

# Viskotoksinler

Didem DELİORMAN\*, Fatma ERGUN\*, Bilge ŞENER\*

**Özet :** Bu derlemede, viskotoksinlerin isimlendirilmeleri, tanıma reaksiyonları, amino asit sıralarının saptanması, izolasyonları, miktar tayinleri, biyolojik aktiviteleri ve toksisiteleri hakkında genel bilgi verilmiştir.

**Anahtar kelimeler :** Viskotoksin, amino asit diziliş sırası, izolasyon, biyolojik aktivite.

**Geliş tarihi :** 10.2.1995

**Kabul tarihi :** 7.9.1995

## Viscotoxins

**Summary :** The nomenclature, identification reactions, determination of amino acid sequences, isolations, quantitative analysis, biological activities and toxicities of viscotoxins have been reviewed in this paper.

**Key words :** Viscotoxin, amino acid sequence, isolation, biological activity.

## Giriş

Viskotoksinler, Avrupa ökse otundan (*Viscum album* L.) elde edilen, biyolojik aktiviteye sahip, yaklaşık 5.000 Dalton molekül ağırlığında, kuvvetli bazik karakterli protein karışımlarıdır<sup>1,2</sup>.

*V. album*'un sitotoksik proteinlerini tanımlayan madde gruplarından birini teşkil eden viskotoksinler, açıksarı renkli toz halinde bileşiklerdir. Suda kolay çözünür ve köpük meydana getirirler. Proteazlara ve ısıya karşı dayanıklıdır. İzoelektrik noktaları pH 10.7 ile 11.6 arasında değişmektedir<sup>3,4</sup>.

İlk defa 1948 yılında Winterfield, toz edilmiş *V. album* dal ve gövdesinden, C<sub>34</sub>H<sub>68</sub>O<sub>18</sub>N<sub>10</sub>S kapalı formülüne sahip amorf, metanolde çok az, su, etanol, izopropanol ve asetik asitte çok çözünen; eter, kloroform ve asetonda çözünmeyen, viskotoksinleri izole etmiştir<sup>5</sup>.

Bugüne kadar dört adet viskotoksin (viskotoksin A2, viskotoksin A3, viskotoksin B ve viskotoksin 1-Ps) tanımlanmış ve izole edilmiştir<sup>6</sup>. Viskotoksinler, üç disülfür köprüsü ile 46 amino asitten oluşan bir polipeptit zincirine sahip maddelerdir. Molekül ağırlıkları aşağıda verilmiştir<sup>6,7</sup>:

Viskotoksinler	Molekül ağırlıkları (Dalton)
Viskotoksin A2	4833
Viskotoksin A3	4929
Viskotoksin B	4856
Viskotoksin 1-Ps	4907

Viskotoksinlere benzer başka toksinler, diğer Loranthaceae familyası bitkilerinde de bulunmaktadır. Samuelsson ve Ekblod tarafından *Phoradendron tomentosum* (DC.) Engelm. ssp. *macrophyllum* (Cockerell) Wiens.'un (= *Phoradendron serotinum* (Raf.) M.C. Johnst) kurutulmuş gövde ve yapraklarından foratoksin ve foratoksin A izole edilmiştir<sup>8</sup>. Kırkaltı amino asit içeren foratoksinin molekül ağırlığı 4884 Dalton'dur. Foratoksinler kalp kasında negatif inotropik etki, bradikardi, hipotansiyon oluştururken, iskelet ve cilt kaslarındaki damarlarda ise kasılma meydana getirirler ve bu etkileri, viskotoksinlerin etkilerinin 1/10'u kadardır<sup>9</sup>. Foratoksinlerin LD<sub>50</sub> değeri, farelere intraperitoneal enjeksiyonları ile 0.57±0.05 mg/kg olarak tespit edilmiştir<sup>8</sup>. Foratoksin ve viskotoksin arasındaki en önemli fark; polipeptit zincirlerinin C-terminal amino asitlerinden ileri gelir, foratoksine C-terminal grubunu histidin oluştururken, viskotoksine bu amino asit yer almaz<sup>10</sup>. *Phoradendron liga*'dan ise foratoksine benzer bir toksin olan ligatoksin izole edilmiştir<sup>8-10</sup>.

\* Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 06330 Hipodrom-ANKARA.

### İsimlendirme

1948 yıllarında yapılan çalışmalarda Avrupa ökse otundan (*Viscum album* L.) elde edilen proteinler K. Winterfield tarafından viskotoksin olarak tanımlanırken, 1970 yılında G. Samuelsson ve arkadaşları Viskotoksin A2, Viskotoksin A3 ve Viskotoksin B olarak üç adet viskotoksin isimlendirmişlerdir<sup>6</sup>. J. Konopa ve arkadaşları, 1980 yılında Viskotoksin I, II, III ve IVb adları ile kullandıkları dört adet viskotoksin tespit etmişlerdir<sup>6</sup>. Daha sonraları Viskotoksin II, Viskotoksin B olarak; Viskotoksin III, Viskotoksin A2 olarak; Viskotoksin IVb, Viskotoksin A3 olarak isimlendirilmiş ve bu isimlendirme uluslararası olarak kabul edilmiştir<sup>11</sup>.

