendiğinde en yüksek SAR giderme yüzdesi SE'ye aittir. Ekstraktlardaki en yüksekten düşüğe sırasıyla SAR giderim yüzdeleri; SE>BE>ME>HE>EAE olarak sıralanabilir. Bu verilere göre *D. innoxia* tohumlarında SAR radikalini temizleyen güçlü antioksidanların bulunduğu ve bu antioksidanların daha çok polar bileşikler olduğu değerlendirilmiştir.

Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda ekstraktlar SE (125 ve 250 µg) ile karşılaştırıldığında elde edilen veriler sonucunda ($P<0,05$) anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 15).



Şekil 14. Süperoksit anyonu uzaklaştırma aktivitesi
HE: Hekzan Ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı.



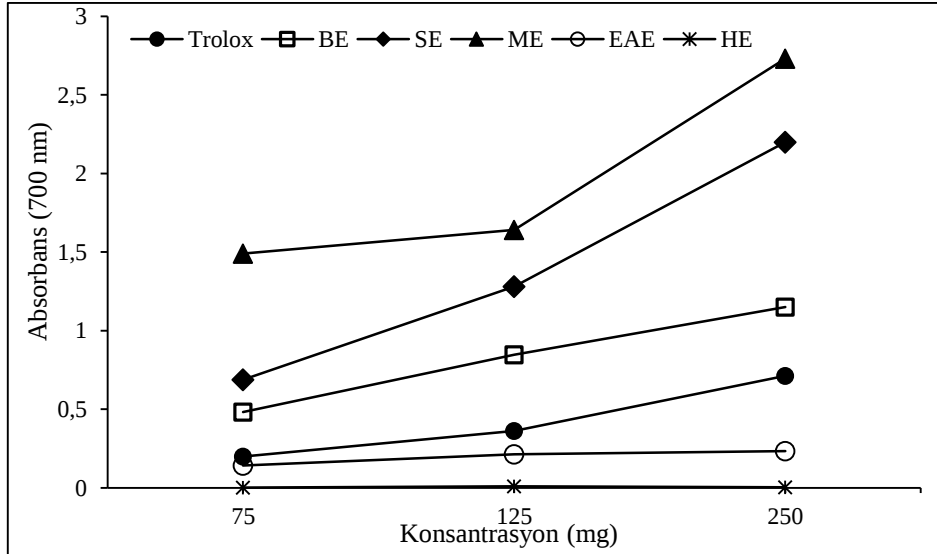
Şekil 15. Süperoksit anyonu uzaklaştırma yüzdeleri.

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P<0,05$). HE: Hekzan Ekstraktı; BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı

Demir (III) İndirgeme (Fe^{3+} - Fe^{2+}) Kapasitesi Bulguları

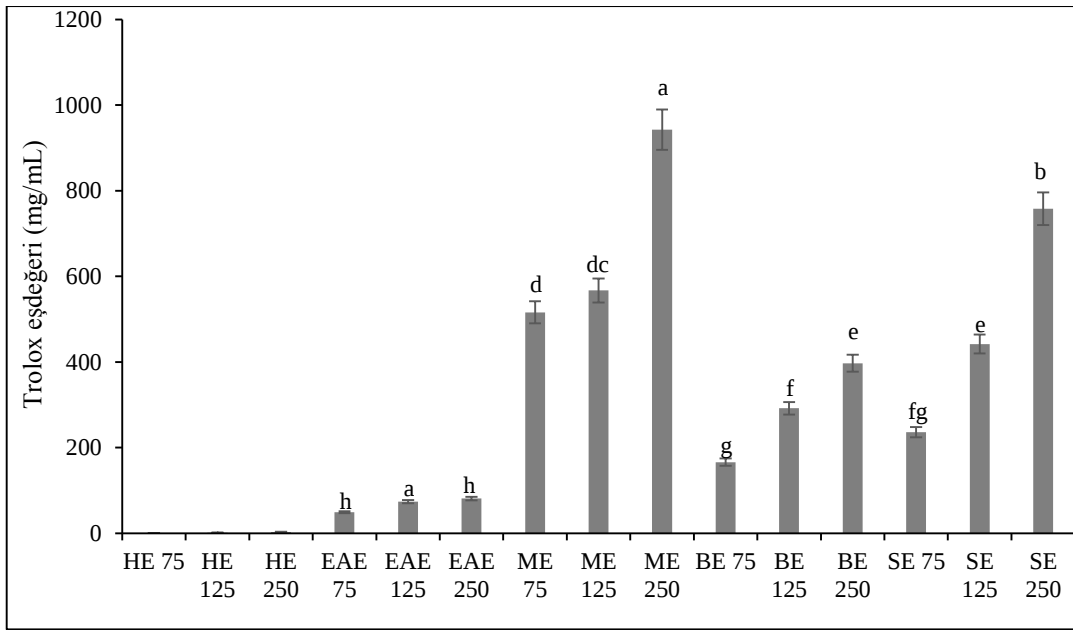
Bu metoda göre, ortamdaki antioksidanlar Fe^{3+} 'ü Fe^{2+} 'ye indirger ve bu esnada oluşan renk yoğunluğu ölçülerek antioksidanın indirgeme kapasitesi belirlenir. Renk yoğunluğunun artması güçlü aktiviteyi gösterir. Ekstraktlardan elde edilen verilere göre, EAE ve HE ekstraktlarında Fe^{3+} 'ü indirgeme aktivitesi çalışılan 3 dozda da Trolox standardından daha düşük olmuştur (Şekil 16). Özellikle HE ekstraktında aktivite yok denecek kadar az olmuştur. Ancak diğer üç ekstraktlarda (SE, ME ve BE) belirlenen Fe^{3+} indirgeme aktivitesi, tüm dozlarda Trolox'dan daha yüksek olmuştur. Bu ekstraktlarda aktivite yüksekten düşüğe sıraladığında $ME > SE > BE$ sıralaması ve Fe^{3+} 'ü indirgeme aktivitesi en yüksek ME ekstraktının olduğu görülebilmektedir (Şekil 16). Çalışmada aynı ekstraktların Trolox eşdeğerine göre miktarları Şekil 4.10'da verilmiştir. Aktivite sonuçlarıyla tutarlı olarak Trolox eşdeğerleri de en fazla ME, SE ve BE ekstraktlarında olmuştur. Trolox eşdeğeri anlamında; Fe^{3+} indirgeme aktivitesi ME250'de 943 μg , SE250'de 758 μg ve BE250'de ise 397 μg olarak en yüksek değerlere ulaşmıştır. Bu verilere göre *D. innoxia* tohumlarında Fe^{3+} 'ü indirgeyen çok güçlü antioksidanların olduğu ve bu antioksidanların çözünürlüklerinin daha çok metanol ve suyun polaritesine yakın olduğu değerlendirilebilir.

Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda ekstraktlar ME ve SE ekstraktı ile karşılaştırıldığında elde edilen veriler sonucunda diğer konsantrasyonlarına göre ($P < 0,05$) anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 17).



Şekil 14. Demir (III) indirgeme aktivitesi

HE: Hekzan Ekstraktı; BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı.



Şekil 15. Ekstraktların Trolox eşdeğeri olarak demir (III) indirgeme eşdeğerleri

Ekstraktların Trolox eşdeğeri olarak demir (III) indirgeme eşdeğerleri. Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P < 0,05$). HE: Hekzan ekstraktı, BE: Bütanol ekstraktı, EAE: Etil asetat ekstraktı, ME: Metanolik ekstraktı, SE: Su ekstraktı.

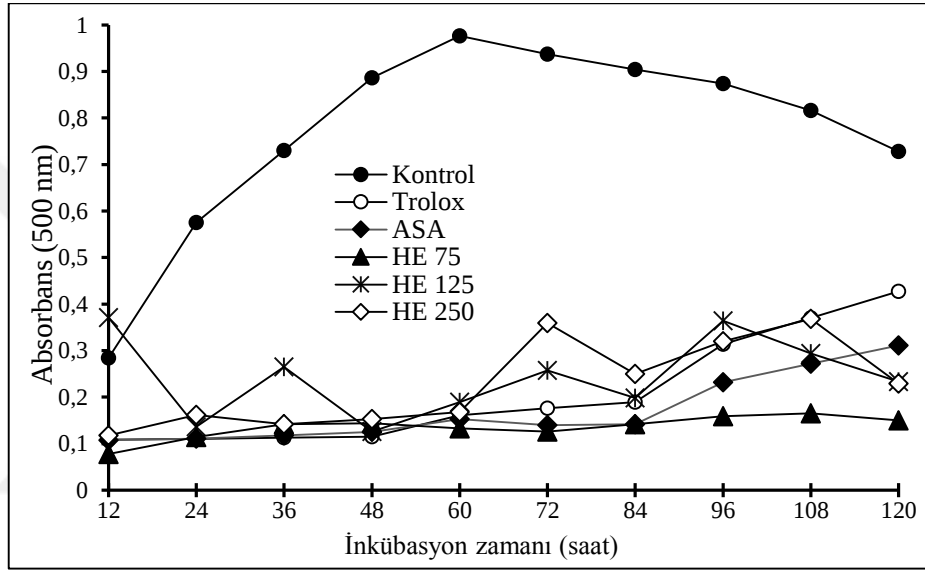
Total Antioksidan Kapasitesi (TAC) Bulguları

Total antioksidan kapasitesinin (TAC) belirlenmesi, 5 gün (120 saat) boyunca her 12 saatte bir gerçekleştirildi. Çalışmada, 5 ekstrakt ve her ekstraktın 3 farklı dozu olduğu için ekstraktların Kör örneğe karşı TAC aktiviteleri, tek bir grafik üzerinden verilemedi. Çünkü grafik çok karışık ve anlaşılabilir olmazdı. Bunun yerine her bir ekstraktın Kör örneğe karşı olan aktiviteleri ayrı ayrı verilmiştir. Çalışmada aynı koşullarda standart olarak Trolox ile askorbik asit (ASA) da çalışıldı ve ekstraktların TAC aktiviteleri Trolox ve askorbik asit (ASA) standardına göre sunuldu (Şekil 18, 19, 20, 21 ve 22). Genel olarak değerlendirildiğinde çalışılan bütün ekstraktlar standart Trolox ve ASA'ya yakın ve hatta çoğu zaman güçlü bir TAC aktivitesi sergilemiştir. Her bir ekstraktın TAC aktivitesi bulguları aşağıda özetlenmiştir.

