



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİY-DR-2010-0002**

**AYDIN YÖRESİ'NDE KULLANILAN BAZI TIBBİ
BİTKİLERİN ANTİOKSİDANT VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Özlem Sultan ASLANTÜRK

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK**

AYDIN-2010

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİY-DR-2010-0002**

**AYDIN YÖRESİ'NDE KULLANILAN BAZI TIBBİ
BİTKİLERİN ANTİOKSİDANT VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Özlem Sultan ASLANTÜRK

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK**

AYDIN-2010

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Özlem Sultan ASLANTÜRK tarafından hazırlanan “ **Aydın Yöresi’nde Kullanılan Bazı Tıbbi Bitkilerin Antioksidant ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı tez 12.03.2010 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan: Prof. Dr. Betül BÜRÜN	Muğla Üniversitesi
Üye : Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI	Adnan Menderes Üniversitesi
Üye : Doç. Dr. Serdar KOCA	Adnan Menderes Üniversitesi
Üye : Yrd. Doç. Dr. Selim SEKKİN	Adnan Menderes Üniversitesi
Üye : Yrd. Doç. Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK (Danışman)	Adnan Menderes Üniversitesi

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ
Enstitü Müdürü

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı : Özlem Sultan ASLANTÜRK

İmza :

ÖZET

Doktora Tezi

AYDIN YÖRESİ'NDE KULLANILAN BAZI TIBBİ BİTKİLERİN ANTIÖKSİDANT VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Özlem Sultan ASLANTÜRK

Adnan Menderes Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK

Bu çalışmada, Aydın yöresinde halk tarafından gıda, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılan 4 farklı tıbbi bitki türünden *Euphorbia platyphyllos* L., *Vitex agnus-castus* L., *Dracunculus vulgaris* Schott., *Asphodelus aestivus* Brot.'dan farklı kısımlar kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrelerin (dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon)) antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi üzerinden DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yöntemi ile belirlenmiştir. Ekstrelerin MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi Trypan Blue Exclusion Yöntemiyle ve ekstrelerin MCF-7 hücrelerinin genetik materyali üzerindeki etkileri de Comet Yöntemi ile araştırılmıştır. Denemelerde kontrol grubu olarak DPPH yönteminde standart bir antioksidan olan rutin, sitotoksikite denemelerinde ve comet assayda ise yalnızca besi yerinde büyütülen MCF-7 hücreleri ve besi yeri+DMSO (% 0,1'lik)'da büyütülen MCF-7 hücreleri kullanılmıştır.

Sonuç olarak, bitkilerden elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi rutin ile karşılaştırıldığında gerek ekstre tipine ve gerekse uygulama konsantrasyonu artışına bağlı olarak farklılıklar göstermiştir. Denenen bitkiler içerisinde en yüksek radikal süpürücü aktiviteye sahip ekstreler *E. platyphyllos* L.'dan elde edilmiş, en etkili ekstre ise metanol ekstresi olmuştur. Serbest radikal süpürücü aktivitesinin açısından en etkisiz ekstreler ise *D.vulgaris* Schott'dan elde edilen ekstreler olmuştur.

Denemede kullanılan ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi kontrol gruplarına göre uygulama süresi ve konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır (p<0,05). MCF- hücreleri üzerindeki en yüksek sitotoksik etkiyi dekoksasyon ekstresi göstermiş, en yüksek in vitro sitotoksik etkiye sahip ekstreler ise *V.agnus-castus*'dan elde edilmiştir.

MCF-7 hücrelerinde yüksek sitotoksik etki meydana getiren ekstrelerin seçilen yüksek konsantrasyonları, MCF-7 hücrelerinde kontrol gruplarına göre önemli derecede DNA hasarı da meydana getirmiştir ve MCF-7 hücrelerinde meydana gelen bu hasarlar istatistiki anlamda da önem taşımaktadır ($p<0,05$). MCF-7 hücreleri üzerindeki en yüksek genotoksik etkiyi sulu ekstreler göstermiş, en yüksek hasar yapıcı etki ise *E. platyphyllos* L.'dan elde edilen ekstreler ile elde edilmiştir.

