T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

PROPOLİSİN ANTİPİRETİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Hazırlayan
Mehmet BAYSA

Danışman
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Yüksek Lisans Tezi

Mayıs 2018
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

PROPOLİSİN ANTİPİRETİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Mehmet BAYSA

Danışman
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

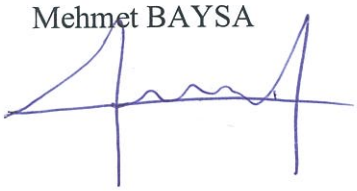
Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL 2016-6959 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Mayıs 2018
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Mehmet BAYSA



"Propolisin Antipiretik Etkisinin Belirlenmesi" adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan
Mehmet BAYSA

Danışman
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Tarımsal Biyoteknoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Mehmet ARSLAN

Prof. Dr. Sibel SİLİCİ danışmanlığında **Mehmet BAYSA** tarafından hazırlanan " **Propolisin antpiretik etkisinin belirlenmesi"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Tarımsal Biyoteknoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

25/05/2018

JÜRİ:

Danışman : Prof Dr. Sibel SİLİCİ .....

Üye : Dr. Öğr.Üyesi Osman İBİŞ .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gökhan FİLİK .....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 18/09/2018 tarih ve 2018/44-15 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

18 / 09 / 2018

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, üç yıl boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam; Prof. Dr. Sibel SİLİCİ'ye, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Duran ÖZKÖK'e, hayatımın her evresinde ve çalışmamda tüm zorlukları benimle göğüsleyen kıymetli arkadaşım Onur ÖZYURT'a, çalışmam süresince bana destek olan arkadaşım Seda ŞAHİN'e, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve birikimiyle yanımda olan değerli Uzm. Ecz. Mustafa TEKİN ve Ailesine, çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Mehmet BAYSA

Mayıs 2018, KAYSERİ

PROPOLİSİN ANTİPİRETİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Mehmet BAYSA

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Mayıs 2018
Danışman: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

ÖZET

Bu araştırma kavak tipi propolisin zeytinyağı özütünün antipiretik etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Propolisin zeytinyağı ekstraktının HPLC ile analizi sonucunda ana fenolik bileşiklerin Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE), Dimetoksinnamik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve vanilin olduğu belirlenmiştir. Propolisin (% 10, 20, 30 ve 40) konsantrasyonlarda soğuk preslenmiş sızma zeytinyağı ile ekstraksiyonu yapılmıştır. Bu ekstrakların toplam fenolik madde içeriği Folin Ciocalteu, antioksidan aktivitesi fosfomolibdenum testi, antiradikal aktivitesi ise DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Propolisin antipiretik etkisini belirlemek üzere 200-250 g ağırlığında 24 adet erkek Wistar albino rat kullanılmıştır. Kontrol grupları dışında deneme gruplarına 10 mg/kg vücut ağırlığı oranında % 15 maya (bira) solüsyonu subkutan enjekte edilmiştir. Maya enjeksiyonundan önce ve 24 saat sonra ratların rektal sıcaklığı 15, 30, 60, 90 150 ve 180. dakikalarda ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak ratlara 1 ml (100 mg/kg) aspirin verilmiştir. Propolisin zeytinyağı ekstraktının antioksidan, antiradikal ve antipretik etkiye sahip olduğu ve alkolik ekstraksiyonlara alternatif olabileceği belirlenmiştir. Sonuç olarak propolisin zeytinyağı ekstraktı, maya ile hipertermi oluşturulan ratlarda antipiretik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: propolis, zeytinyağı, antipiretik etki, antioksidan etki

DETERMINATION OF ANTIPYRETIC EFFECT OF PROPOLIS

Mehmet BAYSA

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Master Thesis, May 2018
Supervisor: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

ABSTRACT

This study was conducted to determine the total phenolic substance content and the antioxidant, antiradical and antipyretic effects of Olive Oil Extract of Poplar-Type Propolis (OOEP). Owing to the analysis of olive oil extract of propolis with HPLC, it was determined that the main phenolic compounds were Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), Dimethoxycinnamic acid, caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid and vanillin. The propolis was extracted with cold-pressed virgin olive oil at at concentrations 10, 20, 30 and 40% respectively. The total phenolic substance content of these extracts was determined by Folin Ciocalteu, the antioxidant activity by Phosphomolybdenum Test, and antiradical activity by DPPH Method. A total of 24 Wistar Albino male rats weighing 200-250 gr were used to determine the effects of antipyretic effects. Except for the control groups, the trial groups were injected subcutaneously with 15% yeast solution at a rate of 10 mg/kg body weight. Before the yeast injection and 24 hours after it, the rectal temperatures of the rats were measured at minutes 15, 30, 60, 90, 150 and 180. A total of 1 ml (100 mg/kg b.w.) aspirin was given to the rats as positive control. It was determined that the olive oil extract of propolis has antioxidant, antiradical and antipyretic effects; and may be an alternative to alcoholic extractions. As a result, it was determined that the olive oil extract of propolis showed antipyretic effects in rats in which hyperthermia was induced.

Keywords: propolis, olive oil, antipyretic activity, antioxidant activity

İÇİNDEKİLER

PROPOLİSİN ANTİPİRETİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ii
ÖNERGEYE UYGUNLUK iii
KABUL VE ONAY iv
ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
İÇİNDEKİLER viii
KISALTMALAR x
TABLOLAR LİSTESİ xi
ŞEKİLLER LİSTESİ xii
GİRİŞ 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Propolisin Biyolojik Özellikleri 6
1.2. Propolis ile İlgili Hayvan Deneyleri 7
1.3. Propolisin Zeytinyağı Ekstraktı 8
1.4. Propolisin Sağlıklı Kişilerde Etkisi 9
1.5. Propolisin Antipiretik Etkisi 9

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal 17
2.1.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar 17
2.1.2. Hayvan Materyali 17

2.1.3. Propolis 18

2.2. Yöntem 18

2.2.1. Propolisin HPLC Analizi 18

2.2.2. Propolisin Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi 18

2.2.3. Propolisin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi 19

2.2.4. DPPH'de Serbest Radikal Uzaklaştırma (*Scavenging*) Aktivitesi 19

2.2.5. Antipiretik Aktivite 19

2.3. İstatistik Metotları 20

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1 Araştırma Modeli 21

4. BÖLÜM

TARTIŞMA - SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1.Tartışma 25

4.2. Sonuç ve Öneri 30

KAYNAKÇA 31

EKLER 47

ÖZGEÇMİŞ 48

KISALTMALAR

CAPE : Caffeic Acid Phenethyl Ester (Kafeik Asit Fenetil Ester)

GAE : Gallik Asit Eşdeğeri

GC-MS : Gaz Kromatografi - Kütle Spektrometresi

HPLC : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

HPLC-DAD : Yüksek performanslı sıvı kromatigrafisi-Diode Array dedektör

HT : High Temperature (Yüksek Ateş)

IgG : Immunoglobulin G

IgM : Immunoglobulin M

LC-MS : Likid Kromatografi-Kite Spektorometrisi-

LD_{50} : Lethal doz (Öldürücü Doz)

MDA-MB-231: Meme Kanser Hücresi

OEEP : Propolisin zeytinyağı özütü

OH : Hidroksil grubu

OOEP : Propolisin zeytinyağı ekstraktı

STZ : Streptozotosin

TLC : İnce tabaka kromatografisi

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Propolisin HPLC ile Analizi ile elde edilen fenolik bileşikler 21

Tablo 3.2. Propolisin zeytinyağı ekstraktında toplam fenolik madde içeriği, antioksidan ve antiradikal aktiviteleri 22

Tablo 3.3. Deneme gruplarının 180 dakika boyunca ölçülen vücut sıcaklıkları..... 23

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Araştırmada kullanılan deney hayvanları (Wistar albino rat) 18

Şekil 3.1. Propolis zeytinyağı ekstraktının biyoaktif özellikleri 23

Şekil 4.1. Propolisin kimyasal bileşini olan CAPE'nin moleküler yapısı 26

Şekil 4.2. İşlem görmemiş propolis 27

GİRİŞ

Son yıllarda sentetik ilaçların ters etkilere sahip olması, bitkisel ve hayvansal doğal ürünlere olan ilgiyi artırmıştır. Propolis bitkilerin özellikle ağaçların tomurcuklarını korumak üzere ürettikleri reçinenin bal arısı tarafından toplanıp tükürük enzimleri ve doğal bal mumu kattıktan sonra kovanda da koruyucu amaçlı kullanılan doğal bir üründür. Propolisin antioksidan, antimikrobiyal, antikarsinojen gibi faydalı biyolojik aktiviteleri çok sayıda araştırma ile gösterilmiştir [1-3]. Yapılan araştırmaların çoğunda propolisin etanolik özütü kullanılmıştır. Propolisin alkol ve türevleri ile ekstraksiyonu basit ve efektif bir metot olarak görülse de keskin reçinemsi tadı, kozmetik ve farmasötik endüstride kullanımında sınırlamalar getirmektedir. Ayrıca oftalmoloji, kulak-burun-boğaz (*otorhinolaryngology*), pediatri, diyabet ve kanser hastaları ile alkol intoleransı olan kişilerde olduğu gibi tıbbi olarak kullanımı uygun görülmemektedir [4]. Propolisin su ekstraksiyonunda ise propolisin aktif bileşenlerinin suda çözünürlüğünün az olması sebebiyle fenolik bileşiklerin etanolik ekstraksiyona göre 10 kat düşük olduğu bildirilmektedir [5, 6]. Araştırıcılar etil alkol, propilen glikol ve gliserol dışında kimyasal olmayan doğal çözücüler kullanarak aktivitesi yüksek propolis özütü elde etme çalışmalarına yönelmişlerdir. Bu nedenle propolisin bitkisel yağlarla çözülmesi ve yağda çözünebilir fenolik bileşiklerin sağladığı biyolojik aktiviteler dikkat çekmektedir.

Propolisin sağlık üzerine olumlu etkileri konusunda araştırmalar artmakla birlikte piyasaya çıkan ve propolis içeren ürünlerin sayısı da artmaktadır. Bununla birlikte her ne kadar kavak ve Brezilya yeşil propolisinin kimyasal yapısı aydınlatılsa da biyolojik aktiviteleri için bir standart getirmek mümkün olmamıştır. Bu propolis tipleri ile ilgili her geçen gün yeni araştırmalar bilim dünyasında yerini bulmaktadır.

Propolisin ekstraksiyonunda alkolik (etanol, glikol, gliserol) çözücüler kullanılabildiği gibi non-alkolik (alkol içermeyen) çözücüler de kullanılabilmektedir. Dünyada sağlık koruma fikri geliştiğinden beri özellikle kimyasal ve katkı maddesi içermeyen doğal

ürünlere talep artmıştır. Alkolik çözücülerin özellikle pediatri (çocuk), diyabet ve kanser gibi hassas gruplarda kullanımının sakıncalı olması yeni çözücü arayışlarını da beraberinde getirmiştir [7]. Bu nedenle bu araştırmada zeytinyağı ile ekstrakte edilmiş propolisin ateş düşürücü etkisi araştırılmıştır.

Bu araştırmada propolisin zeytinyağı ekstraktının *in vitro* biyoaktif (antioksidan, antiradikal ve toplam fenolik madde içeriği) özellikleri ile ratlarda antipiretik etkisinin olup olmadığı belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bitkiler yaprak, çiçek, meyve ve tomurcuklarını mikroorganizmalara karşı koruyan, su geçirmez ve ısı yalıtan özellikte reçineli bir bileşik salgılayarak onları soğuktan ve mikroorganizma saldırısından korur. Bu reçineli madde bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından toplanarak bal mumu ve arı tükürüğüyle karıştırılıp kovana taşınır. Propolis, toplanan bitki reçinesinin arılar tarafından yapısının değiştirilmesi nedeniyle güçlü ve yapışkan bir özellik kazanmıştır. Propolis kelimesi Yunanca "şehrin korunması" anlamına gelmektedir [8]. Propolis bal arıları kolonisinin enfeksiyonlardan korunması, kovan duvarlarının ince bir tabaka halinde kaplanması ve petek gözlerinin sıvazlanarak hijyenik bir yaşama ortamı sağlanması, kovan içerisinde arılar tarafından öldürülen canlıların kokuşup enfeksiyon yaymasının önlenmesi ve soğuktan korunmak için kovan giriş deliğinin küçültülmesi gibi farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Propolisin çeşitli hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanımı çok eski yıllara dayanmaktadır. Mısırlılar ölülerini mumyalamak için, yunan ve romalı doktorlar yara temizleyici ve iyileştirici olarak propolisi kullanmışlardır. Inkalar propolisi antipiretik (ateş düşürücü) bir ilaç olarak önermişlerdir. Ayrıca 17. yüzyılda Londra farmakopesinde propolis resmi bir ilaç olarak listelenmiştir [9]. Propolisin kendi başına ya da başka doğal ürünlerle karışım halinde kozmetik ve sağlık ürünlerinde kullanımı günümüze kadar devam etmiştir. Araştırıcılar son yıllarda daha çok propolisin kimyasal bileşimi ve sağlık açısndan faydalı özellikleri ile ilgilenmişlerdir [10-13].

Propolisin rengi çok değişkendir, yeşilden kırmızı ve kahverengiye kadar değişir ve karakteristik keskin bir kokusu vardır. Ciltte oluşturduğu renklenme, yapışkan özelliği nedeniyle ciltteki yağ ve proteinlerle interaksiyona girmesi nedeniyledir. Soğukta özellikle $4^{o}C$ ve altında sert, sıcakta ise oldukça yapışkandır. Genel olarak doğal yapısında % 30-35 mum, % 50-55 reçine ve bitkisel balsam, % 10 esansiyel ve aromatik

yağlar, % 5 polen, ve diğer organik maddeler ve atıklar vardır [14]. Propoliste 300 den fazla bileşen tanımlanmıştır. Propolisin kimyasal kompozisyonu toplandığı bitki kaynağı, lokal flora ve coğrafik faktörlere göre değişiklik göstermektedir [10, 13]. Bununla birlikte karasal iklimlerde kavak propolisi, Brezilya'da yeşil ve kırmızı propolisler gibi bazı propolis tiplerinin kimyasal yapısı iyi aydınlatılmış ve standardizasyonu sağlanmaya çalışılmaktadır [6].