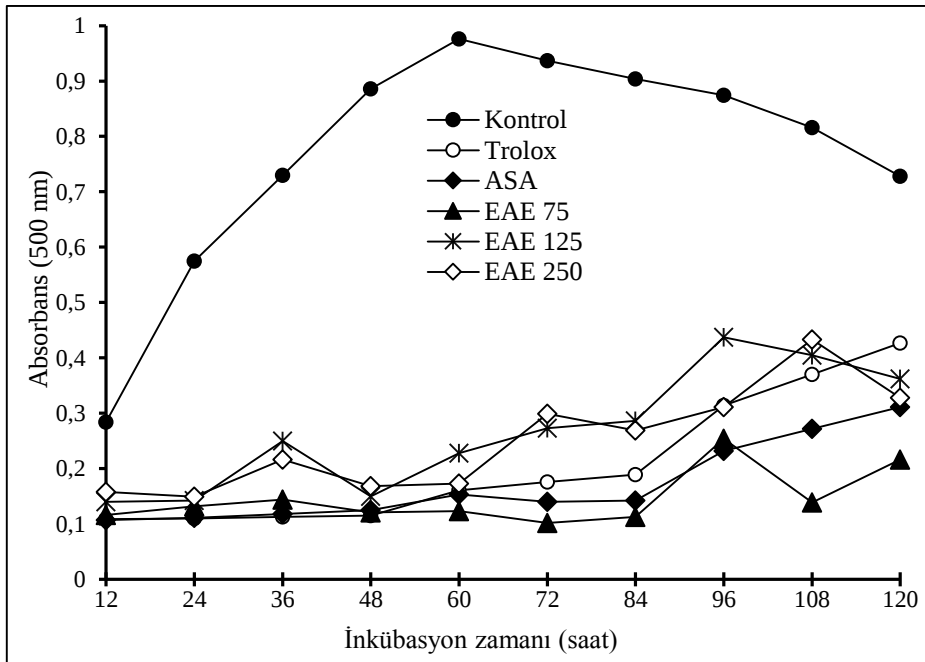
HE ekstraktının TAC aktivitesi 12. saat itibarıyla Trolox ve ASA'ya yakın olduğu gözlenmekte ve bu paralellik 120. saate kadar sürmektedir. Özellikle 60. saatte de (Kör'ün en yüksek olduğu saat) güçlü bir aktivite görülmektedir. HE ekstraktı için HE75 dozu en fazla toplam antioksidan kapasitesi olduğu, bunu HE125 ve HE250 dozların takip ettiği görülmektedir (Şekil 18). EAE ekstraktının 12. saat itibarıyla EAE75 dozunda ASA ile yakın bir aktivite gösterirken, Troloxtan daha yüksek bir aktivite belirlenmiştir. Ayrıca 60. saatte de güçlü bir aktivite görülmektedir. EAE ekstraktında EAE75 dozunda en yüksek toplam antioksidan kapasitesi ve en düşük ise EAE250 dozunda ölçülmüştür (Şekil 19). ME ekstraktı ise 12. saate standart ASA ve Troloxtan düşük aktivite göstermesine rağmen, 48. saatten itibaren ASA ve Troloxla yakın aktivite göstermiştir. ME125 ve ME25'te ise 72. saatte ASA

ile benzer aktivite görülmüştür (Şekil 20). BE ekstraktı incelendiğinde, 12. saatte BE75 ve BE125 dozları ASA ve Trolox kadar etki gösterirken, bu etki 48. saatten sonra BE250 dozunda da görülmüştür. Özellikle 60. saat ve sonrasında BE ekstraktlarının standart çalışmada kullanılan ASA ve Troloxtan daha güçlü TAC aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 21). SE ekstraktı verileri incelendiğinde ise 48. saate kadar standartlar ASA ve Trolox kadar aktivite gösterdiği 60. saatte ise ASA ve Troloxtan daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 22).

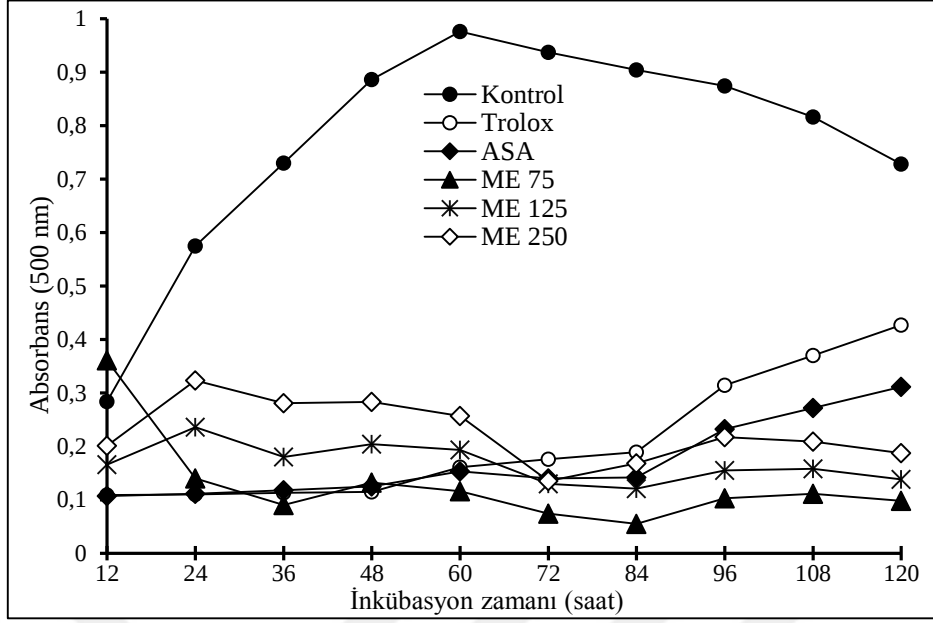
Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda ekstraktlar SE ekstraktı ile karşılaştırıldığında elde edilen veriler sonucunda ($P<0,05$) anlamlı fark bulunmuştur.



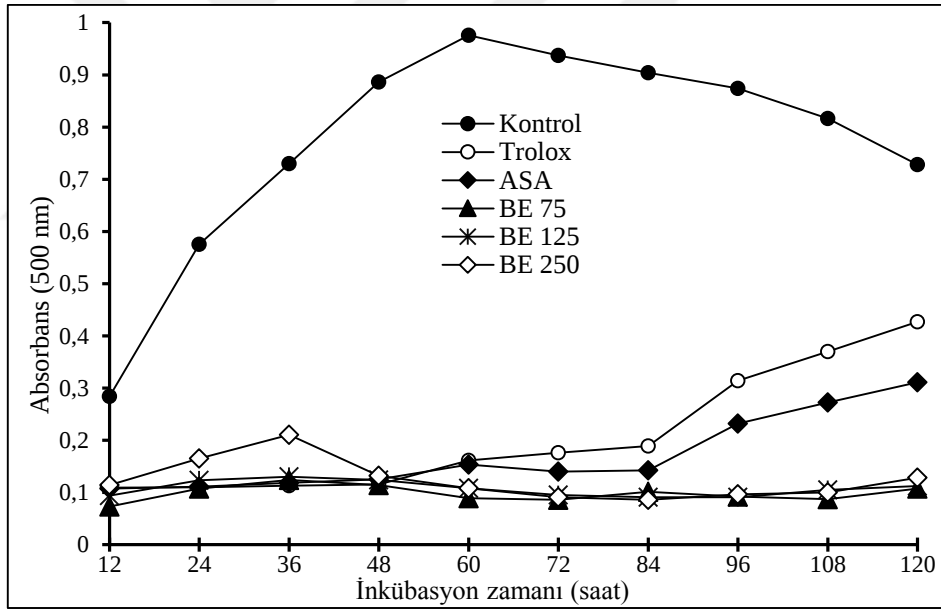
Şekil 16. Hekzan ekstraktının (HE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).



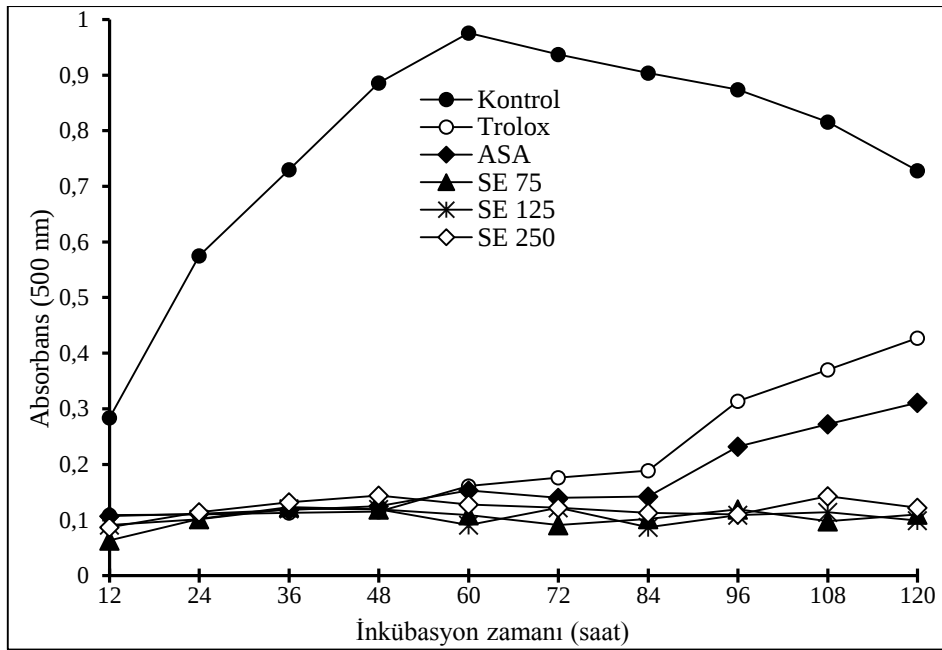
Şekil 17. Etil asetat ekstraktının (EAE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).



Şekil 18. Metanol ekstraktının (ME) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).