2010, 183 sayfa

Anahtar Sözcükler:

Euphorbia platyphyllos L., *Vitex agnus-castus* L., *Dracunculus vulgaris* Schott., *Asphodelus aestivus* Brot., Comet Yöntemi, DPPH süpürücü aktivite, MCF-7 hücreleri, Sitotoksik etki, Trypan Blue Exclusion Yöntemi

ABSTRACT

Ph.D Thesis

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC EFFECTS OF SOME MEDICINAL PLANTS USED IN AYDIN REGION

Özlem Sultan ASLANTÜRK

Adnan Menderes University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK

In this study, antioxidant activity of different extracts (diethyl ether, petroleum ether, ethyl acetate, methanol and water (infusion and decoction)) prepared at different concentrations (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 and 300 µg/ml) from 4 medicinal plants (*Euphorbia platyphyllos* L., *Vitex agnus-castus* L., *Dracunculus vulgaris* Schott. and *Asphodelus aestivus* Brot.) used by people for dietary, spicing and treatment purposes in Aydın region was investigated using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method through DPPH free radical scavenging activity. In vitro cytotoxic effect of these extracts on MCF-7 human metastatic breast cancer cells was examined using Trypan Blue Exclusion Method and the effects of extracts on genetic material (DNA) of MCF-7 cells were researched using Comet assay method (SSGE-Single Cell Gel Electrophoresis). Rutin, a standard antioxidant, was used as control group in DPPH scavenging method and MCF-7 cells growing in culture medium and MCF-7 cells growing in culture medium+DMSO were used as controls in cytotoxicity experiments and comet assay.

As a result, when DPPH radical scavenging activity of the extracts obtained from these plants is compared to rutin, differences were observed according to both extract type and concentrations. Among the experimented plants, extracts of *E. platyphyllos* represented the highest radical scavenging activity, and methanol extract turned out to be the most effective extract. Extracts obtained from *D. vulgaris* Schott stood out as the least effective in terms of DPPH radical scavenging activity.

In vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells of extracts used in the experiments increased depending on application period and concentration increase ($p < 0,05$). The highest cytotoxic effect on MCF-7 cells was represented by decoction extract, whereas the extracts with highest in vitro cytotoxic effect were obtained from *V. agnus-castus*.

Selected high concentrations of plant extracts, which created high cytotoxic effect on MCF-7 cells, led to significant DNA damage on MCF-7 cancer cells in comparison with control groups; this damage created on MCF-7 cells has statistical significance,

too ($p < 0,05$). Aqueous extracts displayed the highest genotoxic effect on MCF-7 cells; and the highest damaging effect was obtained with extracts taken from *E. platyphyllos* L.

2010, 183 pages

Key Words:

Medicinal plants, *Euphorbia platyphyllos* L., *Vitex agnus-castus* L., *Dracunculus vulgaris* Schott., *Asphodelus aestivus* Brot., Comet assay, DPPH scavenging activity, MCF-7 cells, cytotoxicity, Trypan Blue Exclusion Method

ÖNSÖZ

Uçsuz bucaksız bilim okyanusunda belki de minicik bir damla olan, ancak büyük bir emek, sabır ve özveriyle gerçekleştirilen çalışmaların bir ürünü olan doktora tezimin benim için anlamını sözcüklerle ifade etmek çok zor. Bu zorlu yolda yanımda ve bana yardımcı olan, kalbi ve hoşgörüsü büyük insanlar vardı. Bana ayrılan bu sınırlı alanda mümkün olduğunca onlara teşekkür etmek istiyorum.

Öncelikle üzerimde en fazla emeği olan, bu uzun ve zorlu süreçte bilgisini ve deneyimlerini benimle paylaşmakla kalmayıp kimi zaman bir dost, kimi zaman bir anne ya da abla edasıyla bana her konuda sahip çıkan ve destek olan, iyi ya da kötü her anımda elimden tutan, her zaman bir yol bulan, sabır ve hoşgörü dolu kocaman yüreğindeki sevgiyi benden esirgemeyen danışmanım Yrd. Doç.Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Değerli görüş ve önerileri ile tezime yaptıkları katkılardan dolayı, Tez izleme komitesinde yer alan Muğla Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sayın Betül BÜRÜN'e ve Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Sayın Serdar KOCA'ya çok teşekkür ederim.