### Viskotoksinlerin Tanınma Reaksiyonları

Viskotoksinlerin, kromatografik olarak tanınmasında en çok kağıt kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi kullanılmaktadır.

Viskotoksinlerin, inen kağıt kromatografisiyle araştırılmasında genellikle Whatman no. 1 kağıtları ve Tablo 1'de gösterilen çözücü sistemleri kullanılmaktadır<sup>4</sup>.

**Tablo 1.** Viskotoksinlerin Kağıt Kromatografisiyle Analizlerinde Kullanılan Çözücü Sistemleri

Çözücü Sistemler	Oranlar
n-Butanol: asetik asit: su (üst faz)	125: 30: 125
Ter-butanol: formik asit:su	70: 1: 30
n-Propanol: 2-butanon: su: dietilamin	10: 10: 5: 2
2-Butanon: propionik asit: su	75: 30: 30
Metanol: n-butanol: su	10: 10: 5

İnce tabaka kromatografisi (İTK), kısa sürede sonuç veren bir yöntem olması nedeniyle analizler sırasında tercih edilmektedir. Adsorban olarak, Silikajel G, Kieselgel F<sub>254</sub> kullanılmaktadır. İTK'da kullanılan çözücü sistemleri Tablo 2'de verilmiştir<sup>1,12,13</sup>.

**Tablo 2.** Viskotoksinlerin İnce Tabaka Kromatografisiyle Analizlerinde Kullanılan Çözücü Sistemleri

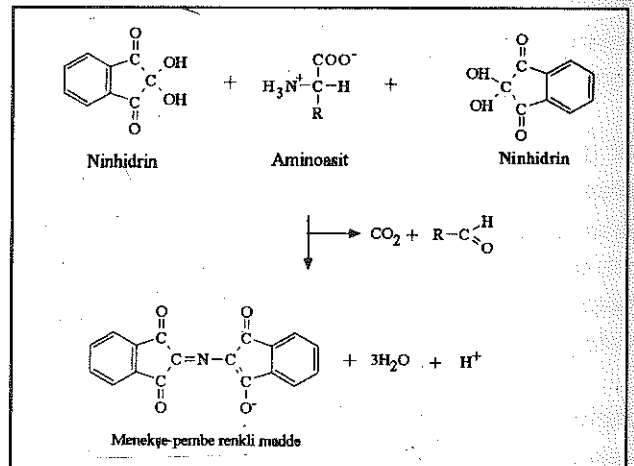
Çözücü Sistemler	Oranlar
Propanol: amonyum hidroksit: su	60: 6: 34
n-Butanol: aseton: asetik asit: su	35: 35: 10: 20
n-Butanol: asetik asit: su (üst faz)	50: 10: 40

Kağıt kromatografisi ve ince tabaka kromatografisinde, kromatogramdaki lekelerin belirlenmesinde Ninhidrin reaktifinin modifiye şekillerinden yararlanılmıştır<sup>13</sup>.

Bu reaktiflerle, viskotoksinlerin verdikleri renkler aşağıda belirtilmiştir.

Reaktif	Süre/ısı	Renk	Kaynak
Ninhidrin R 1	5'/105°C	Mavi	4
Ninhidrin R 2	5'/105°C	Mavi-Mor	1, 13
Ninhidrin R 3	5'/105°C	Kırmızı-menekşe-mor Kırmızı-kahverengi	12

Ninhidrin reaktifinin amino asitlerle verdiği reaksiyonun mekanizması Şema 1'de açıklanmıştır<sup>14</sup>.



**Şema 1.** Amino Asitlerle Ninhidrin Reaksiyonu

Ayrıca İTK'da lekelerin belirlenmesinde NST/PEG (Naturstoff Polyethylenglykol) reaktifi de kullanılmaktadır. Bu reaktifle, viskotoksinler, kromatogramın orta ve yukarı bölgelerinde 365 nm'de

UV ışığı altında mavi fluoresans veren lekeler halinde ortaya çıkmaktadır<sup>12</sup>.