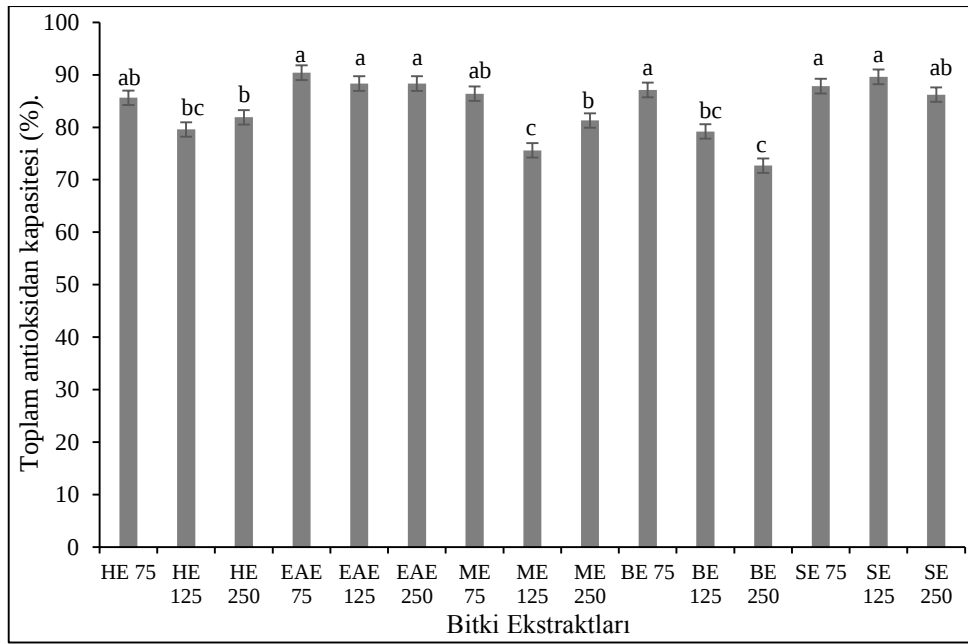
Şekil 19. Bütanol ekstraktının (BE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).



Şekil 20. Su ekstraktının (SE) toplam antioksidan kapasitesi (TAC).

Diğer taraftan ekstraktların %TAC değerleri 60. saatteki veriler baz alınarak yapılmıştır (Şekil 23). Çünkü 5 gün süreyle yapılan testlerde, antioksidan içermeyen Kör örneğin 60. saatte en yüksek radikal oluşturma pik değerine ulaştığı belirlendi (Şekil 18-22). Bu saatten sonra Kör örnekte absorbansın giderek düştüğü, yani radikal oluşumunun giderek zayıfladığı görüldü (Şekil 18-22). Bu nedenle çalışılan ekstrakt dozları (75, 125 ve 250 μ g) içeren örneklerde, %TAC verilerinin hesaplanması için 60. saatteki aktivite değerleri kullanılmıştır.

Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda ekstraktlar HE, ME (125, 250), BE (125, 250) ile EAE, ME (75), BE 75 ve SE'den elde edilen veriler sonucunda kendi aralarında anlamsızlık görülse de karşılaştırıldığında ($P < 0,05$) anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 23).



Şekil 21. Ekstraktların toplam antioksidan kapasitesi oranları (%).

Ekstraktların Trolox eşdeğeri olarak demir (III) indirgeme eşdeğerleri. Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P < 0,05$). HE: Hekzan ekstraktı, BE: Bütanol ekstraktı; EAE: Etil asetat ekstraktı; ME: Metanolik ekstrakt; SE: Su ekstraktı.

Deney Hayvanlarının Ağırlıkları

Çalışma öncesi ve sonlandırıldığında deney hayvanlarının ağırlıkları kayıt altına alınarak *D. innoxia* tohum ekstraktlarının *ad. libitum* beslenen deneklerde etkileri gözlemlenerek Tablo 1’de grupların ağırlık ortalamaları verilmiştir. Kontrol grubunun 42 gr ağırlık ortalaması artmış, diyabet grubu çalışmayı tamamlayamadı ve ağırlıkları 0 ile belirtilmiştir. Diyabet+ SF grubunda 60 gr. Diyabet+İnsülin grubunda 84,4 gr. ME uygulanan grupta 51,5 gr. BE uygulanan grupta 35,5 gr. SE uygulanan grupta ise 85,9 gr ortalama ağırlık kaybı olmuştur. Bulgular neticesinde en az ağırlık kaybı BE grubunda, en çok ağırlık kaybı ise SE grubunda gözlemlenmiştir.

Tablo 1. Ratların çalışma öncesi ve çalışma sonlandırıldığında ağırlık ortalamaları (gr.)

Deney Grupları	Deney Hayvanlarının Çalışma Öncesi Ağırlık Ortalaması	Deney Hayvanlarının Çalışma Sonlandırılma Ağırlık Ortalaması
Kontrol	337,6	379,8
Diyabet	348,7	0
Diyabet+SF	344,8	284,5
Diyabet+İnsülin	344,4	260,0
Diyabet+ME	344,5	293,0
Diyabet+BE	338,6	303,1
Diyabet+SE	324,5	238,6

SF: Serum Fizyolojik; ME: Metanolik Ekstrakt; BE: Bütanol Ekstraktı; SE: Su Ekstraktı.

***Datura innoxia* Tohum Ekstraktlarının Kan Plazma Glukoz Düzeyine Etkileri**

Bu çalışma sonucunda pozitif kontrol olarak kullanılan saf sıgır insülinine karşı *D. innoxia* tohum ekstraktlarının 50 mg/mL uygulanan kan glukoz değerlerinin sonuçları Tablo 2’ te verilmiştir. İnsülin uygulanan grupta, tohum ekstraktları uygulanan grup karşılaştırıldığında 1. Saatte glukometre ile yapılan ölçümde plazma kan glukozunda su ekstraktın ve metanol ekstraktında düşüş gözlenirken 2. Saatte su ekstraktın kan plazma glukoz seviyesinde beklenen azalmayı göstermemektedir. Bütanol ekstraktı ise 2. ve 4. Saatte etki göstermesine rağmen sonraki ölçümlerde kan glukoz seviyesi HI (high, yüksek) olarak ölçülmüştür. Metanol ekstraktı ise 7 saat boyunca insülin gibi kan plazma glukoz seviyesini düşürdüğü gözlemlenmekle birlikte 8 saat boyunca yapılan ölçümlerde insülin kadar etki süresi olduğu ölçümlenmiştir. Bununla birlikte 2 ay boyunca ekstrakt dozu literatür bilgileri dahilinde deneylerde stok çözelti içindeki ekstraktların ve insülinin etkisinin zamanla kaybettiği veya sıçanlarda oluşan kronik diyabet kaynaklı glukometrenin ölçebileceğinden daha yüksek olan kan glukoz seviyelerinin sonuçları Tablo 3-7’ de verilmektedir (Gidado *et al.* 2007). Aşağıda verilen tablolar sonucunda -24°C saklanan stok çözeltilerin etken madde veya maddelerinin kararsız yapıda olduğu ya da kolay bozuluma uğrayan bileşikler olduğu sonucuna varılabilmektedir. Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında her sıçan için 17002836 numaralı dosyada ayrıntılı yapılan kan glukoz değerlerinin her grup için ortalamaları Tablo 8’ da verilmiştir. Sıçanların ötenazi sonrasında o organlarında histolojik incelemeler olmasına rağmen gözlemler doğrultusunda karaciğer, pankreas, böbrek, mide ve bağırsaklarda herhangi bir anormali görülmemektedir. Veriler sonucunda *Datura innoxia* bitki tohum ekstraktlarının DM üzerinde olumlu etkisi olduğu gözlenmektedir.

Tablo 2. 50 mg/mL tohum ekstraktı uygulanmış sıçanların kan glukoz ortalamaları

Grup	DM+İnsülin (a)	DM+ME (a)	DM+BE (b)	DM+SE (b)
U.Ö	549	534	HI	HI
1. Saat	HI	HI	HI	491
2. Saat	558	414	419	HI
3. Saat	273	424	HI	HI
4. Saat	370	398	454	HI
5. Saat	460	321	HI	HI
6. Saat	517	386	HI	HI
7. Saat	551	455	HI	HI
8. Saat	438	376	HI	HI

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P < 0,05$). U.Ö: Uygulama Öncesi; DM: Diabetes Mellitus; ME: Metanol Ekstraktı; BE: Bütanol Ekstraktı; SE: Su Ekstraktı.

Tablo 3. 100 mg/mL tohum ekstraktı uygulanmış sıçanların kan glukoz ortalamaları

Grup	DM+İnsülin (a)	DM+ME (a)	DM+BE (a)	DM+SE (a)
U.Ö	518	592	568	HI
1. Saat	574	564	527	HI
2. Saat	HI	HI	HI	HI
3. Saat	HI	HI	HI	HI
4. Saat	HI	HI	HI	HI
5. Saat	HI	HI	HI	HI
6. Saat	HI	HI	HI	HI
7. Saat	HI	HI	HI	HI
8. Saat	HI	HI	HI	HI

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P<0,05$). U.Ö: Uygulama Öncesi Dm: Diabetes Mellitus; Me: Metanol Ekstraktı; Be: Bütanol Ekstraktı; Se: Su Ekstraktı.

Tablo 4. 200 mg/mL tohum ekstraktı uygulanmış sıçanların kan glukoz ortalamaları

Grup	DM+İnsülin (a)	DM+ME (a)	DM+BE (a)	DM+SE (a)
U.Ö	HI	HI	HI	HI
1. Saat	HI	HI	485	HI
2. Saat	503	HI	487	419
3. Saat	480	HI	HI	HI
4. Saat	HI	HI	HI	HI
5. Saat	HI	HI	HI	HI
6. Saat	HI	HI	HI	HI
7. Saat	HI	HI	HI	HI
8. Saat	HI	HI	HI	HI

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P<0,05$). U.Ö: Uygulama Öncesi; DM: Diabetes Mellitus; ME: Metanol Ekstraktı; BE: Bütanol Ekstraktı; SE: Su Ekstraktı.