Propolisin kimyasal yapısının tespit edilebilmesi için önceleri TLC (Thin Layer Chromotography), daha sonraları HPLC-DAD, LC-MS, LC-MS/MS, GC-MS gibi çok sayıda kromatografik ekipman kullanılmış olmakla birlikte propolisin polar yapısı nedeniyle (molekül yapısında genelde OH^- grupları içerir) HPLC-DAD ve HPLC-MS'in iyi sonuç verdiği bildirilmektedir. Ancak araştırmaların çoğu kalitatif analizler GC-MS kantitatif analizler için HPLC ile yapmışlardır [6, 15-17].

Propolisin kimyasal yapısı, arı kovanlarının bulunduğu yerdeki bitki kaynağına göre değiştiğinden farklılık gösterir. Yapılan araştırmalarda özellikle karasal iklimin hakim olduğu bölgelerde *Populus* spp. (kavak), *Castanea sativa* (kestane), *Eucalyptus* spp. (ökaliptus), *Pinus* spp. (çam), *Abies* spp. (köknar), *Acer* spp. (Akçaağaç), *Alnus* spp. (kızılaağaç), *Betula* spp. (Huş), *Corylus* spp. (fındık), *Quercus* spp. (meşe), *Prunus* spp. (erik), *Salix* spp. (söğüt), propolisin toplandığı bitkisel kaynakları olarak gösterilmektedir [12]. Ülkemizin zengin fitocoğrafik yapısı ve bu bitkilerin doğal yayılış alanları vardır. Bu nedenle araştırıcılar Türkiye'de üretilen propolisin kimyasal yapısını aydınlatarak bitkisel kaynakları belirlemeye çalışmışlardır. Ankara (Kazan) ve Muğla (Marmaris) yörelerinden topladıkları propolis örneklerinin GC-MS ile kimyasal analizini yaparak propolis örneklerinde 24 farklı bileşik tespit etmişlerdir [18].

Analiz edilen örneklerde flavonoid aglikonlar tespit edilmezken, isopimarik asit, docosa-8,14 -diyn-cis- 1,22 diol, androstan-1,17 dimetil -17- hidroksi -3- on ve thunbergol Kazan'dan toplanan propolis örneğinde, kafeik asit izomerleri, izopimarik asit, abietik asit ve dehidroabietik asit ise Marmaris'ten toplanan propolis örneğinin aktif bileşenleri olarak belirlenmiştir. Kazan'dan toplanan propolis örneğinden elde edilen analiz sonuçlarına göre, propolisin botanik orijini tahmin edilemezken, Marmaris'ten toplanan propolis örneğinin botanik orijininin *Pinus brutia* L. (çam) tomurcuk salgıları olabileceği bildirilmiştir. Doğu Anadolu (Kemaliye-Erzincan)

yöresinden topladıkları 30 propolis örneğinde mikroskobik analizler yaparak 32 farklı bitki familyası tanımlamışlar, *Asteraceae, Lamiaceae, Fabaceae, Salicaceae* ve *Scrophulariaceae* familyalarına ait bitki polenlerinin örneklerde tanımlandığını vurgulamışlardır [19]. Bir başka araştırmada, Bursa, Erzurum (Aşkale), Gümüşhane (Söğütağıl) ve Trabzon (Çağlayan) yörelerinden elde ettikleri propolis örneklerinde kimyasal analiz yapılmıştır. Aynı coğrafik bölgede yer alan Trabzon ve Gümüşhane örneklerinin benzer kimyasal kompozisyona sahip olduğu ve temel bileşenlerin aromatik ve alifatik asitler ve esterleri ile ketonlar olduğu tespit edilmiştir. Erzurum propolisinin ise farklı bir kimyasal kompozisyona sahip olup aromatik asit esterleri ve alkollerin temel bileşenler olduğu ve diğer örneklerden daha fazla aminoasit içerdiği bildirilmiştir. Bursa örneğinde ise, flavanon, aromatik asit ve esterleri, terpenoidler, flavonlar ve ketonların temel bileşikler olduğu tespit edilmiştir [20].

Türkiye propolisinin kalitatif ve kantitatif kimyasal kompozisyonu ile antibakteriyel aktivitesini belirledikleri araştırmada, *Populus nigra* (kara kavak) ve *Populus euphratica'*nın önemli propolis kaynakları olabileceği ifade edilmiştir [6]. Farklı bal arısı ırklarının topladıkları propolislerin kimyasal yapısının karşılaştırıldığı bir araştırmada aynı bölgede üç farklı bal arısı ırkı tarafından toplanan propolisin kimyasal kompozisyonu ve antibakteriyel aktivitesini belirlemişlerdir. *A. mellifera caucasica* (Kafkas arısı) tarafından toplanan propolisin *A. m. anatolica* ve *A. m. carnica* tarafından toplanan propolise göre daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu rapor etmiştir [21].

Propolisin botanik orijinin belirlenmesi ile ilgili yapılan başka bir araştırmada, farklı bölgelerden toplanan Türkiye propolisinin bitki orijini ile ilgili fitokimyasal göstergeler ve antibakteriyel aktivitenin araştırıldığı araştırmada, propolisin temel bitki kaynaklarının *Populus alba, Populus tremuloides* ve *Salix alba* olduğu tespit edilmiştir [1]. Benzer bir araştırma ile Türkiye'de üretilen dört farklı propolisin kimyasal kompozisyonu ve antimikrobiyal etkinliğini tespit etmişlerdir [22]. Velikova et al. (2000) ise; bir Bulgaristan iki Türkiye propolisi ile ilgili yaptıkları araştırma ile kimyasal kompozisyonların benzerlik gösterdiği ve muhtemel bitki kaynağının kavak olabileceğini tespit etmişlerdir [23]. Dünyada bu konu ile ilgili yapılan araştırmalara göz atıldığında, Tahran propolisinin kimyasal yapısını incelemiş ve pinobanksin, pinobanksin-3 asetat, pinosembrin, pinostrobin flavanonları ile krisin ve galangin gibi

flavonların içerdiğini ve bu nedenle İran propolisinin botanik kaynağının kavak olabileceğini ifade etmişlerdir [24].

Propolisin içerdiği aktif bileşikler ile biyoaktif özellikler arasındaki ilişkiler de değerlendirilmiştir. Erzurum'dan topladıkları propolisin antioksidan özelliğini araştırmışlardır [25].

Propolisin içerdiği toplam polifenol içeriği ile antioksidan özelliği arasında korelasyon belirlemişlerdir. Araştırmacılar HPLC ve LC-MS/MS ile kafeik asit, ferulik asit, kuersetin, ellajik asit, pirogallol, tokoferol, p-kumarik asit, vanillin, p-hidroksibenzoik asit, gallik ve askorbik asit miktarlarını belirlemişlerdir.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Propolisin Biyolojik Özellikleri

Türkiye'de üretilen kavak propolisinin bitkisel kaynağı [6, 26, 27] ve kimyasal analizi [21, 28] çeşitli araştırmalarla belirlenmiştir. Bununla birlikte propolisin antifungal [29, 30], antimikrobiyal [31-32], antioksidan [2, 33-35], antikarsinojenik [3, 36], yara iyileştirici [37], anti-leşmaniyal [38], immunstimulan [39, 40], aktiviteleri ile diş hekimliğinde [41, 42], hayvan besleme [43, 44], ve gıdada koruyucu [45-47] olarak kullanımı ile ilgili çok sayıda araştırma rapor edilmiştir.

Farklı ülkelerden toplanan 114 propolis örneği üzerinde çalışmışlardır [48]. Elde edilen sonuçlara göre; Orta ve Güney Avrupa, Suriye, Türkiye ve karasal iklimdeki diğer bölgeler (97 örnek) ilk grubu, aynı bölgedeki *Phyllostachys nigra'nın* yayılış alanının daha dar olduğu daha soğuk bölgelere (kuzey ve dağlık bölgeler; Baltık ülkeleri, Sibirya, İngiltere, İsviçre Ukrayna ve Kanada) ait olanlar da diğer grubu oluşturmuştur. Her iki grup fenolik ve flavonoid içeriği bakımından belirgin oranda değişkenlik göstermiştir. Karasal iklim propolisleri test edilen ilk grup propolislerine göre % 25 fenolik, % 38 flavon ve flavonol, % 17 flavonon/dihidroflavonol bakımından daha düşük değere sahip bulunmuştur. Tüm propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi arasında önemli farklılık gözlenmemiştir. Propolis; antioksidan, antibakteriyel immunomodulatör, antifungal antitümör, anti-inflamatuvar, antiviral ve antiparaziter gibi çok sayıda biyolojik aktiviteye sahiptir [49-52].

Propolisin faydalı biyolojik özelliklerinin daha çok fenolik maddelerden kaynaklandıüğı düşünülmektedir. Flavonoidler kimyasal yapı ve karakteristikleri birbirinden farklı, güçlü antioksidan aromatik bileşiklerdir [53]. Propoliste bulunan en önemli bileşik grubu olarak flavonoidler görülmektedir. Flavonoidler fotosentez yapan hücrelerde

bulunurlar. Sekonder bitki metabolitleri olarak bulundukları için insanlar tarafından sentezlenemezler ve bu nedenle insan beslenmesi için önemlidirler [54, 55]. Flavonollerin alımı için önerilen dozun günde 23 mg olduğu bildirilmektedir [56]. Flavonoidler memeli hücrelerinde çok sayıda biyokimyasal etkiye sahiptirler [54-60].

1.2. Propolis ile İlgili Hayvan Deneyleri

Propolisin biyolojik aktiviteleri ile ilgili araştırmaların çoğu hayvan deneylerinden oluşmaktadır. Hayvan deneyleri ve bu deneylerin sonunda olumlu etkiler gözlendiğinde sağlıklı gönüllüler üzerinde araştırmalar yapılması yönündedir [9]. Propolisin farklı biyolojik etkileri ile ilgili yapılan araştırmalarda farklı dozlar kullanılmıştır. Bu dozlar genellikle 50-500 mg/kg [9, 61-66]. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda propolisin toksik etkileri gözlenmemiştir [67-70]. Propolisin farelerde LD_{50} değeri 2-7.3 g/kg arasında değiştiği bildirilmiştir ve insanların günde 1, 3 ve 6 mg/kg oranında yaklaşık 70 mg/gün oranında propolis tüketebileceği ifade edilmiştir [14]. Bunun dışında altı hafta boyunca her gün propolis tüketiminin mortalite ya da gelişme oranı üzerine olumsuz etkisinin olmayacağını bildirmişlerdir [71]. Propolisin alerjik etkisi hakkında araştırmalar yapılmıştır [72-74]. Tespit edilen reaksiyonların genelde kontak dermatit, dudak ve ağız etrafında şişkinlik, stomatit, oral ekzama olduğu bildirilmiştir [74].

Propolisteki major allerjenlerin orta Avrupa'da kavak propolisi için kaffeat esterleri, botanik orijini kavak olmayan propolisler için ise 3- metil 2- butenil, benzil salisilat ve benzil sinnamat olabileceği rapor edilmiştir [75-77].

Alerjik reaksiyonlar daha çok propolisle direk teması olan arıcılarda görülmüş olup, sistemik reaksiyon prevalansı % 6.5 olarak belirlenirken bunların sadece % 2'sinin anafilaktik reaksiyon olduğu belirtilmiştir [78].

Propolisin ratlarda biyokimyasal parametreleri iyileştirici özelliği tespit edilmiştir [79, 80]. Propolisin antioksidan aktivitesi konusunda ise dünyada çok sayıda araştırma vardır [81-84]. Yeme propolis ilavesinin yumurtacı tavuklarda hematolojik ve immünolojik parametreler üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, diyete 3 g/kg propolis eklendiğinde, serum IgG ve IgM seviyelerinde artış, periferal kan T-lenfosit yüzdesinde

ise düşüşe sebep olduğunu belirtmişlerdir [34]. Kavak propolisinin hepatoprotektif (karaciğer koruyucu) aktivitesi araştırmalarla gösterilmiştir [85-90].

1.3. Propolisin Zeytinyağı Ekstraktı

Propolisin bitkisel yağlarda uygun metotlarla çözülmesi hem farklı endüstrilerde kullanılabilmesi hem de kullanılan çözücünün sağladığı ek faydalar nedeniyle sağlık açısından çok önemlidir. Farklı bitkisel yağlarla ekstrak edilen propolisin antimikrobiyal, antitümöral, anksiyolitik ve antidepresan gibi biyolojik aktiviteleri gösterilmiştir. Örneğin, Pujirahayu (2014) araştırmalarında, Endonezya Sulawesi bölgesinde *Trigona* sp. arılarından elde edilen propolisin su, etanol, propilen glikol, zeytinyağı, fındık yağı ile ekstraksiyonunu yapmış, en yüksek ürün etanol ekstraktında (% 18.33) en düşük ürün zeytinyağı ekstraktında (% 14.06) elde edilmiştir [91]. Litvanya propolisinin zeytinyağı ekstraktında ferulik asit, kumarik asit ve vanilin bileşiklerinin baskın olduğunu, eksraktın özellikle *Candida albicans* ve *Bacillus* cereus'a karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir [92]. Brezilya propolisinin yağ ekstraktının *Candida albicans*'a karşı etkinliği de göstermiştir [93].

Brezilya propolisinin yağ ekstraktının *in vitro* ve *in vivo* antitümöral özelliğe sahip olduğunun gösterildiği bir araştırmada tümör gelişiminin önlenmesinde yağ ekstraktının alkol ekstraktı kadar etkili olduğu göstermiştir. Propolisin yağ ekstraktında 4 fenolik asit ve 3 flavonoidin tanımlandığı araştırmada ekstraktın tümör hücrelerinin inhibisyonunu en iyi şekilde sağladığı ifade edilmiştir [4]. Başka bir araştırmada ise, propolisin zeytinyağ ekstraktının (OEP) merkezi sinir sistemi üzerine stimulan, anksiyolitik ve antidepresan etki gösterdiği bu nedenle OEP'nin anksiyete ve depresyonun giderilmesinde terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir. Propolisin zeytinyağı ekstraktı ile ilgili yapılan klinik bir araştırmada ise bal-propolis zeytinyağı ekstraktı ve balmumunun topikal uygulamasının oral mukozit üzerine etkili olduğu gösterilmiştir [94]. İran'da yapılan bir araştırmada ise propolisin zeytinyağı ekstraktı, bal ve arı sütü katılarak streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş diyabetli ratlarda yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir [95].