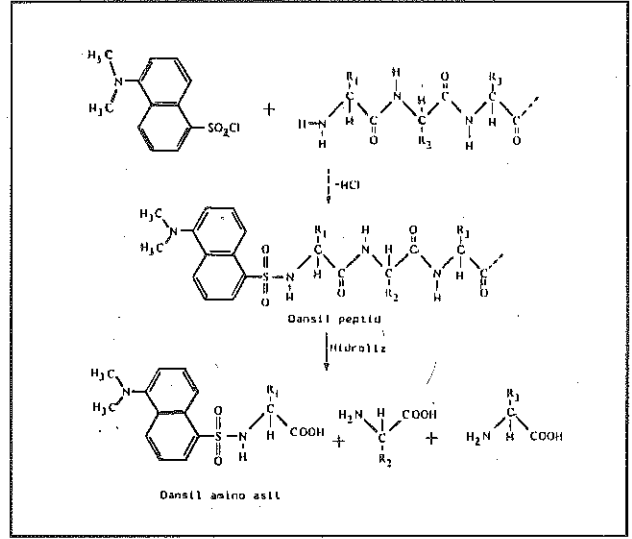
Viskotoksinlerin tanınmasında kağıt elektroferezinden de yararlanılmaktadır. Bu yöntemde, 2043b Schleicher & Schüll kağıtları ve LKB 3276 cihazı kullanılmaktadır (Gerilim = 200 V; Süre = 4 saat; Tampon = Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O / KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH = 6) viskotoksin bulunduğu düşünülen ekstratlar 4 cm eninde kesilmiş kağıtlara, bir hat halinde uygulanmaktadır<sup>4</sup>. Elektroferez neticesinde ayrılan bantlar Ninhidrin ile mavi renk vermekte ve viskotoksinler bu şekilde tanınmaktadır.

### Viskotoksinlerin Amino Asit Diziliş Sırasının Aydınlatılması

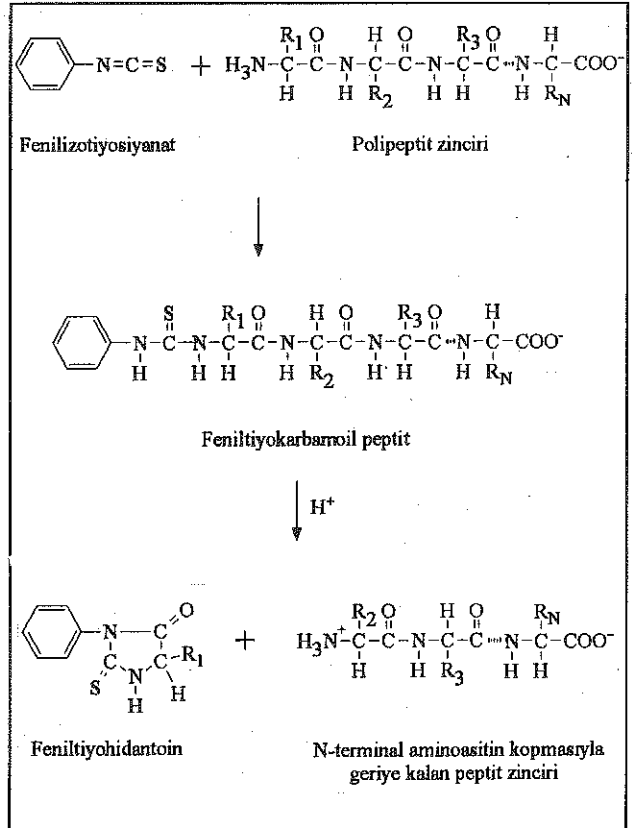
Viskotoksinlerin amino asit sıralarının saptanmasında dansil klorür yöntemi<sup>7,15-17</sup>, Edman reaksiyonu<sup>7,15-17</sup> ve enzimatik yöntem<sup>1,15</sup> gibi peptidlerin amino asit diziliş sırasının aydınlatılmasında kullanılan çeşitli analizlerden yararlanılabilir (Tablo 3).

Dansil klorür yönteminde, peptitin N-terminal amino asitleri belirlenir. Peptit molekülünün ucundaki serbest amino grubu, dansil klorür (dimetilaminonaftalen-5-sülfonil klorür) ile hidrolize dayanıklı sülfonamid grupları haline dönüştürülür. Hafif alkali ortamda oluşan dansil peptit asit ortamda hidroliz edilirse hidrolizat, bir serbest dansil amino asit ve birçok serbest amino asit içerir. Dansil amino asit renksiz olmakla beraber, ultraviyole ışıkta şiddetli sarı fluoresans vermesinden dolayı kromatografik olarak kolayca tanınabilmektedir<sup>15,16</sup> (Şema 2).