Tablo 5. 400 mg/mL tohum ekstraktı uygulanmış sıçanların kan glukoz ortalamaları

Grup	DM+İnsülin (a)	DM+ME (a)	DM+BE (a)	DM+SE (a)
U.Ö	HI	HI	HI	520
1. Saat	530	HI	HI	HI
2. Saat	HI	HI	HI	HI
3. Saat	HI	HI	HI	HI
4. Saat	HI	HI	HI	HI
5. Saat	HI	HI	HI	HI
6. Saat	HI	HI	HI	HI
7. Saat	HI	HI	HI	HI
8. Saat	HI	HI	HI	HI

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P<0,05$). U.Ö: Uygulama Öncesi; DM: Diabetes Mellitus; ME: Metanol Ekstraktı; BE: Bütanol Ekstraktı; SE: Su Ekstraktı.

Tablo 6. 800 mg/mL bitki ekstraktı uygulanmış sıçan kan glukoz ortalama sonuçları

Grup	DM+İnsülin (a)	DM+ME (a)	DM+BE (a)	DM+SE (a)
U.Ö	595	HI	555	HI
1. Saat	546	560	542	585
2. Saat	493	517	559	553
3. Saat	560	538	559	576
4. Saat	587	HI	HI	HI
5. Saat	HI	HI	HI	HI
6. Saat	HI	HI	HI	HI
7. Saat	HI	HI	HI	HI
8. Saat	HI	HI	HI	HI

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P<0,05$). U.Ö: Uygulama Öncesi; DM: Diabetes Mellitus; ME: Metanol Ekstraktı; BE: Bütanol Ekstraktı; SE: Su Ekstraktı.

Tablo 7. 1 200 mg/mL tohum ekstraktı uygulanmış sıçanların kan glukoz ortalamaları

Grup	DM+İnsülin (a)	DM+ME (a)	DM+BE (a)	DM+SE (a)
U.Ö	HI	596	HI	HI
1. Saat	HI	HI	HI	HI
2. Saat	HI	HI	HI	HI
3. Saat	HI	HI	HI	HI
4. Saat	HI	HI	HI	HI
5. Saat	HI	HI	HI	HI
6. Saat	HI	HI	HI	HI
7. Saat	HI	HI	HI	HI
8. Saat	HI	HI	HI	HI

Aynı harflerle belirtilen veriler arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($P<0,05$). U.Ö: Uygulama Öncesi; DM: Diabetes Mellitus; ME: Metanol Ekstraktı; BE: Bütanol Ekstraktı; SE: Su Ekstraktı

Tablo 8. Sıçan Kan Glukoz Biyokimya Ortalama Sonuçları

GRUP	Ortalama Kan Glukozu (mg/dL)
DM+İnsülin	520
DM+ME	613
DM+BE	781
DM+SE	688

DM: Diabetes Mellitus; ME: Metanol Ekstraktı; BE: Bütanol Ekstraktı; SE: Su Ekstraktı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada *Datura innoxia* bitki tohumlarının hekzan, etil asetat, metanol, *n*-bütanol ve su çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktların antioksidan özellikleri ve streptozotosin (STZ) ile indüklenen deneysel Tip- I diyabet oluşturulmuş deney hayvanlarının kan plazma glukoz seviyeleri üzerine etkileri çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu *D. innoxia* tohumlarından elde edilen ekstraktlardan özellikle metanol, bütanol ve su ekstraktlarının güçlü anti-oksidatif etkilere sahip olduğu ortaya konmuştur. İlave olarak ekstraktlardan metanol, bütanol ve su ekstraktlarının deneysel Tip- I diyabet modeli oluşturulmuş deney hayvanlarında insüline benzer anti-hiperglisemik etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu etkilerin ekstraktlar içerisinde bulunan anti-oksidatif ve biyoaktif bileşenler sayesinde olduğu öngörülmektedir. Literatürde *Datura innoxia* yaprak veya tohum özütlerinin anti-oksidan, anti-inflamatuvar ve sedatif özellikleri araştırılmıştır (Babalola *et al.* 2015; Fatima *et al.* 2015; Bhardwaj *et al.* 2016). Ancak, *D. innoxia* tohumlarının anti-hiperglisemik potansiyeli ilk kez bu çalışmayla değerlendirilmiş ve literatüre kazandırılmıştır.

Çalışmada, *D. innoxia* tohumlarında hekzan (HE), etil asetat (EAE), metanol (ME), bütanol (BE) ve su ekstraktlarının (SE) verimleri yüksekten düşüğe sırasıyla hekzan > su > metanol > bütanol > etil asetat olarak belirlenmiştir. Bu verilere göre ekstrakt verimi en yüksek hekzan ekstraktı olurken, en düşük verim etil asetat ekstraktından elde edilmiştir. *Datura innoxia* tohumlarıyla ilgili olarak ilk kez polariteleri böyle geniş spektrumda olan çözücülerle ekstraktlar elde edilmiştir. Bu nedenle elde edilen verilerin literatür için önemli olacağı değerlendirilmiştir.

Antioksidanlar, hücrelerde süperoksid anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ve H_2O_2 gibi reaktif oksijen türleri (ROT) ile etkileşen ve bunların zararlı etkilerini gideren bileşiklerdir. ROT'lar, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektronsa sahip, yarılanma ömrü kısa, yüksek seviyede kararsız ve reaktif bileşiklerdir. ROT'lar hücrelerde membran lipidleri, DNA, karbohidrat ve proteinler gibi biyomolekülleri oksitleyerek hücrede toksik etki yaparlar. Antioksidanlar bu etkilerini ROT'ları biyolojik hedefleriyle etkileşmeden önce parçalayarak, peroksidatif zincir reaksiyonları önleyerek, oksijenin daha reaktif bileşiğe dönüşmesini engelleyerek veya oksidanlardan ötürü oluşan hasarı azaltarak yaparlar. Diyabetli bir organizmada oksidatif stresin artmasıyla ROT düzeylerinin arttığı ve buna karşılık antioksidan düzeyinin azalması karakterize bir durumdur (Johansen *et al.* 2005).

Hem yenilebilir hem de şifalı bitkilerde yaygın bulunan fenolik bileşikler olarak flavonoidler, tanenler, sinnamik türevleri ve lignin sayılabilir. Bir elektron vericisi olarak davranan fenolikler, antioksidan özelliklerini zincir kırma ve geçiş metalleri ile şelatlaşarak yaparlar. Ayrıca serbest radikallerin hücre içine difüzyonunu kısıtlayarak peroksitatif reaksiyonları önlerler. Genel olarak antioksidan, anti-enflamatuar ve anti-agregatör ve damar genişletme özelliği gibi birçok biyolojik etkiye sahip oldukları da bildirilmektedir (Hopia *et al.* 1999). Çalışmamızda, *Datura innoxia* tohum ekstraktları fenolik madde içeriği bakımından değerlendirildiğinde, fenolik madde miktarı en düşük hekzan ekstraktı olurken, en yüksek su ekstraktı olmuştur (Şekil 8). Metanolik ve bütanolik ekstraktlar ise hekzan ekstraktından yüksek, ancak su ve etil asetat ekstraktından daha düşük olmuştur. Bu sonuç değerlendirildiğinde *Datura innoxia* tohumlarında bulunan fenolik bileşiklerin daha çok polaritesi yüksek sulu ortamda ekstrakte olabilen polar fenolik bileşikler olduğu ileri sürülebilir. Bu da tohumların fenolik madde bakımından farklı polaritede ve çeşitlilikte olduğunu gösterir. Tohumlarının fenolik madde içeriğince zengin olması hidrojen atomlarını serbest radikallere bağlanmasını OH $\cdot$, NO $_2$, N $_2$ O $_3$, ONOOH ve HOCL gibi diğer reaktif türlerini çeşitli mekanizmalarla uzaklaştırarak yüksek antioksidan aktivitesi göstermektedirler (Sandhir *et al.* 2014). Bir çalışmada da *D. innoxia* ve *D. metel* tohum metanolik ekstraktlarının yüksek fenolik madde içerdiği belirlenmiştir (Kumar *et al.* 2014). Meyan (*Glycyrrhiza glabra*) bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen su ve etanol özütlerinde, total fenolik miktarı değerlendirildiğinde bizim çalışmamıza benzer olarak polar olan etanol ve su ekstraktlarında fenolik madde miktarının yüksek olduğu belirlenmiştir (Şerbetçi 2007).

Flavonoidler, bitkilerde oldukça yaygın olan suda çözünebilir polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidler iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden meydana gelmiş difenilpropan yapısındaki fenolik bileşiklerdendir. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi hidroksil gruplarının yapısına ve bağlanma modeline bağlıdır (Nudeh *et al.* 2009). Çalışmamızda ekstraktların flavonoid içerikleri değerlendirildiğinde (Şekil 9) genel olarak çözücülerin polariteleri arttıkça, elde edilen flavonoid içeriği artmaktadır. En yüksek flavonoid içeriği su ekstraktında belirlenirken, en düşük flavonoid içeriği hekzan özütünde belirlenmiştir. Benzer olarak bir çalışmada, *D. innoxia* ve *D. metel* bitkilerinin tohum ve yaprakların metanolik ekstraktlarında toplam flavonoid içerikleri karşılaştırılmıştır. Flavonoid içeriği bakımında *D. innoxia* yaprak ve tohumların daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Sandhir *et al.* 2014).

Antioksidan bileşiklerin hücrelerde ROT giderme aktiviteleri, serbest radikallerin zararlı etkilerini gidermek açısından büyük önem taşımaktadır. Günümüzde serbest radikallerin veya diğer bir tanımla ROT'ların giderilme derecelerini ölçen birçok metot bulunmaktadır.