Propolisin toplam fenolik madde içeriği, bitkisel kaynağına, sezona, ekstrak yöntemi ve kullanılan çözücüye göre değişmekle birlikte güçlü biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Çünkü doğadaki kullanımı göz önünde tutulduğunda, propolisin temel

maddesi olan reçine bitki tomurcuğunu korurken, bal arılarının tükürük ve balmumu katarak oluşturduğu propolis bal arılarını korumaktadır [7].

Bu araştırmada zeytinyağı kullanılarak özütlenen propolis ekstraktının toplam fenolik madde içeriği, antioksidan, antiradikal aktivitesi ile antipiretik etkisi araştırılmıştır.

1.4. Propolisin Sağlıklı Kişilerde Etkisi

Literatür taraması sonucunda, propolisin sağlıklı gönüllü kişilerdeki tesiri üzerine çalışmalar çok fazla değildir [96]. Bir araştırmada propolis bulunan gargara, sağlıklı elli kişide ağızdaki bakteriler üzerinde kanserli ve kötü huylu hücrelerin büyümesini engellediği incelenmiştir. Kloreksidin bulunan gargara gibi tesir etmediği de gözlenmiştir [97].

Gardana et al. (2007)'nın çalışmasında, mum barındırmayan propolis özütünde propoliste olan temel polifenollerin (kafeik asit, pinobanksin-3-asetat, krisin, pinosembrin, galangin, pinobanksin -3- asetat, pinobanksin esterleri ve kafeik asit fenil ester) absrobsiyonuna bakılmıştır. Sağlıklı 15 gönüllü 5 ml 125 mg flavonoid bulunan ticari propolis ürünü olan EPID® araştırmada tercih edilmiştir. Kullanımdan 1-5 saat sonra kan örnekleri alındığında flavanoid düzeyi tek biçim olarak morin tercih edilerek LC-MS-MS ile tahlil edilmiştir. Kullanıldıktan 8 saat sonrasında kanda flavanoid düzeyi artarken 1 gün sonrasında tayin edilememiştir. Çalışma sonucunda galangin ve pinobanksin 5 metil eterin (P-5ME), krisin, pinosembrin ve pinobanksine göre daha çok olduğu ve EPID® propolis ürünündeki flavonoidlerin absorbe ve metabolize olduğu incelenmiştir [76].

1.5. Propolisin Antipiretik Etkisi

İlk çağlardan bugüne kadar ateşin, canlı cansız herkes için önemli bir yeri olmuştur. Galen (MS II. YY) canlı bedeninde dört unsurun sıcak, soğuk, kuruluk ve nemin olduğunu bu vasıfların düzgün olduğunda da bireylerin sağlıklı sayılacağını düşünmüştür. Onuncu yüzyılın başında ateş hastalık değildir diyen Türk hekim Razi, bedenin hastalıktan kurtulması için çabanın gerektiğini söylemiş ve ateşli hastalıklar suyla iyileştirilmiştir [98]. Beden sıcaklığının artmasıyla bedenin anflamatuar savunma modeline karşı yapılmış olan bir etkiye cevaben fizyolojik yanıttan kaynaklı duruma

ateş denmiştir [99]. İlaç çalışmalarının sağlıktaki bugünkü şartlardaki konumu ve kıymeti büyüktür. Deney hayvanlarıyla ilaç sektörü, bugüne kadar güzel projelerle yol almışlardır. Antienflamatuar ilaçların deney hayvanlarıyla çalışılmış olması ve iyileştirmede önemli bir konuma gelmiştir [100].

İlaç araştırmalarının bir parçası olan deney hayvanları ve bunlara uygulanan testler günümüze kadar önemli aşamalar kaydetmiştir. Tedavide önemli bir yeri olan antienflamatuar ilaçların deney hayvanları üzerinde araştırılması ve kullanılan yöntemler deneysel farmakolojinin güncel konuları arasındadır. Sağlıkta yaygın olarak bulunan antienflamatuvarın, ilaçlarda en güçlüsü glukokortikoidler (steroid yapılı ilaçlar) olarak gösterilmiştir. Farklı derecelerde antienflamatuvar tesir potansiyeli olan non-steroidal antienflamatuvar ilaçların (NSAİİ) glukokortikoidlere nazaran daha düşük etkileri vardır. NSAİİ'ler ağrı kesici özelliği olan, bağımlılık yapmayan ve antipiretik etkili ilaçlardır [101, 102]. Günümüz şartlarında zararlı tesiri diğer ilaçlardan düşük olması, bununla birlikte analjezik ve antipiretik etkisinin olmasından dolayı NSAİİ'ler daha geniş alanda kullanılmaktadır [101].

Sıcaklık ölçümünün; sağlıklı insanlarda rektal 38 °C, oral 37,8 °C, aksiller 37,2 °C'nin üzerinde oluşu ateş olarak tanımlanmaktadır [103]. Vücut ısısını ölçmek için birçok teknik vardır. Kulak, deri ve koltuk altı ölçümleri ateşi olduğundan az gösterebilir. En kesin ölçüm rektal termometrelerle elde edilir [99]. Ancak rektal anatomiyi ve kas fonksiyonelliğini bozması, bulaş olasılığını arttırması ve çocuklar tarafından pek sevilmeyen bir yöntem olması nedeniyle günümüzde artık tercih edilmemektedir.

Aslında ideal olanı aorta ısısının ölçülmesidir. Fakat klinikte bu ısı ancak özofagus yoluyla ölçülebilir. Normal koşullarda ise bu ısıya en yakın ölçüm dış kulak yolundan, timpan zarından yapılan ölçümdür. Ağızdan ölçülen ısı aorta ısısından 0,4 °C, koltuk altı ısısı ise aorta ısısından 1 °C daha düşüktür. Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın vücut ısısının tek bir yöntemle değerlendirilmemesi gerekir. [103].

Ateş Patogenezi: Ateş, uyuma yönelik, otonomik, nöroendokrinolojik ve davranışsal bir yanıt olarak birçok omurgalının akut faz reaksiyonunun bir bölümü olarak gelişir.

Hastalık bulaşması ve dışındaki sebepsel neticeleri aynıdır [104]. Beden sıcaklığı, yetkilere göre sınıflandırılacak yapıda düzenlenen, anterior hipatalamus/preoptik (AH/PO) yerindeki termoregülatörün önemli bölgesi başta olmak üzere hipatalamustan beyin sapı ve medulla spinalise uzanır. Bu bölge günlük ateş ritmini ayarlar ve termosensitif nöronları bulundurur [98].

AH/PO bölgedeki ısı düzenleme merkezi daha alt yapılarla efferent sinirler yoluyla bağlantı kurarken, vücuttaki tüm ısıya duyarlı reseptörlerden afferent sinirler ile sinyaller alır. Hipotalamusta oluşan ısı değişikliklerine karşı gösterdikleri yanıtlara göre üç tip nöron grubu bulunmaktadır :

1. Sıcağa duyarlı nöronlar (~%30): Isı kaybını ayarlayan nöronlardır. Beyin sapını etkileyerek ısı kaybına yarayan soluk sayısında artış ve terleme gibi değişiklikleri tetiklerler.

2. Soğuğa duyarlı nöronlar (<%5): Bu nöronlar gerçekte soğuğa duyarlı olmayıp, sıcağa duyarlı nöronlardan sinaptik inhibisyon alan nöronlardır. AH/PO bölgenin ısısı azaldıkça sıcağa duyarlı nöronların uyarıları azaldığından, dolaylı olarak sinaptik inhibisyon kalkar ve uyarılmaları sonucunda ısı üretimi ve retansiyonunu başlatırlar.

3. Isıya duyarsız nöronlar (>%60): AH/PO bölgedeki ısı değişimlerinden etkilenmezler. Isı düzenlemesi ile ilgili veya ilgisiz birçok işlevleri vardır. Sıcağa ve soğuğa duyarlı nöronlar arasında inhibitor veya eksitatör uyarılar vermek suretiyle düzenleyici özellikleri vardır. Soğuğa duyarlı nöronlara tonik sinaptik eksitatör uyarılar verirler [105].

Sitokinler MSS'ne dolaşım yoluyla ve nöral yollarla ulaşmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile periferal sinirlerin ateş oluşumundaki rolleri ortaya çıkartılmıştır. Vagal lifler bu açıdan çok önemlidir. İmmun sistem ile beyin arasındaki iletişimi vagal afferent lifler, özellikle hepatik dallar sağlamaktadır. Nöral yol erken febril fazda önemli olup, geç febril fazlarda etkisizdir [106].

Ateşin olası yararları: Vücut sıcaklığının artırılması invazyon yapan bakterilerin makrofajlarca öldürülmesini artırır, pek çok mikroorganizmanın replikasyonunu önler. Ateşli hastada serum demiri minimuma iner, serum ferritini artar ve serbest demir azalmış olur; bu da yüksek ısıda demir ihtiyacı artmış olan patojen bakterilerin üremesini azaltır. Ateş varlığında metabolizma, bakteriyel büyüme için gerekli olan glikozun yakılmasından daha çok, proteoliz ve lipolize yönelir. Ateş sırasında gelişen iştahsızlık nedeniyle glikoz gereksinimi, hareketlerde azalma geliştiği için de kasların enerji substratı gereksinimleri azaltılır, konağın olumsuz etkilenme riski azalır. Kana serbest glukoz geçişinin azalması bakteri üremesini olumsuz etkiler. Ateşli dönemde karaciğerde akut faz reaktanlarının yapımı artar. Bu proteinlerden bazıları çoğu mikroorganizma için gerekli olan iki değerli katyonları bağlar. Sonuçta gelişen net etki olarak konak organizma, mikroorganizmalara karşı uyumsal bir üstünlük sağlamış olur.

Ateşin olası sakıncaları: Özellikle yüksek ateş, kronik kardiopulmoner hastalık, metabolik hastalık gibi durumlarda altta yatan hastalığın dekompanzasyona girmesine veya metabolik instabilite oluşmasına neden olabilir. Ayrıca febril konvülziyon için riskli yaş grubundaki çocuklarda ve epilepsisi olan çocuklarda ateşle presipite nöbetlere yol açabilir. Yüksek ateş gebelerde potansiyel teratojen olabilir. 40 °C derece üzerinde olan ateş, MSS ve diğer sistemlere zarar verebilir [107].

Hipertermi: Hipotalamik termostat normal düzeyde olmasına karşın beden derecesinin yükselmesidir. Pirojenik sitokinlerle alakasızdır ve diğer akut faz cevapları yoktur. Antipiretikler etkisizdir. Cilt sıcak ama kurudur. Isı yapımının artması veya ısı kaybının azalması söz konusudur. Hipertermi nedenleri nörolojik hastalıklar, sıcak çarpması (genellikle çok sıcak ve nemli ortamlarda yapılan egzersizler neden olur), zehirlenmeler, malign hipertermi, tirotoksikoz, feokromasitoma, nöroleptik malign sendrom, gibi nedenlere bağlıdır.

Hipotermi: Vücut sıcaklığının 35 °C altına inmesi olarak tanımlanır. Hipotermi daha çok küçük prematüre bebeklerde görülür, üremi, miksödem, açlık, travma, sepsis,

ensefalit, metabolik hastalıklar, şok ve ağır sedasyona bağlı olarak gelişebilir. Yaşanılabilir en düşük vücut sıcaklığı 26 °C, en yüksek sıcaklık ise 43 °C'dir [108].

Vücuttan ısı kaybına izin vermek için ateşli çocuğun giysileri çok sıkı olmamalı, tamamen de çıkarılmamalıdır, hafif bir giysi giydirilmelidir. Odanın iyi havalanması sağlanmalı, oda sıcaklığı 25 °C civarında tutulmalıdır. Ateşli çocuğun metabolizma hızı arttığı için, sıvı kaybı artmaktadır. Susuzluk (dehidratasyon) da ateşi artıracağı için çocuklara alabildikleri kadar su, meyve suyu gibi sıvılar verilmelidir. Bulaşıcı hastalık olasılığı yüksek olduğu için ateşli çocuk veya bebek 24 saat boyunca ateşsiz kalana kadar başkalarıyla teması önlenmelidir. Ateş düşürmek için şunları asla kullanmayınız:

1. Aspirin
2. Soğuk su
3. Alkol veya sirke
4. İki ateş düşürücü ilacı aynı anda veya ardışık olarak vermek [109].

Ateş Düşürücüler: Ateş düşürücü olarak alınan ilaçlar çocuklar için sınırlıdır. Ateşi azaltmak için bu zamana kadar aspirin, parasetamol ve ibuprofen alınmıştır. Ağrıyı bitirmek için kullanılan bu ilaçlar prostaglandin (PGE2) yapımını düşürmek için ateşi 1-2 °C azaltırlar. Art arda ateş düşürücü içmek tek başına parasetamol ve ibuprofene üstünlüğü görülmemiştir**.**

Aspirin: Anneler tarafından geleneksel olarak sık tercih edilen bir ateş düşürücüdür. Etkin bir ateş düşürücü olmasına rağmen yan etkileri parasetamole göre çok daha fazladır. Örneğin, midede gastrit, ülser, kanama ve delinme riskini artırır. Kanamayı kontrol eden hücrelerin fonksiyonları üzerine olumsuz etki eder ve kanama riskini artırır. Bazı bireylerde astım bulgularının artmasına ve kötüleşmesine neden olur. En önemli yan etkilerinden biri de suçiçeği ve grip gibi viral enfeksiyonlarda ateş düşürme amacı ile kullanıldığında 100.000'de 1-2 oranında "Reye sendromu" adı verilen, karaciğer ve beyin hasarı ile seyreden, yaklaşık %40 oranında ölümle sonuçlanan hastalığa neden olabilmesidir. Bu yüzden 1980'li yıllardan sonra gelişmiş ülkelerde aspirinin çocuklarda ateş düşürücü olarak kullanılması terk edilmiştir.