Edman Reaksiyonu da, proteinlerin N-terminal amino asitlerinin saptanmasında kullanılmaktadır. Bu yöntemde peptitin N-terminal amino grubu pH 8-9'da fenilzotiyosiyanat (Edman Reaktifi) ile kovalent bağ oluşturarak reaksiyona girer. Oluşan feniltiyokarbamoil peptit yapısı, asidik ortamda intramoleküler siklizasyon sonucu N-terminal amino asitin feniltiyohidantoin türevine ayrılır. Bu türev, standartlara karşı kromatografik olarak kolayca teşhis edilebilmektedir. Bu reaksiyonlar, peptit zincirindeki diğer amino asitler içinde aynı şekilde devam eder<sup>1,14-18</sup> (Şema 3).



Şema 2. Dansil klorür yöntemi ile proteinlerin bileşiminde yer alan amino asitlerin sırasının aydınlatılması



Şema 3. Edman reaksiyonu ile proteinlerin bileşiminde yer alan amino asitlerin sırasının aydınlatılması.

Viskotoksinlerin, C-terminal amino asitlerini saptamak üzere enzimatik yöntemlerden faydalanılmaktadır. Viskotoksinler için karboksipeptidazlar kullanılmıştır. Karboksipeptidaz A ve B, peptit molekülünün ucunda bulunan serbest

Tablo 3. Viskotoksinlerin Amino Asit Diziliş Sırası<sup>11</sup>

Viskotoksin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Viskotoksin A2	Lys-	Ser-	Cys-	Cys-	Pro-	Asn-	Thr-	Thr-	Gly-	Arg-	Asn-	Ile-	Tyr-	Asn-	Thr-	Cys-	Arg-	Phe-
Viskotoksin A3	Lys-	Ser-	Cys-	Cys-	Pro-	Asn-	Thr-	Thr-	Gly-	Arg-	Asn-	Ile-	Tyr-	Asn-	Ala-	Cys-	Arg-	Leu-
Viskotoksin B	Lys-	Ser-	Cys-	Cys-	Pro-	Asn-	Thr-	Thr-	Gly-	Arg-	Asn-	Ile-	Tyr-	Asn-	Thr-	Cys-	Arg-	Leu-
Viskotoksin 1-Ps	Lys-	Ser-	Cys-	Cys-	Pro-	Asn-	Thr-	Thr-	Gly-	Arg-	Asn-	Ile-	Tyr-	Asn-	Thr-	Cys-	Arg-	Phe-
Foratoksin	Lys-	Ser-	Cys-	Cys-	Pro-	Thr-	Thr-	Thr-	Ala-	Arg-	Asn-	Ile-	Tyr-	Asn-	Thr-	Cys-	Arg-	Phe-
	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Viskotoksin A2	Gly-	Gly-	Gly-	Ser-	Arg-	Glu-	Val-	Cys-	Ala-	Ser-	Leu-	Ser-	Gly-	Cys-	Lys-	Ile-	Ile-	Ser-
Viskotoksin A3	Thr-	Gly-	Ala-	Pro-	Arg-	Pro-	Thr-	Cys-	Ala-	Lys-	Leu-	Ser-	Gly-	Cys-	Lys-	Ile-	Ile-	Ser-
Viskotoksin B	Gly-	Gly-	Gly-	Ser-	Arg-	Glu-	Arg-	Cys-	Ala-	Ser-	Leu-	Ser-	Gly-	Cys-	Lys-	Ile-	Ile-	Ser-
Viskotoksin 1-Ps	Gly-	Gly-	Gly-	Ser-	Arg-	Glu-	Val-	Cys-	Ala-	Ser-	Leu-	Ser-	Gly-	Cys-	Lys-	Ile-	Ile-	Ser-
Foratoksin	Gly-	Gly-	Gly-	Ser-	Arg-	Pro-	Val-	Cys-	Ala-	Lys-	Leu-	Ser-	Gly-	Cys-	Lys-	Ile-	Ile-	Ser-
	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46								
Viskotoksin A2	Ala-	Ser-	Thr-	Cys-	Pro-	Ser-	Tyr-	Pro-	Asp-	Lys								
Viskotoksin A3	Gly-	Ser-	Thr-	Cys-	Pro-	Ser-	Tyr-	Pro-	Asp-	Lys								
Viskotoksin B	Ala-	Ser-	Thr-	Cys-	Pro-	Ser-	Tyr-	Pro-	Asp-	Lys								
Viskotoksin 1-Ps	Ala-	Ser-	Thr-	Cys-	Pro-	Ser-	Tyr-	Pro-	Asp-	Lys								
Foratoksin	Gly-	Thr-	Lys-	Cys-	Asp-	Ser-	Gly-	Trp-	Asn-	His								