Bunların başında ABTS^{•+} radikali giderme, DPPH radikali giderme, süperoksit (O₂^{•-}) radikali giderme, demir (III) indirgeme (FRAP) ve total antioksidan kapasitesi (TAC) aktivitesi metotları bulunmaktadır. Bu radikal giderme metotlarının uygulama kolaylığı, duyarlılıkları ve analizlerin kısa sürede uygulanabilirliği gibi önemli avantajlardan dolayı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. ABTS^{•+} radikali temizleme aktivitesi bitki kaynaklarının radikal giderme aktivitelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. ABTS radikali DPPH radikalinden daha reaktiftir ve reaksiyonu bir hidrojen (H) transferini gerektiren DPPH radikalinden farklıdır. ABTS radikali bir elektron transferi yapar ve giderme mekanizması, aşağıda DPPH radikali giderme mekanizmasına benzerlikler taşır (Gülçin 2006; Gülçin *et al.* 2006a,b). Bizim çalışmamızda ise *D. innoxia* bitki tohumlarında en yüksek ABTS radikali giderme aktivitesi su ekstraktının (SE) üç konsantrasyonunda (SE75, SE125, SE250 µg) belirlenmiştir (Şekil 11). Aralarında istatistik fark olmasa da SE ekstraktı dozu (75, 125, 250 µg) arttıkça aktivitede de artış belirlenmiştir. Yine ilgili şekil incelendiğinde HE ve EAE ekstraktlarında hemen hiç aktivite görülmezken ME ve BE ekstraktlarının özellikle yüksek dozlarında önemli aktivite belirlenmiştir. Ayrıca standart BHT ile kıyaslandığında SE ekstraktının BHT'den daha yüksek bir aktivite giderimi belirlenmiştir. ME ve BE ekstraktların ABTS radikali giderimi ise BHT'den daha düşüktü (Şekil 10). Bu verilere göre, *Datura innoxia* bitki tohumlarında ABTS radikali giderme kapasitesine sahip antioksidan metabolitlerin çoğunlukla polar bileşikler olduğu değerlendirilebilir. İlgili şekle dikkat edilirse, HE ve EAE gibi apolar ekstraktlarda ABTS giderimi neredeyse hiç belirlenememiştir. Literatürde ABTS radikal temizleme aktivitesi ile ilgili bir çalışmada, *Annona squamosa* bitkisinin ABTS radikal temizleme aktivitesinin daha çok apolar çözücülerden elde edilen ekstraktlarda belirlenmiştir (Akhil *et al.* 2017). Ancak başka bir çalışmada *D. metel* ve *D. innoxia* bitkilerinin metanol ekstraktlarında ABTS radikali giderme aktivitesinin yüksek olduğu ve ayrıca ABTS radikali gidermede *D. innoxia* bitkisinin daha başarılı olduğu belirlenmiştir (Kumar *et al.* 2014). Yine *Datura alba* ile yapılan bir çalışmada, tohumlardan elde edilen metanol, hekzan, etil asetat ve kloroform ekstraktlarının ABTS radikali giderme aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Bulgulara göre en yüksek aktivite sırasıyla metanol > kloroform > hekzan > etil asetat ekstraktlarında olmuştur (Subhan *et al.* 2019). Bu sonuç bizim verilerimizle genelde örtüşmektedir.

DPPH radikali nispeten uzun ömürlü ve kararlı bir serbest radikaldir. Bitkilerde antioksidan bileşiklerin radikal giderme kapasitelerini belirlemek için sıklıkla kullanılan metotlar arasındadır. Bu metota göre antioksidanlar, okside olan DPPH radikalini sarı renkli difenil pikrilhidrazine indirgerler. Bu metodun temeli, hidrojen verebilen gruplara sahip antioksidanların varlığında, DPPH radikallerinin DPPH-H'a indirgenmesine dayanır. Çalışmamızda DPPH radikal giderme aktivitesi ile ilgili bulgular değerlendirildiğinde, ilk göze

çarpan sonucun çalışılan bütün ekstraktların DPPH radikal uzaklaştırma aktivitesine sahip olmasıdır (Şekil 13). Bununla birlikte DPPH giderim yüzdesi en fazla SE ve BE ekstraktlarda belirlenmiştir. En düşük giderim ise HE ekstraktında belirlenirken, EAE ve ME ekstraktları radikal giderimi HE ekstraktından yüksek, ancak SE ve BE ekstraktlarından düşük olmuştur. DPPH radikal giderimi HE ve EAE ekstraktlarında doza bağlı olarak artarken ME, BE ve SE ekstraktlarında aktivite artışı ekstrakt dozu artışından anlamlı ($P < 0.05$) seviyede değişmemiştir. Bu da ilgili ekstraktların en küçük dozunda ($75 \mu\text{g}$) aktivitenin doyuma eriştiği ve ekstrakt miktarı artışıyla değişmediği anlamına gelebilir. Bu ayrıca ekstraktın DPPH radikalini güçlü giderim aktivitesine sahip olduğuna da işaret eder. Nitekim ekstraktların trolox standartına göre aktiviteleri incelendiğinde SE ekstraktının hemen hemen trolox kadar güçlü bir giderime sahip olduğu ve bunu en düşük dozunda bile sağlayabildiği görülmektedir. Diğer ekstraktlar ise troloxla göre daha düşük bir aktivite sergilemişlerdir (Şekil 12). Bu veriler genel olarak değerlendirildiğinde, *D. innoxia* tohumlarında DPPH radikalini giderici olarak polarite çeşitliliği çok farklı olan antioksidan metabolitler olduğu ileri sürülebilir. Bu metabolitlerin muhtemelen fenolik grubunda olduğu düşünülmektedir. Çünkü Şekil 3 ve Şekil 4 incelendiğinde fenolik ve flavonoid bileşiklerin hem hekzan gibi apolar çözücülerde hem de su gibi yüksek polariteye sahip çözücüde geldiği görülebilir. Bir çalışmada, *Datura metel* ve *D. innoxia* bitkilerinin yaprak ve tohum metanolik ekstraktlarının DPPH aktivitesi karşılaştırıldığında, tohumların DPPH radikali giderme aktivitesinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca *D. innoxia*'nın *D. metel*'e göre DPPH radikali giderme aktivitesi daha yüksek olmuştur (Kumar *et al.* 2014). *Datura stramonium* bitkisi ile yapılan bir çalışmada %80 metanol ile yapılan ekstraksiyonda DPPH radikali giderme aktivitesinin yüksek olduğu belirlenmiş ve bitki ekstrakt konsantrasyonu artışına paralel olarak DPPH radikal giderim aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Cherie and Amare 2020). Her ne kadar bu çalışmada, bizim çalışmamızdaki gibi, polariteleri farklı çözücüler kullanılmamış olsa da bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Çünkü çalışmada kullanılan %80 metanol hem su hem de metanol gibi polaritesi yüksek bir çözücü karışımıdır.

Süperoksit anyonu radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$) kloroplast ve mitokondriyal ETS sisteminde veya oksijenin kullandığı ya da üretildiği başka hücresel mekanizmalarda rol alan moleküler oksijenin (O_2), 1 elektron alarak indirgenmesi ile oluşan çok kararsız bir radikaldir. Süperoksit anyonu radikalinin (SAR) hücrelere doğrudan zarar vermesi düşüktür, ancak hücrelerde hidrojen peroksitin (H_2O_2) ve diğer radikallerin önemli bir kaynağı olup hücresel membranlarda lipid peroksidasyonunu başlatır ve metal iyonlarını indirgemesine yol açar. Sonuçta bu radikalin artışı önemli doku hasarlarına neden olur (Lee *et al.* 2004 ve 2015; Halliwell and Gutteridge 2015). İlave olarak SAR katalaz (CAT) ve peroksidaz (POX) enzimlerini inhibe

edebilir, oksihemoglobini met-hemoglobine oksitleyebilir ve eritrositlerin membranlarını parçalayabilir (Han 2012). Bugün bu radikal ve ondan türeyen diğer radikal türlerinin hücresele seviyelerindeki artışlar; hücre ve doku hasarına, kontrolsüz hücresele bölünmelerine yol açarak karsinogenez, kronik kalp hastalığı ve ilerleyen yaşlarda farklı sağlık sorunlarının patojenezi ile ilişkilendirilmektedir (Stohs and Bagchi 1995, Cadenas and Davies 2000, Marnett 2000). Bu sebeplerden dolayı hücresele ortamlardaki SAR'ın çabuk giderilmesi büyük önem arz eder. Antioksidan bileşikler de tam olarak bu görevleri üstlenirler. Çalışmamızda, *Datura innoxia* bitki tohumlarının farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarında, SAR uzaklaştırma aktivitesinin en yüksek değeri, SE ekstraktında belirlenmiştir (Şekil 15). Ayrıca, SE ekstraktında SAR temizleme aktivitesi artan ekstrakt konsantrasyonu ile doğru orantılı artmıştır. HE ekstraktında SAR aktivitesi artan HE dozlarına bağlı olarak artsa da SE ekstraktından düşük olmuştur. Çalışmada EAE ekstraktlarında anlamlı aktivite belirlenememiştir. Ancak ME ve BE ekstraktların özellikle 250 µg ekstrakt dozlarında aktivite anlamlı ($P<0.05$) seviyede bulunmuştur. Ekstraktlarda belirlenen SAR giderimi trolox eşdeğeri ile kıyaslandığında, SE ekstraktı hemen hemen trolox yakın bir SAR giderimi sağlamıştır. ME ve HE ekstraktları SAR giderme aktiviteleri ise trolox ve SE'ye göre önemli seviyede ($P<0.05$) düşük olmuştur (Şekil 14). Bu veriler genel olarak değerlendirildiğinde, *D. innoxia* tohumlarında süperoksit radikalini gidermede rol alan daha çok güçlü polar özellikte antioksidan metabolitler olduğu ileri sürülebilir. Çoğu fenolik bileşiklerin polar özellikte olması (Han 2012) ve *D. innoxia* tohumlarında fenolik bileşenlerin de yüksek olması nedeniyle, bu metabolitlerin muhtemelen fenolik grubunda olduğu düşünülmektedir. *Annona squamosa* bitki tohumlarının çeşitli ekstraktlarının süperoksit radikalini uzaklaştırma aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada kloroform, etil asetat ve metanol çözücülerıyla elde edilen ekstraktlar içinde süperoksit radikalini uzaklaştırma aktivitesi en yüksek metanol ekstraktında belirlenmiştir (Akhil *et al.* 2017).