Parasetamol: Çocuklarda en sık kullanılan ateş düşürücüdür. İki aylıktan daha büyük bebeklerde ve çocuklarda kullanılır. Günde kilo başına en az 40 mg, en fazla 60 mg kullanılır. Günlük doz 4-6 eşit doza bölünerek 4-6 saat arayla uygulanır. İlaç ağızdan verildikten 60 dakika sonra kanda en yüksek düzeyine ulaşır, 1-2 saat sonra bu düzeyin yarısına düşer. Vücutta karaciğer tarafından etkisizleştirilir. Yukarıda önerilen tedavi dozlarında kullanıldığında karaciğere zarar vermez. Günde kilo başına 150 mg'dan fazla verildiğinde karaciğer hasarına yol açabilir. Bu yüzden uygun dozda ve uygun zaman aralığında kullanılmalıdır. Parasetamole bağlı bilinen en sık yan etki, hastaların %1'inden daha azında görülen allerjik deri reaksiyonlarıdır. Çocuklara yanlışlıkla şurup yerine tablet formlarının verilmesi, ilacın kendi dozaj kaşıkları ile değil yemek kaşığı ile verilmesi gibi ebeveynin yanlış uygulaması veya çocuk tarafından şurup formunun fazla içilmesi sonucu doz aşımı veya zehirlenmeler olabilir. Paresetamol zehirlenmeleri ilaç dozuna bağlı olarak hayati tehlike riski taşır. Bu nedenle zehirlenme şüphesi varsa en yakın çocuk acil polikliniğine başvurulmalıdır.

İbuprofen: 1989 yılından beri çocuklarda ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır ve etkisi parasetamole benzer. Altı aylıktan daha büyük bebek ve çocuklarda kullanılır. Günde kilo başına 5-10 mg dozunda kullanılır. Günlük en yüksek doz kilo başına 50 mg'dır. Günlük doz 3-4 eşit doza bölünerek 6-8 saat arayla uygulanır. Ağızdan alındıktan bir saat sonra kanda en yüksek düzeyine ulaşır, 2-4 saat içinde en yüksek ateş düşürücü etkisi ortaya çıkar [110].

Nigella sativa'nın sulu ekstresi anti-enflamatuar, analjezik ve antipiretik aktiviteler için hayvan modellerinde araştırılmıştır. Bu ekstrenin carrageenan-kaynaklı pençe ödemi üzerinde inhibitör etkileri ile gösterilen antienflamatuar etkisi vardır. Ayrıca, farelerde sıcak tabla reaksiyon süresinde önemli bir artış meydana getirmiştir ki bu analjezik etkisi olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, ham *Nigella sativa* süspansiyonunun maya-kaynaklı pireksi üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Bu sebeple bu çalışma *Nigella sativa* süspansiyonunun analjezik ve antienflamatuar ajan olarak halk hekimliğinde kullanımını desteklemektedir ve etki mekanizmasını açıklığa kavuşturmak için daha fazla araştırma yapılması için çağrıda bulunmaktadır [111].

Nigella sativa otsu bir bitkidir ve yerel olarak (Suudi Arabistan'da) siyah tohum olarak bilinmekte ve yaygın olarak doğal bir gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu tohumlar Orta Doğu ve Güney Doğu Asya'da birçok rahatsızlığın önlenmesi ve tedavisi için geleneksel olarak kullanılmaktadır. *Nigella sativa*'nın uçucu yağından izole edilen ana etken madde, timikinon'dur [112]. Farelerde ve insanlarda tümör hücrelerine karşı antikarsinojen etkisi olduğu gösterilmiştir [113-115].

Bazı *Berberis* türlerinin kökleri ve kabukları bel ağrısı ve romatizma gibi çeşitli enflamatuar hastalıkların tedavisi için ve hastalıklardaki ateşi azaltmak için halk ilacı olarak kullanılmaktadır. *Berberin, berbamin, palmatin, oksakantin, magnoflorin* ve *kolbamin* olmak üzere altı izokinolin alkaloidi Türk *Berberis* türlerinin köklerinden alkaloidal fonksiyonun ana bileşenleri olarak izole edilmiştir ve farelerle gerçekelleştirilen çeşitli gerçek hayat deneylerinde (*in vivo*) etkileri incelenmiştir. Bu deneylerde gösterilmiştir ki tüm alkaloidler değişik derecelerde inflamasyonu inhibe etmektedir. Bunların arasında *Berberin, Berbamin* Ve *Palmatinin,* hem oral hem de topikal uygulamada serotonin-indüklü arka pençe ödemine karşı anlamlı ve doza-bağlı inhibe edici aktiviteye sahip olduğu ve oral yoldan uygulandığında vasküler geçirgenlikte asetik asit-indüklü artışa neden olduğu gösterilmiştir. Dahası, bu üç alkaloidin doza-bağımlı antinosiseptif etkiye sahip olduğu da gösterilmiştir. Bu etki p-benzokinon-indüklü kıvranma hareketlerinin yanı sıra, sub-akut uygulamada FCA-indüklü artmış rektal sıcaklıktaki antipiretik aktivitenin inhibisyonuna dayanan model kullanılarak değerlendirilmiştir. Fakat bütün alkaloidler değişen derecelerde gastrik lezyonlara neden olmuştur [116].

Bitkiler aleminde fenolik bileşikler çok sayıda ve her yerde bulunurlar, özellikle de sağlığa faydalı gıdalarda bulunurlar. Epidemiyolojik kanıtlar göstermektedir ki polifenolden zengin gıdaların tüketimi kanser, koroner kalp hastalığı ve inflamasyon insidansını azaltmaktadır. Klorojenik asit (CGA), insanların beslenme diyetlerinde en çok bulunan polifenol bileşiklerinden biridir. Gerçek hayatta (*in vivo*) ve laboratuvar ortamında (*in vitro*) deneylerden elde edilen veriler göstermektedir ki CGA çoğunlukla antioksidan ve anti-karsinojenik aktiviteler göstermektedir. Fakat CGA'nın enflamatuar reaksiyon ve ilgili ağrı-ateş süreçlerinin üzerindeki etkileri şimdiye kadar az araştırılmıştır. Bu sebeple, bu çalışma farelerde CGA'nın antienflamatuar, antinosiseptif

ve antipiretik aktivitelerini değerlendirmek için tasarlanmıştır. 50 ve 100 mg/kg dozunda uygulanan CGA -kontrol grubu ile karşılaştırıldığında- deneyin ikinci saatinden itibaren carrageenin-kaynaklı pençe ödemini inhibe etmiştir. Ayrıca, 50 ve 100 mg/kg CGA dozları formalin-indüklü ağrı testi'nin geç safhasındaki geri çekilme sayısını da inhibe etmiştir. Bu tür aktiviteler, bu yanıtlardaki CGA'nın periferal inhibitör aracı sentez/salımındaki CGA'nın inhibitör aktivitesinden kaynaklanabilmektedir. Öte yandan, test edilen en yüksek dozda dahi (200 mg/kg) CGA sıçanlarda lipopolisakkarid (LPS) tarafından indüklenen febril yanıtı inhibe etmemiştir. CGA'nın antienflamatuar ve analjezik etkilerini açıklığa kavuşturmak amacıyla fazladan deneyler şarttır [117].

Kendisine bağlı bir veya daha çok hidroksil grubu taşıyan fenolik bileşikler bir benzen halkası ile karakterize edilen çok çeşitli kimyasal bileşiklere uygulanır. Sağlığa yararlı gıdalarda ve ayrıca çay, kahve gibi bitkilerden hazırlanan içeçeklerde bulunan fenolikler, bitkiler aleminde her yerdedirler [118].

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

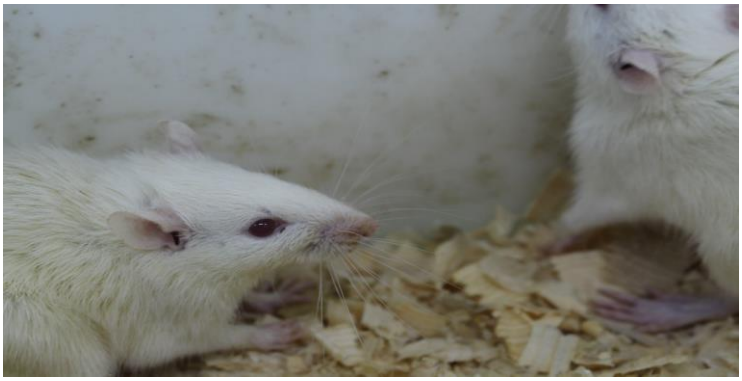
2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

2,2-Difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH), Folin-Kiokalto belirteci, askorbik asit (AA), 3, 4, 5-Trihidroksibenzoik asit (gallic asit ve diğer standartlar Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, ABD firmasından temin edilmiştir). Sülfürik asit (H_2SO_4), sodyum fosfat (Na_3PO_4), amonyum molibdat $(NH_4)_2MoO_4$, sodyum karbonat (Na_2Co_3), ve metanol (CH_3OH) Merck (Darmstadt, Germany firmasından temin edilmiştir). Spektrofotometrik ölçümler Carry 100 UV Visible Spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.1.2. Hayvan Materyali

Çalışma, 200-250 gram ağırlığındaki Wistar Albino ırkı 24 erkek ratla gerçekleştirilmiştir. Ratlar bir kontrol grubu ve üç deneme grubu olmak üzere 4 gruba ayrılmış ve her grupa 6 rat dâhil edilmiştir. Hayvanlar, homojen vücut ağırlığı olacak şekilde gruplara ayrılmıştır ve sürekli havalandırılan bir ortamda 22-24 ^oC sıcaklıkta 12 saat karanlık 12 saat ışıklı periyotta tutulmuştur. Çalışma boyunca hayvanlara *ad libitum* rat yemi (2600 kcal / kgME, % 7 ham selüloz ve % 23 ham protein) ve içme suyu verilmiştir. Bu çalışmanın protokolü Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunca onaylanmıştır (Protokol no: 14012015 15/18).



Şekil 2.1. Araştırmada kullanılan deney hayvanları (Wistar albino rat)

2.1.3. Propolis

Kavak tipi propolis Kayseri ilinin 38.855058 enlem, 35.852095 boylam coğrafi koordinatlı Bünyan ilçesinde kovanlarını kavak ağaçlarının yoğun olarak bulunduğu bölgede tutan arıcıdan temin edilmiştir. Propolisin zeytinyağı ekstraktı Nutral Terapi Co. tarafından hazırlanmıştır. Toz haline getirilen kavak tipi propolis soğuk-presli sızma zeytinyağı ile bir hafta boyunca 40 ^{o}C'yi geçmeyen sıcaklıkta ekstre edilip, fitre edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Propolisin HPLC Analizi

Propolisin fenolik asit içeriği yüksek performanslı likit kromotografi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ile gerçekleştirilmiştir. Numunelerin analizi İyon-Trap Mass Spektrometre Detektör (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) ve Foto Diod Array Detektöre sahip Agilent 1100 HPLC sistemiyle gerçekleştirilmiştir. Metodun mobil safhası A çözeltisi (metanol) ile B çözeltisinden (% 0.5 (v/v) suda asetik asit) oluşmuştur. 10 µL hacminde numune oda sıcaklığında 1 mL/dk akış hızında kolona enjekte edilmiştir. UV tespiti 290 nm'de gerçekleştirilmiştir. UV kromatogramları 280 ve 360 nm'de 8 nm band aralığında kaydedilmiştir. Bileşenler işlenme süresi baz alınarak ve referans standardının süresi ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır.

2.2.2. Propolisin Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam fenolik made içeriği Fuentes et al. (2012)'nın önerdiği metodun modifiye etmesiyle yapılmıştır [119]. Kısaca, 10 g propolisin zeytinyağı ekstraktı 50 ml hekzanla

çözülüp ve susuz metanol ile ekstre edilmiştir. Ardından su eklenerek 100 ml'ye tamamlanıp bir gece bekletilmiştir. Sonra ekstreden 1 ml alınıp ve 5 ml Folin-Ciocalteu ayraç (reaktif) eklenmiştir. Karışım iyice çalkalandıktan sonra 5 dakika bekletilmiştir. Sonra 1 ml doymuş % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi eklenip ve 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Absorpsiyon 725 nm'de UV-Visible Spektrofotometre kullanılarak okunmuştur. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanması için 1 ml 0.05, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6 mmol/L susuz metanol gallik asit solüsyonları ile 5 ml Folin-Ciocalteu ayracı ve 1 ml sodyum bikarbonat (Na_2Co_3) solüsyon ile karıştırılmıştır. 1 saat sonra absorpsiyon 725 nm'de kör'e (blank) karşı okunmuştur.

2.2.3. Propolisin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Propolisin zeytinyağı ekstraktının toplam antioksidan aktivitesi Prieto et al. (1999) tarafından önerilen "fosfomeolibdenum metodu" ile belirlenmiştir [120]. Kısaca, 0.2 ml numune ve gallik asit 2 ml ayraç ile birleştirilmiştir (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat). Tüpler 90 dakika 95 ^{o}C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra karışım oda sıcaklığında bekletilip 695 nm'de referansla UV-Visible Spektrofotometre kullanılarak absorbans okunmuştur.

2.2.4. DPPH'de Serbest Radikal Uzaklaştırma (*Scavenging*) Aktivitesi

2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikal uzaklaştırma (*scavenging*) etkisi küçük bir değişiklikle Gyamfi et al. (1999) tarafından önerilen metotla değerlendirilmiştir. DPPH'nin 1 ml 250 µmol.l-1 metanol solüsyonuna propolis ekstresi (0.1 ml) eklendi. 30 dk sonra 517 nm'de absorbans belirlenmiştir [121].