Arg = Arginin, Asn = Asparajin, Asp = Aspartik asit,  
 Cys = Sistein, Pro = Prolin, Lys = Lizin, Ser = Serin,  
 His = Histidin, Ile = İzolosin, Gly = Glisin, Leu = Lösin,  
 Ala = Alanin, Thr = Treonin, Trp = Triptofan, Glu = Glutamik asit  
 Phe = Fenil alanin, Val = Valin, Tyr = Tirozin

karboksil grubuna komşu olan peptit bağlarını parçalar, yani peptit molekülünden C-terminal amino asit kalıntılarını ayırır. Karboksipeptidaz A, prolin, lizin ve arginin C-terminal kalıntı oluncaya kadar etki gösterir. Karboksipeptidaz B ise, peptit molekülünden ancak arginin veya lizinin teşkil ettiği C-terminal kalıntılarını hidroliz edebilir. Bu suretle peptit zincirinden adı geçen enzimlerin etkisiyle ayrılan amino asitler kromatografik olarak teşhis edilmektedir<sup>1,15</sup>.

Peptitlerin amino asit diziliş sırasını aydınlatmak üzere genel olarak aşağıdaki işlemler uygulanmaktadır;

1. Polipeptit molekülündeki bütün disülfür bağları indirgenir ve elde edilen tiyoller alkilendirilir.
2. Her polipeptitten bir örnek hidroliz edilir ve hidrolizatta amino asit analizi yapılır.

3. Polipeptit zincirinin diğeri bir örneğinde N- ve C- terminal amino asitleri saptanır.
4. Polipeptit zinciri enzimatik veya kimyasal hidrolizle bir seri küçük peptite parçalanır.
5. Hidroliz sonucunda elde edilen peptit parçaları birbirinden ayrılır ve her peptitin amino asit bileşimi ve amino asit diziliş sırası tayin edilir.
6. Her peptit zincirinden diğeri bir örnek, zinciri ilk kısmi hidrolizin ayırdığı yerlerden farklı yerlerden ayıran ikinci bir kısmi hidrolize tabi tutulur. Hidrolizattaki peptit parçaları birbirinden ayrıldıktan sonra her peptitin amino asit bileşimi ve diziliş sırası 4. ve 5. safhalarda olduğu gibi aydınlatılır.
7. Her iki kısmi hidrolizattan elde edilen peptit parçalarının amino asit dizilişleri karşılaştırılarak (ilk kısmi hidrolizden sonra elde edilen parçaların, ikinci kısmi hidrolizden elde edilen ayrılma yerlerine tekabül etmesi gerekir) bu peptit parçalarının moleküldeki yerleri saptanabilir. Bu suretle polipeptit zincirinin amino asit diziliş sırası tamamen aydınlatılmış olur.
8. Polipeptit zincirindeki disülfür bağlarının ve amid gruplarının yerleri tayin edilir<sup>1,7,15,17</sup>.

### Viskotoksinlerin İzolasyonları

*Viscum album*'un toz edilmiş dalları ve gövde kısımları, % 96'lık etanol ile tüketilir ve etanollü ekstre ayrılır. Tüketmeden sonra kalan bitki artıkları % 40'lık sulu etanolla tekrar tüketilir ve elde edilen sulu-etanollü ekstre alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Ekstredeki maddeler, metil sellosol: aseton (2:3) karışımından ilave edilerek çöktürülür ve çöken kısım suda çözülür, zayıf katyon değiştirici Amberlit IRC 50 kolona tatbik edilir. Adsorbe olan fraksiyonlar IRC 50 kolondan 0.1N HCl çözeltisi ile yıkanarak alınır ve bir başka zayıf anyon değiştirici olan IR 45 kolona uygulanır. Bu suretle fazla miktarda hidroklorik asit içeren fraksiyon HCl'den arındırılmış olur. Kolondan alınan filtratın pH'sı alkali ilavesiyle 6 civarına getirilir. Bu filtrata aseton katılarak elde edilen çökelti, argininin fazla miktarda içermektedir.

Bu çökelti suda çözüldükten sonra zayıf katyon değiştirici Amberlit IRC 50 kolona uygulanır ve adsorbe olan fraksiyon 0.1 N HCl çözeltisi ile yıkanarak kolondan alınır. Daha sonra bu fraksiyon zayıf anyon değiştirici IR 45 kolona uygulanarak fazla miktardaki hidroklorik asitten arındırılır. Elde edilen filtrat pH'sı 6'ya ayarlandıktan sonra liyofilizasyonla yoğunlaştırılır ve sürekli kağıt elektroforezine tabi tutulur. Bu suretle saf viskotoksin; arginininden, tuzlardan ve ninhidrin ile reaksiyon veren maddelerden arındırılmış olarak elde edilir<sup>4</sup> (Şema 4).

### Viskotoksinlerin Miktar Tayinleri

Viskotoksinlerin miktar tayinleri, uygun asitlerle yapılan hidroliz sonucu açığa çıkan amino asitlerin miktarının, amino asit analizatörlerinde tayin edilmesiyle yapılmaktadır.