Ekstraktlarımızın indirgeme gücü potansiyelini değerlendirmek için kullandığımız diğer bir yöntem FRAP metodudur. Bu yöntem de ekstraktlar içinde bulunan antioksidan bileşiklerin elektron vererek antioksidatif aktivite verdikleri bir metottur. Metotta özetle Fe^{3+} -TPTZ kompleksi Fe^{2+} -TPTZ kompleksine indirgenir. Oluşan bu demir-TPTZ kompleksi oksidan olarak kullanılır (Han 2012; Gülçin *et al.* 2006a). Çalışmamızda, *D. innoxia* bitki tohumlarının farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının FRAP metoduna göre ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kapasitesinin en yüksek değeri, sırasıyla ME, SE ve BE ekstraktında belirlenmiştir (Şekil 17). Ayrıca, bu üç ekstraktın üçünde de ferrik iyonlarını indirgeme aktivitesi artan ekstrakt konsantrasyonu ile doğru orantılı olmuştur. HE ve EAE ekstraktlarında ise indirgeme aktivitesi çok düşük olmuştur. Çalışmada aynı ekstraktların trolox

eşdeğerine göre indirgeme güçleri değerlendirildiğinde ME, SE ve BE ekstraktlarının indirgeme gücü roloxdan yüksek olmuştur (Şekil 16). Bu verilere göre *D. innoxia* tohumlarında Fe^{3+} ü indirgeyen çok güçlü antioksidanların olduğu ve bu antioksidanların çözünürlüklerinin daha çok metanol ve suyun polaritesine yakın olduğu ileri sürülmüştür. *Dipsacus laciniatus* ve *Datura innoxia* bitkilerinin metanol özleri elde edilerek yapılan FRAP tayininde *D. innoxia* bitkisinin toprak üstü kısımlarının *Dipsacus laciniatus* bitkisine oranla daha yüksek Fe^{3+} ü indirgeme aktivitesi sergilemiştir (Sarikurkcu *et al.* 2019). Diğer bir çalışmada ise *Annona squamosa* tohumlarının kloroform, etil asetat ve metanol çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktlar FRAP ile çalışıldığında, ekstraktlar arasında Fe^{3+} ü indirgeme aktivitesi bakımında çok güçlü bir fark belirlenememiştir (Akhil *et al.* 2017). Bu veri bizim bulgularımızla karşılaştırıldığında, Fe^{3+} ü indirgeme aktivitesi olan antioksidanların polariteleri bitkiden bitkiye göre değişebileceği sonucu çıkarılmıştır.

Çalışmada ekstraktların total antioksidan aktiviteleri Ferrik Tiyosiyanat Yöntemine (FTC) göre belirlendi. Bu yöntem, linoleik asitin otooksidasyonu sonucu oluşan peroksidin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Absorbans yüksekliği, reaksiyon esnasında peroksidasyon ile oluşan toplam peroksit miktarının fazla olduğuna işaret eder. Daha sonra ortamdaki peroksit, Fe^{2+} ’yi Fe^{3+} ’e oksitler. Sonuçta oluşan Fe^{3+} amonyum tiyosiyanat (NH_4SCN) ile bir kompleks oluşturarak spektrofotometrede ölçülebilir bir renk oluşturur. Çalışmamızda ekstraktların farklı dozlarını (75, 125 ve 25 μg) içeren örneklerde, %TAC verilerinin hesaplanması için 60. saatteki aktivite değerleri kullanılmıştır (Şekil 23). İlgili şekil incelendiğinde hem ekstraktlar arasında hem de ekstraktların dozları arasında çok anlamlı bir fark belirlenememiştir. Diğer taraftan her bir ekstraktın 3 dozuna ait TAC kapasitesi, 120 saat boyunca her 12 saatte bir trolox ve ASA (askorbik asit) standartlarına kıyasla belirlendi (Şekil 18-22). İlgili şekiller incelendiğinde trolox ve ASA standart antioksidanlara en yakın aktivite SE ve BE ekstraktlarında belirlenmiştir. Diğer ekstraktların da her iki standart antioksidana yakın TAC kapasitesi belirlenmiştir. Ekstraktların dozları arasında ise çok anlamlı ($P>0.05$) bir fark belirlenememiştir. Bu veriler genel olarak değerlendirildiğinde hem %TAC hem de standartlara göre (trolox ve ASA) TAC kapasiteleri bakımından tüm ekstraktlar güçlü bir antioksidan kapasitesi sergilemişlerdir. Yapılan literatür incelemelerine göre *Datura* türlerinde TAC kapasitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, *D. innoxia*’nın yaprak ve tohum metanolik ekstraktlarının TAC kapasitesi *D. metel*’den daha yüksek olmuştur (Bhardwaj *et al.* 2016). Diğer bir çalışmada ise *Datura stramonium*’un farklı kısımlarının antioksidan potansiyelini değerlendirmek için yapılmıştır. Bitkinin farklı kısımlarının metanol ekstraktları çalışılmıştır. Çalışmada en yüksek TAC kapasitesi bitki çiçek ve tohumlarından elde edilmiştir (Sana *et al.*

2014). Bununla birlikte bitki türleri arasında TAC değeri bakımından büyük farklılıklar bulunmaktadır (Chun *et al.* 2003; Vance *et al.* 2015).

Yapılan bu çalışmada *Datura innoxia* tohumlarından Hekzan, Etil asetat, Metanol, *n*-Bütanol ve Su çözücülerini kullanarak elde edilen ekstraktların antioksidan özellikleri; ABTS^{•+} radikali giderme, DPPH radikali giderme, süperoksit (O₂^{•-}) radikali giderme, demir (III) indirgeme (FRAP) ve total antioksidan kapasitesi (TAC) aktivitesi yönünden değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, *Datura innoxia* tohumlarından elde edilen ekstraktlardan özellikle metanol, bütanolik ve Su ekstraktlarının çalışılan hemen her parametrede güçlü antioksidatif etkilere sahip olduğu ortaya konmuştur. Bu nedenle, çalışmanın bu aşamasından sonra bu 3 ekstrakt insülin ile karşılaştırılmalı bir şekilde streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda Tip-I diyabet üzerindeki anti-hiperglisemik etkileri değerlendirilmiştir.

Deneysel Tip- I diyabet modeli oluşturulmadan önce çalışmaya dahil edilecek tüm deney hayvanlarının kuyruk venlerinden kan plazma glukoz düzeyleri Accu-Check nano cihazı ile ölçüldü ve 200 mg / dL kan plazma glukoz düzeyinin altındaki deney hayvanları deneye dahil edildi. 200 mg / dL kan plazma glukoz düzeyinin üstündeki deney hayvanlarının yerine yenileri eklenerek istatistiksel anlam değişmeyecek şekilde gruplara eşit olarak eklenmiştir. STZ ile deneysel Tip- I diyabet modeli indüklendikten 3 gün sonra deney hayvanlarının kuyruk venlerinden kan plazma glukoz seviyeleri ölçüldü ve 200 mg/dL altında kalanlar deneyden hariç tutuldu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm Tip- I diyabet oluşturulmuş gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur (P<0,05). Bu istatistik sonuçlarına göre kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunması deneysel Tip- I diyabet modelimizin tam anlamıyla oluşturulduğunu göstermektedir.

50 mg/mL *D. innoxia* ile muamele edilmiş gruplar diyabet kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü. 50 µg/mL *D.innoxia*'nın metanol ve butanol ekstraktları insülin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Saf su, diyabet kontrol ve kontrol grupları insülin grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

100 mg/mL *D. innoxia* ile muamele edilmiş gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü. 100 mg/mL *D. innoxia* 'nın safsu, metanol ve butanol ekstraktları insülin ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Diyabet kontrol grubu ile insülin karşılaştırıldığında p=0,177 bulunmuştur.

200 mg/mL *D. innoxia* ile muamele edilmiş gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü. 200 mg/mL *D. innoxia* 'nın saf su, metanol ve

butanol ekstraktları insülin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Kontrol grubu ile diyabet, safsu, metanol ve butanol ekstraktları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulundu metanol grubu, diyabet kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p=0,171$ bulundu.

400 mg/mL *D. innoxia* ile muamele edilmiş gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü. İnsülin grubu diyabet kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p=0,566$ bulundu. metanol ve butanol grubu diyabet kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her ikisi içinde $p=0,251$ bulundu, safsu grubu diyabet kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p=0,587$ olarak bulundu.

800 mg/mL *D.innoxia* ile muamele edilmiş gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü. Diyabet kontrol gurubuyla metanol, butanol ve saf su grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmadı. İnsülin grubuyla diyabet kontrol grubu karşılaştırıldığında $p=0,608$ olarak bulundu.

1 200 mg/mL *D.innoxia* ile muamele edilmiş gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü. Metanol grubu diyabet kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p=0,345$ olarak bulundu, insülin grubu diyabet kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p=0,180$ butanol ve saf su grubu ise $p=0,180$ olarak bulundu.

Elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, STZ ile deneysel Tip-I diyabet modeli oluşturulduktan sonra deney hayvanlarının kuyruk venlerinden alınan kan sonuçlarına göre 50 µg/mL *D. innoxia* tohum ekstraktlarının insülin gurubu ile karşılaştırıldığında 100, 200, 400, 800 ve 1 200 mg/mL *D. innoxia* tohum ekstraktlarında göre daha anlamlı bulunmuştur. Normal şartlarda doz arttırıldıkça ya ilacın etkisinin artmasını ya da ilacın güven aralığının azalması sebebiyle yan etkilerinin çıkabileceğini veya toksik etkilere yol açması beklenir. Bu deneyde muhtemelen *D. innoxia* tohum ekstraktlarının biyo-bozulması gerçekleşmiş olup kan plazma glukoz seviyelerini yeteri derece etkileyememiştir.