İnhibisyon (%) değerleri aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

% İnhibisyon=$[(Abs_{kontrol}-Abs_{numune)}/Abs_{kontrol)}*100]$

2.2.5. Antipiretik Aktivite

Deneme grupları;

1. Grup (n=6): Kontrol grubu
2. Grup (n=6): Kontrol grubu (yüksek ateş)

3. Grup (n=6): Propolis verilen grup

4. Grup (n=6): Aspirin verilen grup (pozitif kontrol)

Ratlarda yüksek ateş (*pireksi*) oluşturmak amacıyla, kontrol grubu dışında diğer üç gruptaki rata % 15 maya (bira mayası) 10 ml/kg deri altına subkutan enjekte edilmiştir. Her bir hayvanın rektal sıcaklığı ateş yükselmesini belirlemek için hem maya enjeksiyonundan önce hem de maya enjeksiyonundan 24 saat sonra kaydedilmiştir. Yüksek ateş oluşturulmuş propolis grubuna 1 ml (200 mg/kg vücut ağırlığı) propolis zeytinayağı özütü oral yoldan verilmiştir. Karşılaştırma yapmak üzere yüksek ateş grubuna 1 ml normal serum fizyolojik oral yolla verilmiştir. 4. gruba ise 1 ml (100 mg/kg vücut ağırlığı) aspirin suda çözülerek oral yolla verilmiştir. Her bir hayvanın uygulama sonrası 0, 30, 45, 90, 150 ve 180'inci dakikalarda rektal sıcaklıkları ölçülmüştür. Elde edilen her sonuç üç okuma değerinin ortalaması olarak kaydedilmiştir. Yüksek sıcaklık 38.5 ^{o}C ve üzeri olarak kabul edilmiştir.

2.3. İstatistik Metotları

Elde edilen veriler SPSS 11 yazılımı ile ANOVA kullanılarak analiz edilmiştir. Uygulanan farklı dozların ortalamalarının karşılaştırılması için $p<0.05$ önem düzeyi kabul edilerek Duncan Testi kullanılmıştır.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1 Araştırma Modeli

Propolis zeytinyağı ekstraktının HPLC ile yapılan kimyasal analizinde elde edilen fenolik bileşikler Tablo 3.1. de verilmiştir. Bu bileşikler; kafeik asit fenetil ester, dimetoksinnamik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve vanilin'dir. Bu bileşiklerden kafeik asit fenetil ester 558.03 µg/ml, dimetoksinnamik asit 129.77 µg/ml, kafeik asit 65.92 µg/ml, ferulik asit 52.4 µg/ml, p-kumarik asit 49.25 µg/ml, vanilin 10.81 µg/ml oranında propolisin zeytinyağı ekstraktında tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. Propolisin (zeytinyağı özütü) HPLC analizinde tespit edilen fenolik bileşikler

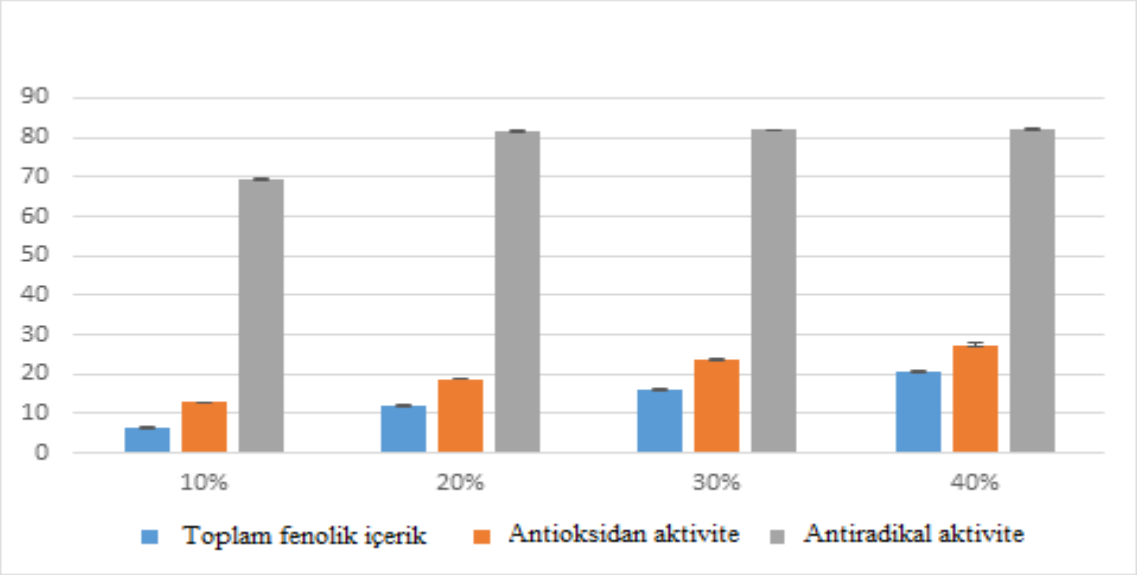


Tablo 3.2. Propolisin zeytinyağı ekstraktında toplam fenolik madde içeriği, antioksidan ve antiradikal aktiviteleri

Propolis konsantrasyonu	**Toplam fenolik madde içeriği (mg/mL GAE)**	**Antioksidan aktivite (mg AAE/g)**	**Antiradikal aktivite (% inhibisyon)**
% 10	6.34±0.31	12.75±0.20	69.61±0.88
% 20	12.08±0.28	18.77±0.14	81.62±0.23
% 30	16.22±0.26	23.75±0.38	81.85±0.14
% 40	20.65±0.53	27.39±0.37	82.21±0.40

Propolis zeytinyağı esktraktının toplam fenolik madde, antioksidan ve antiradikal aktivitesini belirlemek için 4 farklı konsantrasyon kullanılmıştır. Buna göre toplam fenolik madde içeriği % 10 konsantrasyonda 6.34 mg/mL GAE ±0.31, % 20 konsantrasyonda 12.08 mg/mL GAE ±0.28, % 30 konsantrasyonda 16.22 mg/mL GAE ±0.26 % 40 20.65 mg/mL GAE ±0.53 olarak tespit edilmiştir. Propolis zeytinyağı ekstraktının antioksidan aktivitesi % 10 konsantrasyonda 12.75 mg AAE/g ±0.20, % 20 konsantrasyonda 18.77 mg AAE/g ±0.14, % 30 konsantrasyonda 23.75 mg AAE/g ±0.38, % 40 konsantrasyonda 27.39 mg AAE/g ±0.37 olarak tespit edilmiştir. Propolis zeytinyağı esktraktının antiradikal aktivitesi % 10 konsantrasyonda % 69.61 ±0.88, % 20 konsantrasyonda % 81.62 ±0.23, % 30 konsantrasyonda % 81.85 ±0.14, % 40 konsantrasyonda % 82.21 ±0.40 olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca propolisin zeytinyağı ekstraktının toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan (r=0.998) ve antiradikal aktivitesi (r=0.841) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.



Şekil 3.1. Propolis zeytinyağı ekstraktının biyoaktif özellikleri

Tablo 3.3. Deneme gruplarının 180 dakika boyunca ölçülen vücut sıcaklıkları

	Vücut sıcaklığı ^{o}C					
Gruplar	0.dk	30.dk	45.dk	90.dk	150.dk	180.dk
HT	38.7±0.3	38.9±0.5	39.2±0.1	38.7±0.3	38.5±0.5	38.1±0.1
Kontrol	37.7±0.1	37.8±0.2	37.6±0.2	37.8±0.1	37.8±0.2	37.8±0.2
Propolis	38.2±0.4	37.9±0.7	37.8±0.2	37.5±0.2	37.5±0.1	37.0±0.2
Aspirin	38.6±0.2	37.9±0.2	37.4±0.1	37.5±0.4	37.8±0.3	37.6±0.2

Kontrol grubunda bulunan ve maya verilmeyen ratların vücut sıcaklığı 0, 30, 45, 90, 150 ve 180. dakikalarda sırasıyla kontrol grubunda 0. dakikada 37.7 °C ±0.1, 30. dakikada 37.8 °C ±0.2, 45. dakikada 37.6 °C ±0.2, 90. dakikada 37.8 °C ±0.1, 150. dakikada 37.8 °C ±0.2, 180. dakikada 37.8 °C ±0.2 olarak tespit edilmiştir. Propolis grubunda sırasıyla 0. dakikada 38.2 °C ±0.4, 30. dakikada 37.9 °C ±0.7 45. dakikada 37.8 °C ±0.2, 90. dakikada 37.5 °C ±0.2, 150. dakikada 37.5 °C ±0.1, 180. dakikada 37.0 °C ±0.2 olarak tespit edilmiştir. Aspirin grubunda sırasıyla 0. dakikada 38.6 °C

±0.2, 30. dakikada 37.9 °C ±0.2, 45. dakikada 37.4 °C ±0.1, 90. dakikada 37.5 °C ±0.4, 150. dakikada 37.8 °C ±0.3, 180. dakikada 37.6 °C ±0.2 olarak gözlenmiştir.

Bununla birlikte deneme modeline uygun olarak ateşin yükselmesi için maya verilen yüksek ateş grubunda deney hayvanlarının vücut sıcaklığı 0, 30, 45, 90, 150 ve 180. dakikalarda sırasıyla 0. dakikada 38.7 °C ±0.3, 30. dakikada 38.9 °C ±0.5, 45. dakikada 39.2 °C ±0.1, 90. dakikada 38.7 °C ±0.3, 150. dakikada 38.5 °C ±0.5, 180. dakikada 38.1 °C ±0.1 olarak incelenmiştir.

Gruplar (yüksek ateş, propolis ve aspirin) kendi arasında karşılaştırıldığında HT ve propolis grupları arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunurken propolis ve aspirin verilen gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Ayrıca HT grubu ile aspirin grubu arasındaki vücut sıcaklığı farkı da istatistiki olarak önemlidir ($p<0.05$).

4. BÖLÜM

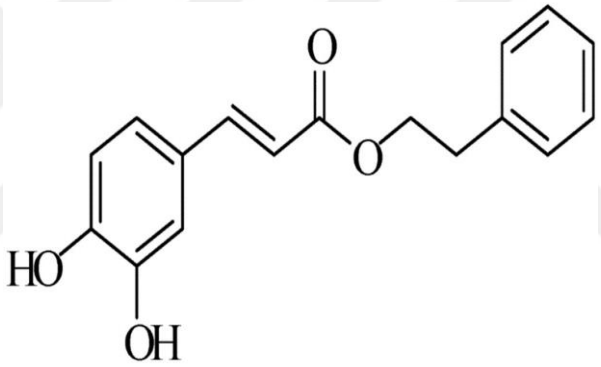
TARTIŞMA - SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1.Tartışma

Karasal iklime sahip ülkelerde üretilen kavak tipi propolis ile Brezilya'da üretilen farklı tipte propolisler (kırmızı, yeşil, kahverengi vb.) dünyada en çok araştırma yapılan propolis tipleridir. Avrupa ve Çin'de yaygın olarak üretilen kavak tipi propolis flavonoidler ve fenolik asit esterlerince zengin iken Brezilya orijinli propolis terpenoidler ve p-kumarik asitin prenilat türevlerince zengindir [8, 122-125]. Son yıllarda yapılan araştırmalar Türkiye propolisinin ana kaynağının kavak tomurcuğu ekstresi olduğunu göstermektedir [26]. Nitekim aigeiros bölümünün taksonomik poplar belirteçleri olarak düşünülen pentenil ve aromatik kaffeatlar, pinokembrin, pinobanksin-3-O-asetat ve galangindir [5]. Kavak tipi propolisin etanolik ekstraktında majör bileşikler pinokembrin, pinobanksin, pinobanksin-3-O-asetat, krisin, galangin, p-kumarik asit, ferulik asit, benzil p-kumarat, benzil ferulat, fenetil kaffeat, CAPE, cinanmil cinnamate vb. fenolik bileşikler tespit edilirken su ekstraktında kafeik asit, ferulik asit, siringik asit, ellagik asit, *quercetin*, alpha-tokoferol, prirogallol, p-hidroksibenzoik asit, vanilin, p-kumarik asit, gallik asit ve askorbik asit gibi bileşikler tespit edilmiştir [6, 26, 126]. Türkiye propolisinin zeytinyağı ekstraktının HPLC ile yapılan bu ilk analizinde Türkiye propolisin zeytinyağı ekstraktında en yüksek oranda tespit edilen bileşik kafeik asit fenetil ester olmuştur. CAPE propolisin temel bileşeni olup lipofilik karakterdedir. CAPE antioksidan, antienflamatuar, antiviral, immunomodülatör, antianjiyogenik, anti-invaziv, antimetastatik ve karsinostatik özellikleri ile ön plana çıkan bir bileşendir [127-131]. Son yıllarda ticari propolis ürünlerinde CAPE bulunması aranılan bir özellik haline gelmiştir. CAPE, kimyasal yapısı ve etkili sitostatik özelliği nedeniyle birçok araştırmacı tarafından antitümör

mekanizmaları üzerine araştırmalar bulunmaktadır. Günümüze kadar yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda; CAPE'nin kan ve kemik iliği, beyin ve spinal kord, baş ve boyun, göğüs, pankreas, karaciğer, kolon, rektum, prostat, böbrek ve mesane kaynaklı birçok kanser tipine karşı güçlü bir sitostatik ve büyümeyi inhibe edici özelliklerinin bulunduğu gösterilmiştir [132, 133]. Ayrıca antioksidan, antienflamatuvar, lioksigenaz inhibitörü özellikleri de gösterilmiştir [134, 135].