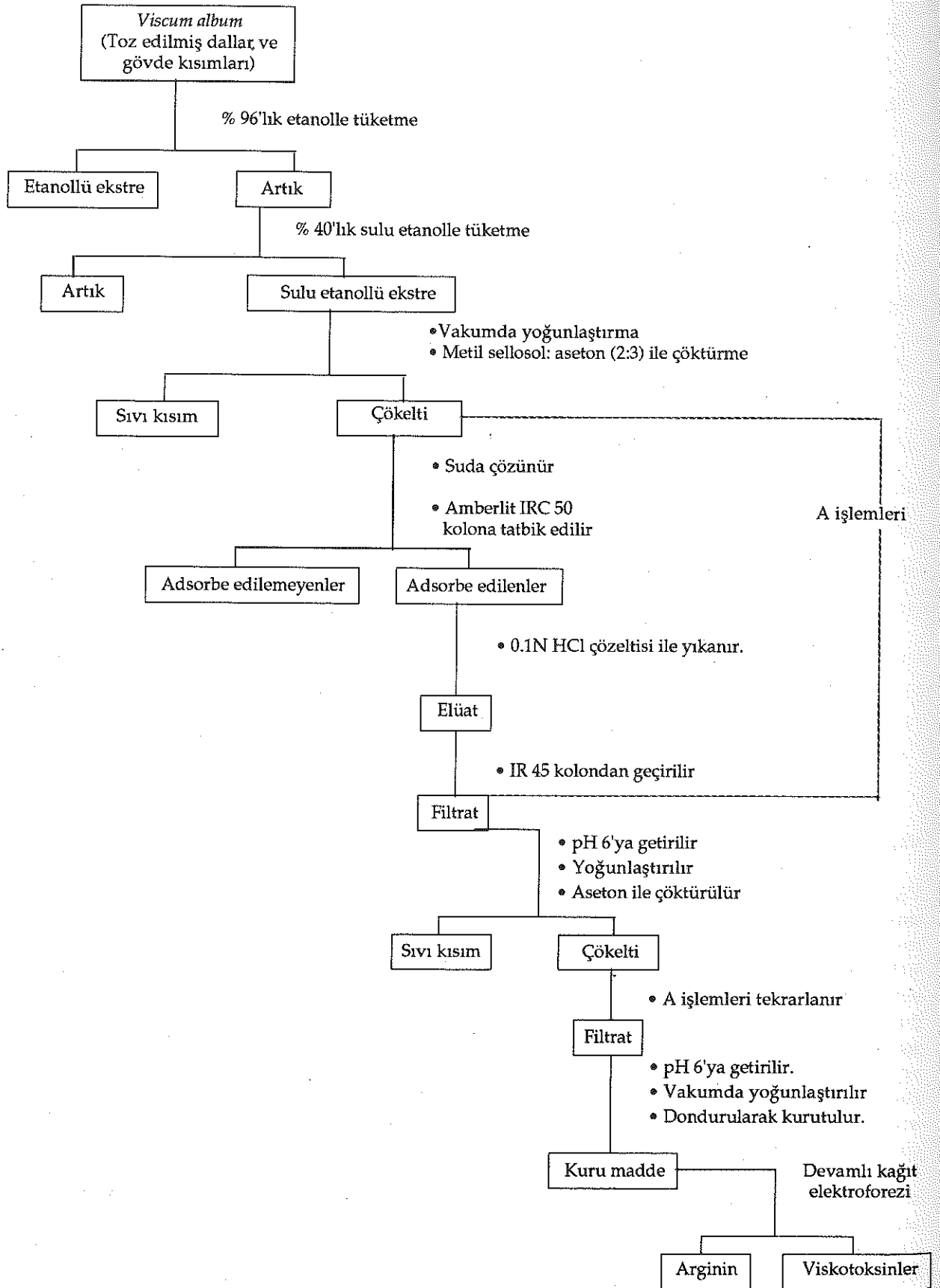
Bunun için, peptitler 110°C'de HCl ile 24 saat kaynatılarak hidroliz edilir. Daha sonra, vakum altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılır ve amino asit analizatörlerine verilir<sup>1,2</sup>.

Viskotoksinlerin miktar tayininde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi de kullanılmaktadır. Afinite kromatografisi ile temizlenmiş fermente *Viscum album* ekstrelerinin pH'sı 7'ye ayarlanır. pH'sı ayarlanmış olan ekstreler, CM-trisakril M katyon değiştirici kolondan geçirilir. 0.1 N trifloroasetik asit içeren asetonitril/su mobil fazının kullanıldığı µ-Bondapak C18 kolona uygulanır. Fotodiod-array detektör kullanılarak, 210 nm dalga boyunda yapılan analizlerde, viskotoksin A3 ve B, iki ana pik verirken, bu iki ana pik arasında minör viskotoksin olan, viskotoksin A2 piki de görülmektedir<sup>19</sup>.