Tez çalışması kapsamında kullanılan bitkilerin çiçeklenme dönemlerinin belirlenmesi ve bitkilerin toplanmasında yardımcı olan Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Elemanı Dr. Mesut KIRMACI'ya ve toplanan bitkilerin sistematik tayinini gerçekleştiren Yrd. Doç. Dr. Sayın Özkan EREN'e teşekkür ederim.

Tez çalışmasında kullanılan MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücrelerinin temininde ve hücre kültürü yöntem ve prensiplerini öğrenmemde bana yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi ve Bilim ve Teknoloji Araştırma Merkezi Müdürü Doç. Dr. Sayın Serhan SAKARYA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin, comet assay ile belirlenen DNA hasarını floresan mikroskopta görüntüleme aşamasında laboratuvar olanaklarından yararlanmama imkân sağladığı için ve gösterdiği misafirperverlik nedeniyle Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sayın Tülin KARAGENÇ ile çalışma arkadaşlarına çok teşekkür ederim.

Malzeme alımları gerçekleşene kadar laboratuvar malzemelerini benimle paylaşarak tez çalışmamın aksamaması konusunda yardımcı oldukları için Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Elemanları Öğretim Görevlisi Deniz AKTAŞ UYGUN ve Arş. Gör. Murat UYGUN'a teşekkür ederim.

Ayrıca, tez çalışmam süresince laboratuvar imkanlarından faydalanmama olanak sağladıkları için Adnan Menderes Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma Merkezi yönetimine ve çalışanlarına;

Tez projemizi (FEF-07011 No.lu Proje) destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Ve doğduğum andan bugüne kadar beni özveriyle yetiştiren, maddi manevi her konuda destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimle...

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
İNTİHAL BEYAN SAYFASI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ.....	vii
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
I-GİRİŞ.....	1
II-KURAMSAL TEMELLER.....	3
III-MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
A-Tez Çalışmasında Kullanılacak Bitkilerin Seçimi.....	17
1. Toplanan Bitkilerin Sistematığıne ve Halk Arasında Kullanılış Biçimine İlişkin Bilgiler.....	18
a- Familya: Euphorbiaceae (Sütleğengiller).....	18
b- Familya: Verbenaceae (Mineçiçeğigiller).....	20
c- Familya: Araceae (Yılanyastığıgiller).....	21
d- Familya: Liliaceae (Zambakgiller).....	22
2. Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Saklanması.....	23
a- Bitkilerin Toplanması.....	23
b - Bitkilerin Kurutulması.....	24
c- Kurutulan Bitkilerin Muhafaza Edilmesi.....	25
B- Denemelerde Kullanılacak Bitkilerden Farklı Yöntemlerle Ekstrelerin Elde Edilmesi.....	26
1- Kimyasallar ve Makine-Teçhizat.....	26
a- Kimyasallar.....	26
b- Makine-Teçhizat.....	26
2- Bitkilerin Ekstraksiyonu.....	27
a- Dietil Eter Ekstraksiyonu.....	27
b- Petrol Eteri Ekstraksiyonu.....	28

c- Etil Asetat Ekstraksiyonu.....	29
d- Metanol Ekstraksiyonu.....	31
e- Sulu Ekstreler.....	32
1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi.....	32
2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi.....	33
C-Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin Antioksidan	
Aktivitesinin Belirlenmesi.....	34
1- DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Aktivitenin Belirlenmesinde	
Kullanılan Ekstre Çözeltilerinin Hazırlanması.....	34
2- Ekstrelerin DPPH Üzerinden Serbest Radikali Süpürücü	
Aktivitesinin Belirlenmesi.....	35
D-Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 İnsan Meme Metastatik	
Karsinoma Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisinin	
Belirlenmesi.....	36
1- Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisinin	
Belirlenmesi için Kullanılacak Ekstre Çözeltilerinin Hazırlanması	36
2-Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkilerinin	
Belirlenmesi.....	37
a- MCF-7 Hücrelerinin Temini	37
b- MCF-7 Hücrelerinin Çoğaltılması ve Saklanması.	38
c- MCF-7 Hücrelerinin Yeniden Canlandırılması ve Çoğaltılması.....	39
d- Çoğaltılan MCF-7 Hücrelerinin 24-Kuyucuklu Plaklara (24-Well Plate)	
Ekilmesi.....	39
e- MCF-7 Hücrelerine Ekstre Uygulamalarının Yapılması	40
f- Trypan Blue Exclusion (Tripan mavisi) Yöntemi ile in vitro Sitotoksitenin	
Belirlenmesi.....	40
E-Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücrelerinin Genetik	
Materyali Üzerindeki Etkisinin Comet Yöntemi (Comet Assay) ile	
Belirlenmesi.....	41
F- İstatistikî Analiz.....	45
IV-BULGULAR.....	46
A-Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin Antioksidan Aktiviteleri.....	46