Propolisin etkin kimyasal bileşeni olan kafeik asit fenetil ester (CAPE) halkasal iki yapısı vardır ve flavonoidlerle aynıdır. Halkanın biri molekülün işlevsel gruplar olan –OH grubu çekmiş ve kimyasal özelliklerini belirtmiştir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Propolisin kimyasal bileşeni olan CAPE'nin moleküler yapısı [136]

CAPE, lipofilik özelliğiyle zar yapılarına girip tesir edeceği yere gider ve alifatik, aromatik özellikte olan C grupları taşır. Zara giriş katsayısı 13.82 olarak bulunmuştur. CAPE hücre kültürü ve deney hayvanları çalışmalarında birçok yerden rahat bir şekilde alınabilmekte ve bundan dolayı hücreye ya da vücut bölgesine girmesi bu şekilde daha kolay olduğu bildirilmiştir. CAPE'nin saklama koşullarına bakıldığında laboratuvar prosedürlerine göre, -20 °C'de uzun bir süre saklanılmaktadır. Suda çözülemeyen Fenetil kaffeat/CAPE, ancak özgür bir şekilde etanol, metanol ve aseton gibi organik olan çözücülerle kolay şekilde mümkündür. En yüksek çözünürlük fenetil kaffeatın 10 m g/ml'dir. -20 °C'de çözücünün içerisinde en çok 6 aya kadar muhafaza edilebilir [137].

Bal arılarının bitkilerden aldığı ekstrelerin içindeki propolisin (Şekil 4.2.) aktif bileşenlerinden olan CAPE'nin güzel ve etkili bir kokusu vardır. Geçmiş tarihte halk arasındaki tıbbi çerçevede [138, 139], hastalıklardan korunma sistemini tertipleyen [140], oksidana karşı olan [141], antimutajenik olan [142] ve antimikrobik olan [143] birçok rahatsızlıkları iyileştirme niyetiyle kullanılmış ve rahatlatıcı rolü belirtilmiştir.



Şekil 4.2. İşlem görmemiş propolis

CAPE dışında araştırmamızda da propolisin zeytinyağı ekstraktı ferulik, kumarik ve vanilin içermiştir. Benzer şekilde Ramanauskiene et al. (2011) Litvanya propolisin zeytinyağı ekstraktında ferulik asit, kumarik asit ve vanilin bileşiklerini baskın olduğunu bildirmiştir [92].

Kanserin kök hücre varlılığını azaltmak, özel onkogen sinyalizasyon durumlarının blokajına, anti-anjiyogenesize, antioksidan kısmını kuvvetlendirmeye ve kullanılan ilaçların zararlı etkilerini azaltmada yardımcı olan etken, propolisdeki antitümoral özelliktir [130, 131].

CAPE'nin 6 µg/ml konsantrasyonda hücrelerin % 70.3'nün gelişmesini engellediği kontrol grubuna göre, benzer konsantrasyonda DNA fragmentasyonu meydana getirdiği 6 saat sonraki kontrol grubuna göre, mitokondriyal transmembran potansiyel yitirilmesini gösteren değişkenlerde CAPE uygulanan hücrelerde önemli bir azalma görüldüğü (% 54.4), intraselüler GSH düzeylerinin kontrol gruba nazaran 30 dakikalık süreçte daha çabuk düştüğü (% 54.4,), hidrojen peroksit seviyelerinin CAPE uygulanan hücrelerde çabuk azaldığı ancak süper oksit anyon seviyelerinde önemli bir farklılık

olmadığı incelenmiştir [144]. *In vitro* ve *in vivo* ile yapılan çalışmalarda propolisin prostat kanser hücrelerindeki faaliyeti bulunmuştur [145].

Propolisin etanolik ve su ekstraktının toplam fenolik madde, antioksidan ve antiradikal aktivitesi ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmakla birlikte zeytinyağının bu aktiviteleri konusunda araştırma çok azdır. Kubiliene et al. (2015) su, propilen glikol, alkol ve zeytinyağının solvent olarak kullandığı araştırmada propolis+su ekstraktı (W1) oda sıcaklığında 5 saat, Propolis+PEG+su ekstraktı (W2) 70 ℃ de, Propolis+zeytinyağı ekstraktı (A1) oda sıcaklığında, Propolis+PEG+zeytinyağı+ su ekstraktı (A2) 70℃ de ve propolis etanol ekstraktı (EEP) oda sıcaklığında ekstre edilmiştir [148]. Bu ekstraksiyon yöntemi sonucunda ekstrakların toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 1.6 µg/ml, 10.7 µg/ml, 0.5 µg/ml, 9.5 µg/ml ve 12.7 µg/ml tespit edilmiştir. Bizim araştırma sonuçlarımız göre propolisin zeytinyağı ekstraktının toplam fenolik madde içeriği konsantrasyona bağlı olarak 6.34-20.65 mg/ml GAE arasında tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmamızda propolis konsantrasyonu arttıkça toplam fenolik madde içeriğinin arttığı gözlenmiştir (Tablo 3.2). Sonuçların birbirinden farklı olmasının nedeni ekstraksiyon yönteminden ve kullanılan çözücülerin niteliğinden kaynaklanabilir. Çünkü bizim araştırmamızda kullanılan zeytinyağı soğuk-presli sızma zeytinyağı olup, propolis ile ekstraksiyon süresi bir hafta ve ekstraksiyon sıcaklığı 40 ℃'dir. Sonuç olarak propolisin zeytinyağı ekstraktında yüksek fenolik madde içeriğini elde etmek için uygun ekstraksiyon yöntemini seçmek gerekmektedir. Yani, propolisin ekstraksiyonunda propolis ile ilgili faktörler yanında çözücü, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı da toplam fenolik madde içeriğinde önem kazanmaktadır. Nitekim farklı iki ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen propolis zeytinyağı ekstraksiyonu sırasında alkol kullanılan ekstraktın antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu sorun propolisin su ekstraklarında da benzer şekildedir ve araştırmalarda kullanılan ekstraksiyon yöntemleri birbirinden farklıdır [92].

Araştırmamızda, propolisin zeytinyağı ekstraktının antioksidan ve antiradikal gösterdiği, bu aktivitelerin toplam fenolik madde içeriği ile korelasyon olduğu gösterilmiştir. Litvanya propolisi ile ilgili yapılan bir çalışmada oda sıcaklığında 5 saat maserasyon ile elde edilen propolisin zeytinyağı ekstraktının diğer ekstraklara göre daha düşük fenolik madde içerdiğini ve nispeten düşük antiradikal aktivite (% 20.6) gösterdiğini ifade etmişlerdir [146]. Propolisin zeytinyağı ekstraktının antioksidan

aktivitesi ile ilgili araştırma olmasa da, sızma zeytinyağının antioksidan aktivitesi ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmaktadır [147, 148]. Zeytinyağının İspanya, Yunanistan, Tunus, İtalya, Türkiye, Suriye ve Portekiz gibi ülkelerin diyetinde önemli bir yeri vardır. Sızma zeytinyağı, zeytinden mekanik veya fiziksel yöntemlerle elde edilen bitkisel kökenli yağdır. Zeytin meyvesinin doğal yağıdır ve benzer yağlı asit kompozisyonuna sahip yağlardan daha fazla insan sağlığı için faydalı öğelere sahiptir. Çok sayıda mikro-besin içeriğine özellikle fenolik bileşikler, karotenler ve E-vitamini gibi antioksidan moleküllere sahiptir [149]. Ancak, rafine edilmiş zeytinyağı, sızma zeytinyağından rafine yöntemleriyle elde edilir. Ancak bu yöntem kimyasal kompozisyonu değiştirir ve minör bileşiklerin çoğunun kaybına neden olur. Araştırmamızda soğuk presli sızma zeytinyağı kullanılmıştır. Türkiye'de üretilen sızma zeytinyağı antimikrobiyal, antioksidan, anti inflamatuvar, vazoprotektif gibi çok sayıda insan için faydalı özellikleri gösterilmiştir [150, 151]. Türkiye'de üretilen sızma zeytinyağı fenolik bileşenlerinin tespit edildiği bir araştırmada, tirosol, hidroksitirosol, vanilik asit, p-kumarik asit, sinnamik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerini rapor etmişlerdir [152]. Benzer şekilde Sachez-Fidalgo et al. (2013), İspanya'da sızma zeytinyağının HPLC ile analizinde hidroksitirosol, tirosol, vanilik asit, p-kumarik asit, decarboksimetil oleuropein, pinoresinol, sinnamik asit, luteolin ve apigenin gibi fenolik bileşikler içerdiğini tespit etmiştir. Propolisin etanolik ekstraktının kullanımındaki sınırlamalar göze alındığında propolisin yağ ekstraktının önemi ortaya çıkmaktadır [153].

Araştırmamızda propolisin zeytinyağı ekstraktının (200 mg/kg) ratlarda pireksi-indüklü maya verilmesiyle oluşturulan ve Al-Ghamdi (2001) tarafından önerilen deneysel modelde; aspirin ve propolisin zeytinyağı ekstraktının herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubuna göre antipiretik etkisi olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte aspirin ve propolisin zeytinyağı ekstraktı arasında istatistiki olarak önemli farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$) [111]. Bu konuda yapılan araştırmalardan birinde Shah et al. (1991) propolisin etanolik ekstraktının antipiretik etkisi olmadığını rapor etmiştir [154].

Maya solüsyonu verilmeyen kontrol rat grubunun rektal sıcaklığı 37.6-37.8 ^{o}C (ortalama 37.75 ^{o}C) arasında tespit edilmiştir. Deneme süresince 3 saatin ortalaması alındığında ortalama ateş 37.75 ^{o}C'dir. Maya verilen ancak sadece serum fizyolojik

suyu verilen grubun rektal sıcaklığı 38.7-39.2 ^{o}C (3 saat ortalaması 38.95 ^{o}C) arasında olup deneysel olarak kontrol grubuna göre yaklaşık 1 derece ateş yükselmesi sağlanmıştır. Propolis deneme başında ratların ateşi 38.2 ^{o}C iken 37.6 ^{o}C ye düşmüş, aspirin grubunda deneme başında ateş 38.2 iken 37.2 ^{o}C'e düşmüştür. Propolis ve aspirin grubu HT grubu ile kıyaslandığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak aspirinin antipiretik etkisi propolisten yüksek bulunmuştur.

4.2. Sonuç ve Öneri

Elde edilen araştırma sonuçlarına göre; propolisin zeytinyağı ekstraktının gözlenen antioksidan, antiradikal ve antipiretik etkisi, ekstraktın içerdiği özellikle CAPE ve diğer fenolik bileşikler ile ekstraksiyonda kullanılan zeytinyağının zengin fenolik madde ve karoten içeriğinin sağladığı katkıya dayandırılmıştır**.** Bu nedenle alkol kullanılmayarak elde edilen propolis ekstrakları arasında propolisin zeytinyağı ekstraktının önemli bir alternatif olabileceği, sonraki araştırmalarda bu ekstraktın kullanılarak farklı biyolojik aktivitelerin belirlenmesi bu konudaki araştırmalara katkı sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

[1] Silici, S., Koç, A.N., Mıstık, S., 2007a. Comparision of *in vitro* actıvıtıes of antifungal drugs and propolis against yeasts ısolated from patients with superficial mycoses. **Annals of Microbiology, 57** (2): 269-272.

[2] Kanbur, M., Eraslan, G., Silici, S., 2009. Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. **Ecotoxicology and Environmental Safety, 72** (3): 909-915.

[3] Özkul, Y., Silici, S., Eroğlu, E., 2005. The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture. **Phytomedicine, 12** (10): 742-747.

[4] Carvalho, A.A., Finger, D., Machado, S.C., et al., 2011. *In vivo* antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. **Food Chemistry, 126** (3): 1239-1245.

[5] Greenaway, W., May, J., Scaysbrook, T., et al., 1991. Identification by gas chromatography mass spectrometry of 150 compounds in propolis. **Zeitschrift Für Naturforschung C Naturforsch, 46** (1-2): 111-121.

[6] Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O., et al., 2005. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. **Phytomedicine, 12** (3): 221-228.

[7] Silici, S., 2015. Propolis üzerine ön klinik araştırmalar. **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31 (**3): 185-191

[8] Bankova, V.S., De Castro, S.L., Marcucci, M.C., 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie, 31** (1): 3–15.

[9] Sforcin, J. A., Bankova, V., 2011. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs. **Journal of Ethnopharmacology, 133** (2): 253–260.

[10] Ghisalberti, E.L., 1979. Propolis: A review. **Bee World, 60** (2): 59-84.

[11] Castaldo, S., Capasso F., 2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia, 73** (1): 1–6.

[12] Bankova, V., De Castro, S.L., Marcucci, M.C., 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology, 100** (1-2): 114-117.

[13] Sforcin, J.M., 2007. Propolis and the immune system: A review. **Journal of Ethnopharmacology, 113** (1): 1–14.

[14] Burdock, G.A., 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology, 36** (4): 347-363.

[15] Fernandez, M.C., Cuesta-Rubio, O., Perez, A.R., et al., 2008. GC–MS determination of isoflavonoids in seven red Cuban propolis samples. **Journal of Agricaltural and Food Chemistry, 56** (21): 9927–9932.

[16] Hernandez, I.M., Cuesta-Rubio, O., Fernandez, M.C, et al., 2010. Studies on the constituents of yellow cuban propolis: GC–MS determination of triterpenoids and flavonoids. **Journal Agricaltural Food Chemistry, 58** (8): 4725–4730.

[17] Özkök, D., Iscan, K., Silici, S., vd., 2013. Effects of dietray propolis supplementation on performance and egg quality in laying hens. **Journal of Animal and Veterinary Advances., 12** (2): 269-275.

[18] Kartal, M., Kaya, S., Kurucu, S., vd., 2002. GC-MS analysis of propolis samples from two different regions of Turkey. **Zeitschrift Für Naturforschung C Naturforsch, 57** (9-10): 905-909.

[19] Gencay, Ö., Sorkun, K., 2006. Microscopic analysis of propolis samples collected from east anatolia (Kemaliye-Erzincan). **FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences**, 31, 192-197.

[20] Sorkun, K., Süer, B., Salih, B., 2001. Determination of chemical composition of Turkish propolis, **Zeitschrift Für Naturforschung C Naturforsch, 56** (7-8): 666-668.

[21] Silici S., Kutluca, S., 2005a. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **Journal of Ethnopharmacology, 99** (1): 69-73.

[22] Uzel, A., Sorkun, K., Önçağ, Ö, vd., 2005. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different anatolian propolis samples. **Microbiological Research, 160** (2): 189-195.

[23] Velikova, M., Bankova, V., Sorkun, K., et al., 2000. Chemical composition and biological activity of propolis from Turkish and Bulgarian origin. **Mellifera, 1** (1): 57-59.