### Viskotoksinlerin Biyolojik Aktiviteleri

Viskotoksinlerin, memelilere intravenöz enjeksiyonlarını takiben hipotansiyon, bradikardi, kalp kası üzerinde negatif inotropik etki, cilt ve iskelet kası damarlarında kasılma meydana gelmektedir<sup>7,10,20</sup>.

Viskotoksinler, *Viscum album*'daki sitotoksik proteinleri tanımlayan madde gruplarından bir tanesidir. Bu peptitin, L-929 hücre sisteminde (fare akciğer fibroblastı) immünomodülatör etkiye sahip olduğu görülmüştür<sup>21</sup>.



Şema 4. *V. album*'dan Viskotoksinlerin İzolasyonu

Viskotoksinler, in vitro ve in vivo olarak makrofajları stimüle etmekte ve daha çok sayıda lenfositin olgunlaşmasında görev almaktadır. Böylece, timus ağırlığında artış meydana gelmektedir. Deneysel çalışmalar sonucunda, bu peptitin uygulandığı hayvanların dalak ağırlığında % 52.1 oranında artış gözlemlenmiştir<sup>21</sup>. Viskotoksinlerin disülfür grupları hücre membran fosfolipitleri ile etkiletiğinden sitolitik etkiler görülmektedir<sup>3</sup>.

İzole edilen viskotoksinler, 0.006-0.05 µg/kg dozda antitümör aktivite göstermektedir<sup>22</sup>.

### Toksisiteleri

*Viscum album* ile olan zehirlenmeler bitkinin taşıdığı viskotoksinlerden dolayıdır.

Saf viskotoksinin, farelere intraperitoneal enjeksiyonları sonucunda LD<sub>50</sub> değeri 1.44±0.77 mg/kg olarak bulunmuştur. Buna karşılık, subkutan enjeksiyonlarında LD<sub>50</sub> değeri 2.61±0.18 mg/kg, intravenöz enjeksiyonlarda 0.1 mg/kg olarak tespit edilmiştir<sup>4,11</sup>.

### İnsanlardaki Toksikite

İnsanlarda ve hayvanlarda görülen *V. album* zehirlenmeleri ülkemizde görülmemekle beraber, yabancı ülkelerde yılbaşı zamanlarında sıklıkla rastlanmaktadır. *V. album*, genellikle yüksek ağaçlar üzerinde bulunmasına karşılık yılbaşı kutlamalarında süsleme amacıyla evlerin içine kadar getirilmektedir. İnsanlarla ilgili zehirlenme vak'alarının çoğunu meyvaları yiyen çocuklar oluşturmaktadır. En erken görülen zehirlenme belirtileri; soluk dudaklar, gözlerde iltihaplanma, genişlemiş pupiller, yavaş nabız, soluk alıp vermede güçlük ve halüsinasyonlardır. İlerleyen aşamalarda hasta komaya girmektedir.

Tedavi: *V. album* zehirlenmelerinin tedavisi semptomatiktir. Çocukların yaşı ve yenilen meyvaların sayısı semptomların şiddetini etkilemektedir. 3-4 meyvanın yenilmesi ile orta şiddetli semptomlar görülürken, çok miktarda tüketilmeleri ile gastroenterit meydana gelmektedir. *Viscum album* meyvaları, uygun bir emetik kullanılmak suretiyle kusturularak çıkartılmalıdır<sup>23</sup>.

*V. album* ile olan zehirlenmelerde en çok kalp, karaciğer gibi organlar ve sindirim sistemi etkilenmektedir<sup>24</sup>.

### Hayvanlardaki Toksikite

*Viscum album* meyvaları ile olan zehirlenme belirtileri en çok köpek ve atlarda gözlemlenmiştir.

*V. album* meyvalarını yiyen köpeklerde, baş sürekli öne eğiktir ve kaslarda koordinasyon bozukluğu görülmüştür. Hayvan ayakta duramaz hale gelmiştir. Dokunmayla kas seyirmeleri gözlenir ve salivasyonda azalma meydana gelir. İlerleyen tabloyu, koyu renkli idrar, vücut sıcaklığında ve nabızda sürekli artış izlemektedir. Bu meyveyi yemesinden 50 saat sonra hayvanların öldüğü belirtilmektedir<sup>23</sup>.

Köpekler üzerinde yapılan otopsi sonucunda akciğer, beyin, böbrek ve lenf nodüllerinde ödem; böbrek, beyin ve bağırsak kanlanmasıyla artış tespit edilmiştir<sup>23</sup>.