Bu sonuçlardan yola çıkarak ileride yapılacak olan çalışmalarla tohum ekstraktlarının HPLC veya benzer yöntemlerle saflaştırma işlemlerini gerçekleştirerek, *D. innoxia*'nın anti-hiperglisemik etkisinin hangi molekül ile olduğu tespit edilecektir. Yapılacak bu çalışmaların ileride diyabet hastalarına kan plazma glukoz düzeylerini düzenlemede yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akçay G, Akçay MN, Akarsu E, 2000. Endokrin ve metabolizma hastalıkları. 1.Baskı, Erzurum, Aktif Yayıncılık, s. 191-235.
- Akın, T. ve Ceylan, A., 1986. Bornova ekolojik koşullarında azotlu gübrenin datura türlerinde, büyüme, gelişme ve ontogenetik varyabiliteye etkileri üzerine araştırma. Ege Üniv. Zir. Fak. Der. 23(3), 71-77.
- Al-Attar, A. M. and T. A. Zari (2010). "Influences of crude extract of tea leaves, *Camellia sinensis*, on streptozotocin diabetic male albino mice." Saudi Journal of Biological Sciences 17(4): 295-301
- Albano, S.A., Lima, M., Miguel, L., Pedro, J., Barroso, J. and Figueiredo, A., (2012). Antioxidant, anti-5-lipoxygenase and antiacetylcholinesterase activities of essential oils and decoction waters of some aromatic plants. Records of Natural Products, 6, 35-48.
- American Diabetes Association, 2012. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 35, 64-S71.
- American Diabetes Association, 2014. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 37 Suppl. 1, 67-S74.
- Anonymous, 1997. Drog, İ. Ü. Eczacılık Fak. Bil. ve Edebiyat Kulübü Yayınları Yıl: 1 Sayı: 1.
- Babalola, S.A. Suleiman, M.M., Hassan, A.Z., Adawa, D.A.Y., 2015. Evaluation of *Datura metel* l seed extract as a sedative/hypnotic: a Preliminary study. J. Vet. Adv., 5 (4), 857-862.
- Banting FG, Best CH, Macleod JJR. The internal secretion of the pancreas. Am J Physiol. 1922;59:479.
- Baz, H., Gulaboglu, M., Gozcu, L., Demir, G.,M., Canayakin, D., Süleyman, H., Halıcı, Z., Kılıç, N., Baygutalp, N. 2016. Effects of aqueous extract of *Myrtus communis* L. leaves on streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Research in Medical and Dental Science, 4, 14-19.
- Beers MH, Berkow R, 2002. The Merck Manual Of Diagnosis and Therapy. 17.Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, s. 165-85, 344-5, 2041-5.
- Benabderrahim, M.A., Sarikurkcü, C., Elfalleh, W. and Özer, M.S., 2019. *Datura innoxia* and *Dipsacus laciniatus*: Biological activity and phenolic composition. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 19, 101163.
- Benter I, F, Yousif M, H, M, Hollins A, J, Griffiths S, M, Akhtar S: Diabetes-Induced Renal Vascular Dysfunction Is Normalized by Inhibition of Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase. J Vasc Res 2005;42:284-291.
- Bhardwaj, K., Kumar, S., and Ojha, S., 2016. Antioxidant activity and FT-IR analysis of *Datura innoxia* and *Datura metel* leaf and seed methanolic extracts. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 13(5), 7-16.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 26, 1199-1200.
- Bye, R. and Sosa, V. 2013. Molecular Phylogeny of the jimsonweed genus *datura* (Solanaceae). Systematic Botany, 38 (3), 818-829.
- Cadenas, E. and Davies, K.J., 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radic. Biol. Med., 29 (3-4), 222-230.
- Ceylan, Ebubekir & Özbek, Hanefi & Ağaoğlu, Zahid. (2003). Investigation of The Level of The Median Lethal Dose (LD 50) and The Hypoglycemic Effect of *Cuminum cyminum* L. Fruit Essential Oil Extract in Healthy and Diabetic Mice. Van Tıp Derg (Van Medical Journal). 10. 29*35.

- Cherie, M.B. and Amare, G.G., 2020. Evaluation of antidiabetic and antioxidant potential of hydromethanolic seed extract of *Datura stramonium* Linn (Solanaceae). J. Exp. Pharmacol., 12, 181-189.
- Chopra, R.N., Nayar, S.L., Chopra, I.C., 1986. Glossary of Indian medicinal plants (including the supplement), Council Sci. Ind. Res., New Delhi, India.
- De Fronzo RA, 1999. Pharmacologic Therapy for type 2 diabetes mellitus. Ann Intern Med, 131, 281- 303.
- Dejckhamron P, Menon RK, Sperling MA, 2007. Childhood diabetes mellitus: recent advances & future prospects. Indian J Med Res, 125, 231-50.
- Demir, G.M., Gulaboglu, M., Aggul, A.G., Baygutalp, N.K., Canayakin, D., Halici, Z., Suleyman, H., 2016. Antioxidant and antidiabetic activity of aqueous extract of *Myrtus communis* L. berries on Streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS), 11, 11-16.
- Deutshl  ndera, M.S., Van de Venterb, M., Rouxb, S., Louwc, J., Lall, N., 2009. Hypoglycaemic activity of four plant extracts traditionally used in South Africa for diabetes. Journal of Ethnopharmacology, 124, 619–624.
- Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, American Diabetes Association 2010. Diabetes Care, 33; 62.
- Dikilidal, M., 2013. STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda kekik (*Thymus vulgaris* L.) ve karabaş kekiğinin (*Thymbra spicata* L.) kan glikoz düzeyine, kilo değişikliğine ve öğrenmeye etkisi. Yükseklisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Diyabet nedir? <https://www.medicalpark.com.tr/seker-hastaligi-diyabet-nedir/hg-1703>
- Diyabet türleri nelerdir? <http://www.diyabet.com/diyabet/diyabet-hakkinda/diyabet-turleri/tip-I-diyabetin-belirtileri-nelerdir>
- Doğan, A., 2005. Deneyssel diyabet oluşturulan sıçanlarda bazı bitki ekstraktlarının iyileştirici etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- El Bazaoui, A., Bellimam, M.A., Soulaymani, A., 2012. Tropane alkaloids of *Datura innoxia* from Morocco. Zeitschrift für Naturforschung C, 67 (1-2), 8-14.
- Emboden, T., 1972. Narcotic Plants. London, UK, Studio Vista.
- Fatima, H., Ahmed, M., Baig, M.W., Tahir, M.N., Kondratyuk, T.P., Pezzuto, J.M., 2020. Cancer chemopreventive and cytotoxic activities of isowithametelin from *Datura innoxia*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 30 (5), 723-728.
- Fatima, H., Khan, K., Zia, M., Ur-Rehman, T., Mirza, B. and Haq, I., 2015. Extraction optimization of medicinally important metabolites from *Datura innoxia* Mill.: An in vitro biological and phytochemical investigation. BMC Complementary and Alternative Medicine, 15, 376-381.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M.S., 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik   nemi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11, (1), 52-67.
- Geleneksel tıp alanları nelerdir? <http://www.turkailehekderg.org/wp-content/uploads/2017/12/TAHUD-16-Geleneksel-tamamlayici-alternatif-tip.pdf>
- Ghalioungui P. The Ebers papyrus: A new English translation, commentaries and glossaries. Cairo: Academy of Scientific Research and Technology; 1987.
- Gidado, A., Zainab, A.A., Hadiza, M.U., Serah, D.P., Anas, H.Y., Milala, M.A., 2007. Toxicity studies of ethanol extract of the leaves of *Datura stramonium* in rats. African journal of biotechnology, 6(8).
- Gonzales, Gustavo F. Gonzales-Castañeda, Cynthia Gasco, Manuel 2013. A mixture of extracts from Peruvian plants (black maca and yacon) improves sperm count and reduced glycemia in mice with streptozotocin-induced diabetes, Toxicology Mechanisms and Methods, Taylor & Francis; 23, 7, 509-518.
- Guillen C, Navarro P, Robledo M, at al., 2006. Differential mitogenic signaling in insulin receptordeficient fetal pancreatic   -Cells. Endocrinology, 147(4), 1959-6.

- Gupta, R., et al. (2012). "Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes." *Journal of Diabetes* 4(2): 164-171.
- Gülçin, I., Kirecci, E., Akkemik, E., Topal, F., and Hisar, O., 2010. Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turk. J. Biol.* 34, 175-188.
- Gülçin, İ., 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217, 213-220.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L., 2006a. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research and Technology*, 223, 759-767.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., 2006b. Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β -D-glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research*, 20, 130–134.
- Gündoğdu, G., Gündoğdu, K., Nalcı, K.A., Demirci, T., Uğur Kaplan, A.B., Demirkaya Miloğlu, F., Hacımüftüoğlu, A., Çetin, M., 2019. Histopathological evaluation of boronphenyl alanine and zinc containing nanoemulsion formulations on wound healing in streptozocin induced diabetic rats. *Acta Physiologica*, 227 (722), 113.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., 2015. *Free radicals in biology and medicine*, Oxford University Press, USA.
- Han, H., 2012. Altın çilek (*Physalis peruviana*) ve keten (*Linum usitatissimum*) tohumunun antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve fenolik içeriklerinin aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Hassan, S.K., El-Sammad, N.M., Mousa, A.M., Mohammed, M.H., Hashim, A.N.E., Werner, V., Nawwar, M. A.E.M., 2015. Hypoglycemic and antioxidant activities of *Caesalpinia ferrea* Martius leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5 (6), 462-471.
- <https://www.turkcerrahi.com/makaleler/pankreas/pankreas-fizyolojisi-histolojisi/#:~:text=Pankreas%20hem%20ekzokrin%20hem%20de,pankreas%20dokusu%2C%20pankreas%20yetmezli%C4%9Fini%20engeller.>
- Hubbard, S.R., Miller, W.T., 2007. Receptor tyrosine kinases: mechanisms of activation and signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 19, 117-123.
- Jain, S., G. Bhatia, R. Barik, P. Kumar, A. Jain and V. K. Dixit (2010). "Antidiabetic activity of *Paspalum scrobiculatum* Linn. in alloxan induced diabetic rats." *J Ethnopharmacol* 127(2): 325-328.
- Johansen, J.S., Harris, A.K., Rychly, D.J., Ergul, A., 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice, *Cardiovascular Diabetology*, 4(1), 1-11.
- Kähkönen, M. P., A. I. Hopia, H. J. Vuorela, J. P. Rauha, K. Pihlaja, T. S. Kujala and M. Heinonen (1999). "Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds." *J Agric Food Chem* 47(10): 3954-3962
- Kang, M. H., et al. (2012). "Hypoglycemic activity of *Gymnema sylvestre* extracts on oxidative stress and antioxidant status in diabetic rats." *J Agric Food Chem* 60(10): 2517-2524.
- Karamanou, M., Protogerou, A., Tsoucalas, G., Androutsos, G., and Poulakou-Rebelakou, E., 2016. Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World Journal of Diabetes*. 7 (1), 1-7.
- Kariñho- Betancourt, E., Agrawal, A.A., Halitschke, R., Núñez- Farfán, J., 2015. Phylogenetic correlations among chemical and physical plant defenses change with ontogeny. *New Phytologist*, 206 (2), 796-806.
- Karpe F, Dickmann JR, Frayn KN, 2011. Fatty acids, obesity, and insulin resistance: time for a reevaluation. *Diabetes*, 60, 2241-9.
- Kayaalp OS, 2000. Rasyonel ve Tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 9.Baskı, Ankara, Feryal Matbaacılık, 2.Cilt, s. 1253-90.