[24] Mohammadzadeh, S., Shariatpanahi, M., Hamedi, M, et al., 2007. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. **Food Chemistry, 103** (4): 1097–1103.

[25] Gülçin, İ., Bursal, E., Sehitoğlu, M.H, vd., 2010. Polyphenols contents and antioxidant activity of lyophilized aqueus extract of propolis from Erzurum, Turkey. **Food Chemical Toxicology, 48** (8-9): 2227-2238.

[26] Silici, S., Unlu, M., Vardar-Unlu, G., 2007b. Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23** (12): 1797-1803.

[27] Vardar-Ünlü, G., Silici, S., Ünlü, M., 2008. Composition and *in vitro* antimicrobial activity of *populus* buds and poplar-type Propolis. **World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24** (7): 1011-1017.

[28] Doğan, M. Silici, S., Saraymen, R, vd., 2006. Element content of propolis from different regions of Turkey. **Acta Alimentaria, 35** (1): 127-130.

[29] Özcan, M., 1999. Antifungal properties of propolis. **Grasas y Aceites, 50** (5): 395-398.

[30] Koç, A.N., Silici, S., 2008. Comparative study of *in vitro* methods used to analyse the antifungal activity of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. Mentagrophytes*. **Annals of Microbiology, 58** (3): 543-547.

[31] Öksüz, H., Duran, N., Tamer, C, vd., 2005. Effect of propolis in the treatment of experimental *staphylococcus aureus* keratitis in rabbits. **Ophthalmic Research, 37** (6): 328-334.

[32] Sağdıç, O., Silici, S., Yetim, H., 2007. Fate of *escherichia coli* and *e.coli* 0157:h7 in apple juice treated with propolis extract. **Annals of Microbiology, 57** (3): 345-348.

[33] Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S. vd., 2007. Evaluation of propolis effects on some biochemical parameters in rats treated with sodium flüoride. **Pesticide Biochemistry and Physiology, 88** (3): 273-283.

[34] Çetin, E. Silici, S., Cetin, N., vd., 2010. Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. **Poultry Science, 89** (8): 1703-1708.

[35] Yonar, M.E., Yonar, S.M, Ural, M.Ş, vd., 2012. Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/ antioxidative status of *Cyprinus carpio carpio*, **Food Chemical Toxicology, 50** (8): 2703-2708.

[36] Eroğlu, H.E., Ozkul, Y., Tatlisen, A., vd., 2008. Anticarcinogenic and antimitotic effects of Turkish propolis and mitomycin-c on tissue cultures of bladder cancer. **Natural Product Research, 22** (12): 1060-1066.

[37] Çam, Y., Koc, A.N., Silici, S., vd., 2009. Treatment of dermatophytosis in young cattle with propolis and whitfield's ointment. **The Veterinary Record, 165** (2): 57-58.

[38] Özbilge, H., Kaya, E.G., Albayrak, S, vd., 2010. Anti-leishmanial activities of ethanolic extract of Kayseri propolis. **African Journal of Microbiology Research, 4** (7): 556-560.

[39] Çetin, E., Kanbur, M., Silici, S, vd., 2010a. Propetamphos-induced changes in hematological and biochemical parameters of female rats: protective role of propolis**. Food and Chemical Toxicology, 48** (7): 1806-1810.

[40] Yonar, M.E., Yonar, S.M., Silici, S., 2011. Protective effect of propolis against oxidative stress and immunosuppression induced by oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). **Fish and Shelfish Immunology, 31** (2): 318-325.

[41] Arslan, S., Silici, S., Percin, D. vd., 2012a. Antimicrobial activity of poplar propolis on mutans streptococci and caries development in rats. **Turkish Journal of Biological, 36** (1): 65-73.

[42] Arslan, S., Yazici, R.A., Görücü, J. vd., 2012b. Comparison of the effects of Er, Cr: YSGG laser and different cavity disinfection agents on microleakage of current adhesives. **Lasers Medical Science, 27** (4): 805-11.

[43] Denli, M., Cankaya, S. Silici, S, vd., 2005. Effect of dietary addition of Turkish propolis on the growth performance, carcass characteristics and serum variables of quail (Coturnix coturnix japonica). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 18** (6): 848-854.

[44] Seven, I., Tatlı-Seven, P., Silici, S., 2011. Effects of dietary turkish propolis as alternative to antibiotic on growth and laying performances, nutrient digestibility and egg quality in laying hens under heat stress. **Revue de Médecine Vétérinaire, 162** (4): 186-191.

[45] Özcan, M., Ayar, A., 2003. Effect of propolis extracts on butter stability. **Journal of Food Quality, 26** (1): 65-73.

[46] Silici, S., Koc, A.N., Ayangil, D, vd., 2005b. Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. **Journal of Pharmacological Science, 99** (1): 39-44.

[47] Koç, A.N., Silici, S.,Mutlu-Sarıgüzel, F, vd., 2007. Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. **Food Technology Biotechnology, 45** (1): 57-61.

[48] Popova, M.P., Bankova, V.S., Bogdanov, S, et al., 2007. Chemical characteristics of poplar-type propolis of different geographic origin. **Apidologie, 38** (3): 306-311.

[49] Sforcin, J.M., Fernandes Jr., A., Lopes, C.A.M, et al., 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology, 73** (1-2): 243 249.

[50] Sforcin, J.M., Fernandes Jr., A., Lopes, C.A.M, et al., 2001. Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida Albicans* and *Candida tropicalis*. **Journal of Venomous Animals and Toxins, 7** (1): 139–144.

[51] Silici, S., Koc, A.N., Mutlu-Sarıgüzel, F, vd., 2005c. Mould inhibition in different fruit juices by propolis. **Arch Lebensmittelhyg, 56** (4): 73-96.

[52] Freitas, S.F., Shinohara, L., Sforcin, J.M, et al., 2006. *In vitro* effects of propolison *Giardia duodenalis* trophozoites. **Phytomedicine, 13** (3): 170–175.

[53] Harborne J.B., Williams C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry, 55** (6): 481–504.

[54] Kühnau, J., 1976. The flavonoids. a class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics, 24**, 117-191.

[55] Havsteen, B.H., 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical pharmacology, 32** (7): 1141–1448.

[56] Hertog, M.G.L., Hollman, P.C., Katan, M.B., 1993. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in Netherlands. **Nutrition and Cancer, 20** 21-29.

[57] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, N., 1996. Structure antioxidant activity relationship flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine, 20** (7): 933-956.

[58] Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L. et al., 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure activity relationships, **Free Radical Biology and Medicine, 22** (5): 749-760.

[59] Williams, R.J., Spencer, J.P.E., Rice-Evans, C.A., 2004. Flavonoids: antioxidants or signaling molecules. **Free Radical Biology and Medicine, 36** (7): 838-849.

[60] Jasprica, I., Bojic, M., Mornar, A, et al., 2007a. Evaluation of antioxidative activity of croatian propolis samples using dpph and abts stable free radical assays. **Molecules, 12** (5): 1006-1021.

[61] Orsi, R.O., Sforcin, J.M., Rall, V.L.M, et al., 2005. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 11** (2): 109–116.

[62] Orsolic, N., Sver, L., Terzic, S, et al., 2005. Peroral application of water-soluble derivative of propolis (WSDP) and its related polyphenolic compounds and their influence on immunological and antitumor activity. **Veterinary Research Communications; Dordrecht, 29** (7): 575–593.

[63] Bassani-Silva, S., Sforcin, J.M., Amaral, A.S., et al., 2007. Propolis effect *in vitro* on canine transmissible venereal tumor cells. **Revista Portuguesa de Ciencias Veterinarias, 102**, 261–265.

[64] Zamami, Y., Takatori, S., Koyama, T., et al., 2007. Effect of propolis on insulin resistance in fructose-drinking rats. **Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 127** (12): 2065–2073.

[65] Barros, M.P., Sousa, J.P., Bastos, J.K., et al., 2007. Effect of Brazilian green propolis on experimental gastric ulcers in rats. **Journal of Ethnopharmacology, 110** (3): 567–571.

[66] Orsatti, C.L., Missima, F., Pagliarone, A.C, et al., 2010. Propolis immunomodulatory action *in vivo* on toll-like receptors 2 and 4 expression and on pro-inflammatory cytokines production in mice. **Phytotherapy Research, 24** (8): 1141–1146.

[67] Kaneeda, J., Nishina, T., 1994. Safetiness of propolis. Acute toxicity. **Honey Bee Science, 15** 29-33.

[68] Sforcin, J.M., Funari, S.R.C., Novelli, E.L.B., 1995. Serum biochemical determinations of propolis-treated rats. **Journal of Venomous Animals and Toxins, 1** (1): 31-7.

[69] Sforcin, J.M., Novelli, E.L.B., Funari, S.R.C., 2002. Seasonal effect of Brazilian propolis on seric biochemical variables. **Journal of Venomous Animals and Toxins, 8** (2): 244–254.

[70] Jasprica, I., Mornar, A., Debeljak, Z, et al., 2007b. *In vivo* study of propolis supplementation effects on anti-oxidative status and red blood cells. **Journal of Ethnopharmacology, 110** (3): 548-554.

[71] Cuesta, A., Rodriguez,A., Angeles, M., et al., 2005. *In vivo* effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. **Fish & Selfish Immunolgy, 18** (1): 71-80.

[72] Walgrave, S.E., Warshaw, E.M., Glesne, L.A., 2005. Allergic contact dermatitis from propolis. **Dermatitis, 16** (4): 209-215.

[73] Shinmei, Y., Yano, H., Kagawa, Y., et al., 2009. Effect of Brazilian propolis on sneezing and nasal rubbing in experimental allergic rhinitis of mice. **Journal of Immunopharmacology and Immunotoxicology, 31** (4): 688–693.

[74] Cho, E., Lee, J.D., Cho, S.H. et al., 2011. Systemic contact dermatitis from propolis ingestion. **Annals of Dermatology, 23** (1): 85-88.

[75] Hausen, B.M., 2005. Evaluation of the main contact allergens in propolis. **Dermatitis, 16** (3): 127–129.

[76] Lee, S.Y., Lee, D.R., You, C.E, et al., 2006. Autosensitization dermatitis associated with propolis-induced allergic contact dermatitis. **Journal of Drugs in Dermatology, 5** (5): 458-460.

[77] Gardana, C., Scaglianti, M., Pietta, P, et al., 2007. Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 45** (3): 390–399.

[78] Çelikel, S., Karakaya, G., Yurtsever, N. vd., 2006. Bee and bee products allergy in turkish beekeepers: determination of risk factors for systemic reactions. **Allergologia et Immunopathologia, 34** (5): 180-184.

[79] Kolankaya, D., Selmanoğlu, G., Sorkun, K, vd., 2002. Protective effects of turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. **Food Chemistry, 78** (2): 213-217.

[80] Mani, F., Damasceno, H.C.R., Novelli, E.L.B, et al., 2006. Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. **Journal of Ethnopharmacology, 105** (1-2): 95–98.

[81] Isla, M.I., Nieva Moreno, M.I., Sampietro, A.R, et al., 2001. Antioxidant activity of argentine propolis extracts. **Journal of Ethnopharmacology, 76** (2): 165-170.

[82] Russo, A., Cardile, V., Sanchez, F, et al., 2004. Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. **Life Sciences, 76** (5): 545-58.

[83] Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T, et al., 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry, 84** (3): 329-339.

[84] Ahn, M.R., Kumazawa, S., Hamasaka, T. et al., 2004. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. **Journal of Agricaltural and Food Chemistry, 52** (24): 7286-7292.

[85] Gonzalez, R., Remirez, D., Rodriguez, S, et al., (1994). Hepatoprotective effects of propolis extract on paracetamol-induced liver damage in mice. **Phytotherapy Research, 8** (4): 229-232.

[86] Gonzalez, R., Corcho, I., Remirez, D, et al., (1995). Hepatoprotective effects of propolis extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. **Phytotherapy Research, 9** (2): 114-117.

[87] Lin, S.C., Lin, Y.H., Chan, C.F, et al., 1997. The hepatoprotective and therapeutic effects of propolis ethanol extract on chronic alcohol-ınduced liver injuries. **The American Journal of Chinese Medicine, 25** (3/4): 325-332.

[88] Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., 2000. Biological evaluation of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **Journal of Ethnopharmacology, 72** 239-246.

[89] Banskota, A.H., Tezuka, Y., Kadota, S., 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytotherapy Research, 15** (7): 561–571.

[90] Ramadan, A., Soliman, G., Mahmoud, et al., 2012. Evaluation of the safety and antioxidant activities of *crocus sativus* and propolis ethanolic extracts. **Journal of Saudi Chemical Society, 16** (1): 13–21.

[91] Pujirahayu, N., Ritonga, H., Uslinawaty, Z., 2014. Properties and flavanoids content in propolis of some extraction method of raw propolis. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6** (6): 0975-1491.

[92] Ramanauskiene, K., Inkeniene, A.M., 2011. Propolis oil extract: Quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity. **Natural Product Research, 25** (15): 1463-1468.

[93] Finger, D., Machado, C.S., Torres, Y.R., Quinaia, S.P., Thomaz, A.C.G., Gobbo, A.R., Monteiro, M.C., et al., 2013. Antifungal bioassay-guıded fractıonatıon of an oil extract of propolis. **Journal of Food Quality, 36** (5): 291–301.

[94] Abdulrhman, M., Elbarbary, N.S., Ahmed Amin, S., Saeid Ebrahim, R. 2012. Honey and a mixture of honey, beeswax, and olive oil-propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis: A randomized controlled pilot study. **Pediatric Hematology and Oncology, 29** (3): 285-292.

[95] Rashidi, M.K., Mirazi N, Hosseini A. 2016. Effect of topical mixture of honey, royal jelly and olive oil propolis extract on skin wound healing in diabetic rats. **Wound Medicine 12**, 6-9.

[96] Özen, T., Kılıç, A., Bedir, O., et al., 2010. *In vitro* activity of turkish propolis samples against anaerobic bacteria causing oral cavity infections. **Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16** (2): 293-298.