Atlarda ise zehirlenme semptomları olarak koordinasyon bozuklukları, abdominal ağrı ve solunum güçlüğü bildirilmiştir<sup>23</sup>.

### Kaynaklar

1. Olson, T., Samuelsson, G., "Amino Acid Sequence of Viscotoxin A2 from the European Mistletoe (*Viscum album*, Loranthaceae)", *Acta. Chem. Scand.*, 26 (2), 585-95, 1972.
2. Wagner, H., Jordan, E., Feil, B., "Studies on the Standardization of Mistletoe Preparations", *Oncology*, 43 (1), 16-22, 1988.
3. Jung, M. L., Baudino, S., Ribereau-Gayon, G., Beck, J. P., "Characterization of Cytotoxic Proteins from Mistletoe (*Viscum album* L.)", *Cancer Lett.*, 51 (2), 103-8, 1990.
4. Samuelsson, G., "Phytochemical and Pharmacological Studies on *Viscum album* L.", *Svensk. Farm. Tidskr.*, 8, 169-89, 1958.
5. Garnier, G., Debraux, G., Bézanger-Beauquesne, L., "Ressources Médicinales de la Flore Française", Paris, Vigot Frères Éditeurs, Vol. 1, 1961.

6. Konopa, J., Woynarowski, J. M., Lewandowska - Gumieniak, M., "Isolation of Viscotoxins. Cytotoxic Basic Polypeptides from *Viscum album* L.", *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 361 (10), 1525-33, 1980.
7. Samuelsson, G., Jayawardane, A. L., "Isolation and Characterization of Viscotoxin 1-Ps from *Viscum album* subspecies *austriacum* Growing on *Pinus silvestris*", *Acta. Pharm. Suec.*, 11 (2), 175-84, 1974.
8. Mellstrand, S. T., Samuelsson, G., "Phoratoxin, a Toxic Protein from the Mistletoe *Phoradendron tomentosum* subsp. *macrophyllum* (Loranthaceae)", *Eur. J. Biochem.*, 32, 143-7, 1973.
9. Franz, H., "Inhaltsstoffe der Mistel (*Viscum album* L.) als Potentielle Arzneimittel", *Pharmazie*, 40 (2), 97-103, 1985.
10. Varro, E. T., Robbers, J. E., Brady, L. R., "Pharmacognosy", Eighth Edt., Philadelphia, Lea & Febiger, (1981).
11. Luther, P., Becker, H., "Die Mistel", Berlin, Springer-Verlag, 1987.
12. Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E. M., "Drogenanalyse", Berlin, Springer-Verlag, 1983.
13. Deliorman, D., "Viscum album L. Bitkisi üzerinde Farmakognozik Araştırmalar", G. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 1994.
14. Rodwell, V., "Amino acids & Proteins", in "Review of Physiological Chemistry" (Harper, H. A. ed.), California, Lange Medical, 1971.
15. Devlin, T. M., *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, Third Edition, New York, A John Wiley and Sons, Inc. Publication, 1993.
16. Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M., *Principles of Biochemistry*, Second Edition, New York, Worth Publishers, 1993.
17. Olson, T., Samuelsson, G., "Disulfide Bonds of Viscotoxin A2 from the European Mistletoe (*Viscum album*, Loranthaceae)", *Acta. Pharm. Suec.*, 11 (4), 381-6, 1974.
18. Murray, R. K., "Glikoproteinler ve Proteoglikanlar", in "Harper'in Biyokimyası" (Murray, R. K., Mayes, P. A., Granner, D. K., Rodwell, V. W., ed.), İstanbul, Barış Kitabevi, 741-63, 1993.
19. Jordan, E., Wagner, H., "Detection and Quantitative Determination of Lectins and Viscotoxins in Mistletoe Preparations", *Arzneim. Forsch./Drug Res.*, 36 (8), 428-33, 1986.
20. "Martindale the Extra Pharmacopoeia", London, The Pharmaceutical Press, Thirtieth ed., 1993.
21. Kuttan, G., Kuttan, R., "Immunological Mechanism of Action of the Tumor Reducing Peptide from Mistletoe Extract (NSC 635089) Cellular Proliferation", *Cancer Lett.*, 66 (2), 123-30, 1992.
22. Ulubelen, A., "The Screening of Plants for Their Antitumor Activities", *Pharm. Weekblad.*, 108, 1186-92, 1973.
23. Cooper, M. R., Johnson, A. W., "Poisonous Plants in Britain and Their Effects on Animals and Man", London, E. & S. Livingstone Ltd., 1984.
24. Murray, V., Perharic-Walton, L., Simpson, G., Edwards, N., "Toxicological Problems Resulting from Exposure to Traditional Medicines and Food Supplements", *News. Letter*, 1 (1), 3, 1994.