- Kelley DE, Goodpaster BH, 2001. Effects of exercise on glucose homeostasis in type 2 diabetes mellitus. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 495-501.
- Khan, W., Subhan, S., Shams, D.F., Afridi, S.G., Ullah, R., Shahat, A.A., Alqahtani, A.S., 2019. Antioxidant potential, phytochemicals composition, and metal contents of *Datura alba*. *Biomed Res. Int.*, 2403718.
- Khashimova, Z.S., Kuznetsova, N.N., Levitskaya, S.V., 2000. Lectin from *Datura innoxia* seeds: Isolation and activity in tissue culture. *Chemistry of Natural Compounds*, 36 (3), 318-320.
- Khoshkhoo, B., Mohammadi Motamed, S., Hamzeloo-Moghadam, M., 2017. *Datura innoxia* Anti-angiogenesis Properties. *Research Journal of Pharmacognosy*, 4 (2), 39-44.
- Kırıcı, S. ve M. Özgüven, 1993. Farklı Ekolojilerde *Atropa belladonna*'da drog verimleri ve total alkaloid içerikleri. *Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*. 8 (2) 31-46.
- Kim, D.-O., Chun, O.K. Kim, Y.J. Moon, H.-Y. and Lee, C.Y., 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (22), 6509-6515.
- King, A.J., 2012. The use of animal models in diabetes research. *Br. J. Pharmacol.*, 166 (3), 877-894.
- Kumar, S., Sandhir, R. and Ojha, S., 2014. Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves. *BMC Res. Notes*, 7(1), 1-9.
- Lee, J., Koo, N. and Min, D.B., 2004. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science And Food Safety*, 3, 21-33.
- Lee, S.G., Vance, T.M., Nam, T.G. Kim, D.O. Koo, S.I. and Chun, O. K., 2015. Contribution of anthocyanin composition to total antioxidant capacity of berries. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 70(4), 427-432.
- Liu M, Liberzon A, Kong SE, et al., 2007. Network-Based analysis of affected biological processes in type 2 diabetes models. Published June, 15, 958-72.
- Mahler RJ, Adler ML, 1999. Type 2 diabetes mellitus: update on diagnosis, pathophysiology, and treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(4), 1165-71.
- Marnett, L.J., 2000. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21 (3), 361-370.
- Mitrakou A, Kelley M, Mookan M, et al., 1992. Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *N Engl J med*, 326, 22-9.
- Mitsuda, H., Yasumoto, K., Iwami, K., 1966. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuryo*, 19, 210-214.
- Murthy, B.K., Nammi, S., Kota, M.K., Rao, R.K., Rao, N.K., Annapurna, A., 2004. Evaluation of hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Datura metel* (Linn.) seeds in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 91(1), 95-98.
- Müderrişoğlu, A. ve N. Kuyumcu, 1984. Türkiye'de datura türlerinin kültür çal ışmaları nda karşı laşı lan güçlükler. 5. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplant ı s ı . Bildiri Kitab ı , 15-17 Kas ı m 1984, 100-102.
- Onat T, Emerk K, Sözman EY, 2006. İnsan biyokimyası. 12.Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, s. 280- 6, 526-31, 749-57.
- Ozkol, H., Y. Tuluçe, N. Dilsiz and I. Koyuncu (2013). "Therapeutic potential of some plant extracts used in Turkish traditional medicine on streptozocin-induced type 1 diabetes mellitus in rats." *J Membr Biol* **246**(1): 47-55.
- Öbek, E., 1990. İç hastalıkları. 4. Baskı, Bursa, Güneş Kitabevi, s. 59-63.
- Öntürk, H. ve Özbek, H., 2007. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Derg.*, 17(4), 231-236.
- Östenson CG, 2001. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. *Acta Physiol Scand*, 171, 241-7.

- Pacini, G., Ahrén, B., 2017. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulintropic peptide: Effects alone and in combination on insulin secretion and glucose disappearance in mice. *Physiol. Rep.*, 5 (11), e13280.
- Pandey, J., R. Maurya, R. Raykhera, M. N. Srivastava, P. P. Yadav and A. K. Tamrakar (2014). "Murraya koenigii (L.) Spreng. ameliorates insulin resistance in dexamethasone-treated mice by enhancing peripheral insulin sensitivity." *J Sci Food Agric* **94**(11): 2282-2288.
- Pari, L., and Latha, M., 2004. Effect of *Scoparia dulcis* (sweet broomweed) plant extract on plasma antioxidants in streptozotocin-induced experimental diabetes in male albino wistar rats. *Pharmazie*, 59, 557–560.
- Petersmann, A., Nauck, M., Müller-Wieland, D., Kerner, W., Müller, U.A., Landgraf, R., Heinemann, L., 2019. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 126 (07), 406-410.
- Polonsky KS, 1995. The β -Cell in diabetes: From molecular genetics to clinical research. *Diabetes*, 44, 705-17.
- Porte D, 1991. β -Cells in type II diabetes mellitus. *Diabetes*, 40, 166-80.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology And Medicine*, 26, 1231-1237.
- Reece EA, Leguizamon G, Wiznitzer A, 2009. Gestational diabetes: the need for a common ground. *Lancet*, 373, 1789–97.
- Rodriguez BL, Abbott RD, Fujimoto W, et al., 2002. The american diabetes association and world health organization classifications for diabetes. *Diabetes Care*, 25, 951-5.
- Sağlam, Ö., 2008. STZ-Na ile diyabet oluşturulan ratlarda cinnamon ve şeker çayı (bitki karışımı) ekstraktlarının diyabet üzerine etkileri. Yüksek lisans tezi, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
- Salehi, B., A. Ata, V. A. K. N, F. Sharopov, K. Ramirez-Alarcon, A. Ruiz-Ortega, S. Abdulmajid Ayatollahi, P. V. Tsouh Fokou, F. Kobarfard, Z. Amiruddin Zakaria, M. Iriti, Y. Taheri, M. Martorell, A. Sureda, W. N. Setzer, A. Durazzo, M. Lucarini, A. Santini, R. Capasso, E. A. Ostrander, R. Atta ur, M. I. Choudhary, W. C. Cho and J. Sharifi-Rad (2019). "Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components." *Biomolecules* **9**(10).
- Sana, F., Nazish, J., Nosheen, S., Saba, A., 2014. Comparative antioxidant potential and total polyphenolic contents of different parts of *Datura stramonium*. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 51 (3), 719-724.
- Sani, M.F., Kouhsari S.M., Moradabadi, M., 2012. Effects of three medicinal plants extracts in experimental diabetes: antioxidant enzymes activities and plasma lipids profiles in comparison with metformin. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11, 897-903.
- Sani, M.F., Kouhsari, S.M., and Moradabadi, L., 2012. Effects of three medicinal plants extracts in experimental diabetes: Antioxidant enzymes activities and plasma lipids profiles in comparison with metformin. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research, IJPR*, 11(3), 897-903.
- Satyajit, D.S., Zahid L., Alexander I.G., 2006. Natural products isolation 2nd ed./edited by Satyajit D. Sarker, Zahid Latif, Alexander I. Gray. *Methods in Biotechnology*, 20, Humana Press Inc.
- Sharififar, F., G. Dehghn-Nudeh and M. Mirtajaldini (2009). "Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L." *Food chemistry* **112**(4): 885-888.
- Stohs, S.J. and Bagchi, D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol. Med.*, 18 (2), 321-336.
- Şerbetçi, H., 2007. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Tip 1 Diyabet nedir? <http://www.metabolikcerahih.com/tip1-diyabet-nedir>

- Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KGMM, 2002. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention. *Diabetic Medicine*, 19, 708–23.
- Vasconcelos, C. F., et al. (2011). "Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats." *Journal of Ethnopharmacology* 137(3): 1533-1541.
- Vikas, B., B. S. Akhil, R. P and K. Sujathan (2017). "Free Radical Scavenging Properties of *Annona squamosa*." *Asian Pac J Cancer Prev* 18(10): 2725-2731.
- Villarruel-Lopez, A., et al. (2018). "Effect of *Moringa oleifera* consumption on diabetic rats." *BMC Complement Altern Med* 18(1): 127.
- Vujicic, M., Nikolic, I., Kontogianni, V., Saksida, T., Charisiadis, P., Orescanin-Dusic, Z., Stojanovic, I. (2015). *Origanum vulgare*'nin metanolik özütü, antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik aktivite yoluyla tip 1 diyabeti iyileştirir. *İngiliz Beslenme Dergisi*, 113 (5), 770-782. doi: 10.1017 / S0007114514004048
- Weiner, M.A., 1980. *Earth medicine-earth food: plant remedies, drugs, and natural foods of the North American Indians*. Macmillan.
- Wu, Y., Qu, W., Geng, D., Liang J.Y. and Luo Y.L., 2012. Phenols and flavonoids from the aerial part of *Euphorbia hirta*. *Chin J. Nat. Med.*, 10 (1), 40-42.
- Yeğin, S.C. ve Mert, N., 2013. Investigation on the Hba1c, MDA, GSH-Px and SOD levels in experimentally diabetic rats. *Yüzüncü yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24 (2), 51-54.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents on mulberry and their scavenging effects on superoxide radical. *Food Chemistry*, 64, 555–559.

EKLER

EK 1. HADYEK Kararı



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1800335816
Konu : HADYEK Kararı.

22.11.2018

FEN FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi: 21.11.2018 tarihli ve 55885869-500.03.04.01-E.1800333647 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 22.11.2018 tarih ve 12 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 218 no'lu kararı ile söz konusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Üniversitemiz Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!/birim=veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr



TOPLANTI TARİHİ : 22.11.2018

TOPLANTI SAYISI : 12

KARAR N0 218: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanlığı, Biyoloji Bölümü,

Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ökkeş ATICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan “Datura İnnoxia Mill. Ekstraktlarının Antidiyabetik Potansiyelinin Araştırılması” isimli yüksek lisans tez çalışması ile ilgili Fen Fakültesi Dekanlığının 21.11.2018 tarih ve 55885869-500.03.04.01-E.1800333647 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen yüksek lisans tez çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Elif GÜNEY
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	
Almanca:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	