[97] Khayyal, M.T., El-Ghazaly, M.A., El-Khatib, A.S., et al., 2003. A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patient. **Fundamental and Clinical Pharmacology, 17** (1): 93-102.

[98] Tabak, F., 2006. Ateş Patogenezi, Ateş Tipleri, Erişkinde Ateş Yönetimi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. **Ateşli Hastaya Yaklaşım Sempozyum Dizisi, 53,** 27-36.

[99] Osborn, L.M., DeWitt, T.G., First, L.R., Zenel, J.A., 2007. **Pediatri, Cilt 1,** 297-302.

[100] Özbek, H., Öztürk, A., 2003. Antienflamatuvar etkinliğin ölçülmesinde kullanılan yöntemler. **Van Tıp Dergisi, 10** (1): 23-28.

[101] Kayaalp, S.O., 2002. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 10. baskı, Ankara, Hacettepe TAŞ, 960.

[102] Dökmeci, İ., 2000. Farmakoloji temel kavramlar, İstanbul, nobel tıp kitabevleri, 394.

[103] Kara, B., 2003. Çocuklukta ateşle ilgili bilgilerin gözden geçirilmesi, **İtim Dergisi (Sted), 12** (1): 10-14.

[104] Saper, C.B., Breder, C.D., 1994. The neurologic basis of fever. **The New England Journal of Medicine, 330** (26): 1880-6.

[105] Boulant, J.A., 2000. Role of the pre-optic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever. **Clinical Infectious Diseases, 31** 157-61.

[106] Blatteis, C.M., Sehic, E., Li, S., 2000. Pyrogen Sensing and signaling, old views and new concepts. **Clinical Infectious Diseases, 31** 168-77.

[107] Baker, M.D., 1999. Evaluation and management of ınfants with fever. **Pediatric Clinics, 46** 1061-72.

[108] Simon, H.B., 1993. Hypertermia. **New England Journal of Medicine, 32**, 483-7.

[109] Peters, J.M., Dobson, S., Novelli, V., et al., 1999. Sepsis and fever. In: care of the critically ill child, London, Churchill Livingstone, 103-19.

[110] Li, S.F, Lacher, B., Crain, E.F., 2000. Acetaminophen and ibuprofen dosing by parents. **Pediatric Emergency Care, 16** (6): 394–397.

[111] Al-Ghamdi M.S., 2001. The Anti-İnflammatory, Analgesic and Antipyretic Activity of *Nigella sativa.* **Journal of Ethnopharmacology, 76** (1): 45–48.

[112] Mahfouz, M., El-Dakhakhany, M., 1960. The isolation of a crystalline active principle from N*igella sativa* l. seeds. **Journal of Pharmaceutical Sciences UAR, 1** 1–19.

[113] Salomi, M.J., Nair, S.C., Panikkar, K.R., 1991. Inhibitory effects of N*igella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice. **Nutrition and Cancer, 16** (1): 67–72.

[114] Salomi, N.J., Nair, S.C., Jayawardhanan, K.K., Varghese, C.D., Panikkar, K.R., 1992. Antitumour principles from *nigella sativa* seeds. **Cancer Letters, 63** (1): 41–46.

[115] Worthen, D.R., Ghosheh, O.A., Crooks, P.A., 1998. The *in vitro* anti-tumour activity of some crude and purified components of black seed, *Nigella sativa L*. **Anticancer Research, 18** (3A): 1527–1532.

[116] Küpeli, E., Koşar, M., Yeşilada, E., vd., 2002. A comparative study on the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of ısoquinoline alkaloids from the roots of turkish berberis species. **Life Sciences, 72** (6): 645–657.

[117] Dos Santos, M.D., Almeida, M.C., Lopes, N.P., De Souza, G.E.P., 2006. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid**. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29** (11): 2236-2240.

[118] Stoclet, J., Chataigneau T., Ndiaye, M., Oak, M., Bedoui, J.E., et al., 2004. Vascular protection by dietary polyphenols. **European Journal of Pharmacology, 500** (1-3): 299-313.

[119] Fuentes, E., Baez, M.E., Bravo, M., Cid, C., et al., 2012. Determinatio of total phenolic content in olive oil samples by uv-visible spectrometry and multivariate calibration. **Food Analysis Methods, 5** (6): 1311-1319.

[120] Prieto, P., Pineda, M., Aguilar., M., et al., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin e. **Analytical Biochemistry, 269** (2): 337-341

[121] Gyamfi, A.M., Yonamine, M., Aniy, Y., 1999. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from ghana, thonningia sanguinea on experimentally-induced liver ınjuries. **General Pharmacology: The Vascular System, 32** (6): 661-667.

[122] Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S., Evstatieva, L., et al., 1992. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: Phenolic compounds and plant origin. **Apidologie, 23** (1): 79-85.

[123] Bankova, V., Boudourova-Krasteva, G., Sforcin, J.M., et al., 1999. Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from São Paulo state. **Zeitschrift Für Naturforschung C, 54** (5-6): 401-405.

[124] Marcucci, M.C., 1999. Chemical composition, plant origin and biological activity of brazilian propolis. **Current Topics Phytochemistry, 2** 115-123.

[125] Kumazawa, S., Yoneda, M., Shibata, I., et al., 2003. Direct evidence for the plant origin of brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 51** (6): 740-742.

[126] Gülçin, İ., Bursal, E., Şehitoğlu, M.H., Bilsel, M., Gören, A.C., 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueus extract of propolis from erzurum, Turkey. **Food and Chemical Toxicology, 48** (8-9): 2227-2238.

[127] Chen, J.H., Shiao, M.S., Wang, S.Y., 2001. The antioxidant kafeik asit phenthyl ester ınduces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic hl-60 cells. **Anti-Cancer Drugs**, **12** (2): 143-49.

[128] Lee, Y.J., Kuo, HC., Chu, C.Y., Wang, C.J., Lin, W.C., Tseng, T.H., 2003. Involvement of tumour suppressor protein p53 and p38 mapk in kafeik asit phenethyl ester - ınduced apoptosis of c6 glioma cells. **Biochemical Pharmacology, 66** (15): 2281-2289.

[129] Kuo, H.C., Kuo, W.H., Lee, Y.C., Lin, W.L., Chou, F.P., Tseng, T.H., 2005. Inhibitory effect of kafeik asit phenethyl ester on the growth of c6 glioma cells *in vitro* and *in vivo*. **Cancer Letters,** 234 (2): 199-208.

[130] Watanabe, M.A.E., Amarante, M.K., Conti B.J., Sfrocin, J.M, et al., 2011. Cytotoxic constituents of propolis ınducing anticancer effects, a review. **Journal Pharmacy and Pharmacology, 63** (11): 1378-86.

[131] Murtaza, G., Sajjad, A., Mehmood, Z., Shah, S.H., Siddiqi, A.R., 2014. Possible molecular targets for therapeutic applications of caffeic asit phenethyl ester in inflammation and cancer. **Journal of Food and Drug Analysis, 23** (1): 11-8.

[132] Wu J, Omene C, Karkoszka J, Bosland M, Eckard J, et al., 2011. Caffeic acid phenethyl ester (cape), derived from a honeybee product propolis, exhibits a diversity of anti-tumor effects in pre-clinical models of human breast cancer. **Cancer Letters, 308** (1): 43–53.

[133] Omene C, Kalac M, Wu J, Marchi E, et al., 2013. Propolis and its active component, caffeic acid phenethyl ester (cape), modulate breast cancer therapeutic targets via an epigenetically mediated mechanism of action. **Journal of Cancer Science Therapy, 5** (10): 334–342.

[134] Mirzoeva, O.K., Sud'ina, G.F., Pushkareva, M.A., Korshunova, G.A., et al., 1995. Lipophslic derivatives of kafeik asit as lypoxygenase inhibitors with antioxidant properties. **Bioorganicheskaia Khimiia, 21** (2): 143-151.

[135] Totan, Y., Erdinc, A., Cekic, O., Daglioglu, M.C., et al., 2001. Effect of kafeik asit phenethyl ester on corneal neovascularization in rats. **Current eye Research, 23** (4): 291-299.

[136] Zhang, P., Tang, Y., Li, N.G., et al., 2014. Bioactivity and chemical synthesis of caffeic acid phenethyl ester and its derivatives. **Molecules, 19** (10): 16458-76.

[137] Azman, Z.N., 2015. Kafeik Asit Fenetil Esterin Hücre Döngüsü Kontrol Noktası Proteinleri Olan Bub1 ve Bub3 Üzerine Etkisinin *Saccharomyces cerevisiae* Kullanılarak İncelenmesi. **Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.**

[138] Dobrowolski, J.W., Vohoraq, S.B., Sharma, K., et al., 1991. Antibakterial, antifungal, antiamoebic, antiinflamatory and antipyretic studies on propolis bee products. **Journal of Ethnopharmacology, 35** (1): 77-82.

[139] Zewail, A., Xie, M.W., Xing, Y., et al., 2003. Novel functions of the phosphatidylinositol metabolic pathway discovered by a chemical genomics screen with wortmannin. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 100** (6): 3345-50.

[140] Dimov, V., Ivanovska, N., Bankova, V., Popov, S., 1992. Immunomodulatory action of propolis: IV. prophylactic activity aganist gram (-) infections and adjuvant affect of the water-soluble derivate. **Vaccine, 10** (12): 817-21.

[141] Pascual, C., Gonzales, R., Torricella, R.G., 1994. Scavenging action of propolis extract aganist oxygen radicals. **Journal of Ethnopharmacology, 41** (1-2): 9-13.

[142] Volpert, R., Elstner, E.F., 1993. Biochemical activities of propolis extracts: 2. photodynamic activities, **Zeitschrift Für Naturforschung C Naturforsch**, **48** (11-12): 858-62.

[143] Amaros, M., Sauvager, F., Gire, L., Cormier, M., 1992. In-vitro antiviral activity of propolis. **Apidologie, 23** (3): 231-40.

[144] Biray, Ç., Gündüz, C., Yılmaz, B., et al., 2006. Propolis ve etken maddeleri olan kaffeik asit fenetil ester (cape) ve sinnamik asitin insan t hücreli akut lenfoblastik lösemi hücre dizisi (ccrf-cem)'de sitotoksik ve apopitotik etkinliğinin değerlendirilmesi. **Ege Tıp Dergisi, 45** (2): 83-92.

[145] Szliska, E., Zydowicz, G., Janoszka, B., et al., 2011. Ethanolic extract of brazilian green propolis sensitizes prostate cancer cells to traıl-ınduced apoptosis**. International Journal of Oncology,** 38: 941-953.

[146] Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., et al., 2015. Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. **BMC Complementary and Alternative Medicine,** 15:156.

[147] Baldioli, M., Servili, M., Parretti, G., Montedoro, G.F., et al., 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society, 73** (11): 1589-1593.

[148] Servili, M.S., Esposto, R., Fabiani, S., Urbani, A., Taticchi, F., Mariucci, R., Selvaggini, G.F.M., 2009. Phenolic compounds in olive oil, antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. **Inflammopharmacology, 17** (2): 76–84.

[149] Waterman, E., Lockwood, B., 2007. Active components and clinical applications of olive oil. **Alternative Medicine Review, 12** (4): 331–42.

[150] Visioli, F., Caruso, D., Grande, S., Bosisio, R., Villa, M., Galli, G., Sirtori, C., Galli, C,. Et al., 2005. Virgin olive oil study (volos), vasoprotective potential extra virgin olive oil in mild dyslipidemic patients. **European Journal of Nutrition, 44 (**2): 121-127.

[151] Karaosmanoglu, H., Soyer, F., Ozen, B., Tokatlı, F., 2010. Antimicrobial and antioxidant activities of turkish extra virgin olive oils. **Journal of Agrcultural and Food Chemistry 58,** 8238-8245.

[152] Ocakoglu, D., Tokatlı, F., Ozen, B., Korel, F, vd., 2009. Distrubution of simple phenols, phenolic asits and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years, **Food Chemistry, 113** (2): 401-410.

[153] Sanchez-Fidalgo, S., Cardeno, A., Sanchez-Hidalgo, M., et al., 2013. Dietary extra virgin olive oil polyphenols supplementation modulates dss-ınduced chronic colitis in mice**. The Journal of Nutritional Biochemistry, 24** (7): 1401-1413.

[154] Shah, S.A., Dobrowolski, W., Vohora, S.B., Sharma, K., Naqvi, A.H., Dandiya P,C., 1991. Antibacterial, antifungal, antiameboic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **Journal of Ethnopharmacology, 35** (1): 77-82.

EKLER

EK 1.

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)

Tarih: 14.01.2015 Toplantı Sayısı: 01 Karar No:15/18

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 14.01.2015 tarihinde Prof. Dr. Harun ÜLGER'in başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Harun ÜLGER	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Abdullah İNCİ	Prof. Dr.	Veteriner Fak.	
Özlem CANÖZ	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fak.	
Gökçen Yuvalı ÇELİK	Prof. Dr.	Eczacılık Fak.	
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fak.	
Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	
Servet KESİM	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fak.	
Serpil SARIÖZKAN	Doç. Dr.	DEKAM	
Serap ALTUNTAŞ EROĞLU	Av.	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Katılmadı
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Der. Başk.	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	Katılmadı

Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvansal Biyoteknoloji AD.'dan **Prof. Sibel SİLİCİ** tarafından sunulan **"Propolisin antipiretik etkisinin belirlenmesi"** başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 14.01.2015
Etik kurul Başkanı : Prof. Dr. Harun ÜLGER
İmza :

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Mehmet BAYSA
Uyruğu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi ve Yeri: 09.04.1991- Kayseri
Medeni Durum: Bekar
e-mail: baysa@live.com
Yazışma Adresi: Gültepe mah. Söbetaşı sok. Orhangazi ap. No: 11 D: 23 Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji ABD	2018
Lisans	Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü	2015
Lise	Mustafa Eraslan Lisesi, Kayseri	2009

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2016- Halen	Gaziantep Tic. Borsası Lab. ve Depoculuk A.Ş.	Ziraat Mühendisi
2014-2016	Turkcell Superonline	Satış Takım Lideri

YABANCI DİL

İngilizce