1- <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. (Sütleğen) Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin	
DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktiviteleri.....	46
a- Dietil Eter Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	48
b- Petrol Eteri Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	48
c- Etil Asetat Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	49
d- Metanol Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	50
e- Sulu Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	51
1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi	51
2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi	52
2- <i>Vitex agnus-castus</i> L. (Hayıt, Beşparmak otu) Bitkisinden Elde Edilen	
Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	54
a- Dietil Eter Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	56
b- Petrol Eteri Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	56
c- Etil Asetat Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	57
d- Metanol Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	58
e- Sulu Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	58
1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi	59
2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi.....	60
3- <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. (Yılan yastığı, Yılan bıçağı) Bitkisinden Elde	
Edilen Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	62
a- Etil Asetat Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	63
b- Metanol Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	64
e- Sulu Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	65
1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi.....	65
2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi	66
4- <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. (Çiriş otu) Bitkisinden Elde Edilen	
Ekstrelerin Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	68
a- Dietil Eter Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	70
b- Etil Asetat Ekstresinin Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi.....	71
c- Metanol Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	72
d- Sulu Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	73

1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi	73
2- Dekoksasyon (Kaynatma) Ekstresi.....	74
B- Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 İnsan Meme Karsinoma	
Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkileri.....	77
1- <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin	
MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi.....	78
a- Dietil Eter Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	80
b- Petrol Eteri Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	81
c- Etil Asetat Ekstraktının MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	82
d- Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	84
e- Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	85
1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi.....	85
2- Dekoksasyon (Kaynatma) Ekstresi.....	86
2- <i>Vitex agnus-castus</i> L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin	
MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi.....	90
a- Dietil Eter Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	92
b-Petrol Eteri Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	93
c-Etil Asetat Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	94
d-Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	95
e- Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi.....	97
1-İnfüzyon (Demleme) Ekstresi	97
2-Dekoksasyon (Kaynatma) Ekstresi.....	98

3-<i>Dracunculus vulgaris</i> Schott Bitkisinden Elde Edilen	
Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi.....	101
a- Etil Asetat Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	102
b- Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	104
c- Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	105
1-İnfüzyon (Demleme) Ekstresi.....	105
2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi.....	106
4-<i>Asphodels aestivus</i> Brot. Bitkisinden Elde Edilen	
Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi.....	109
a- Dietil Eter Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	110
b- Etil Asetat Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	112
c- Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	113
d- Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro	
Sitotoksik Etkisi.....	114
1-İnfüzyon (Demleme) Ekstresi.....	114
2-Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi.....	116
C- Sitotoksik Etkisi Belirlenen Ekstrelerin MCF-7 Hücrelerinde Oluşturduğu	
Genetik Hasarlar.....	120
1- <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7	
Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri.....	120
2- <i>Vitex agnus-castus</i> L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7	
Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri.....	125
3- <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7	
Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri.....	130
4- <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7	

Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri.....	135
V-TARTIŞMA VE SONUÇ.....	141
KAYNAKLAR.....	158
ÖZGEÇMİŞ.....	181

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AYDN	: Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl
MCF-7	: İnsan Meme Metastatik Karsinoma Hücresi
EMEM	: Eagle's Minimum Essential Medium
NMA	: Normal melting agarose (Normal erime noktasına sahip agaroz)
LMPA	: Low melting point agarose (Düşük erime noktalı agaroz)
HIV	: Human immunodeficiency virus (İnsanda bağışıklık noksanlığına neden olan virüs)
Na-pyruvate	: Sodyum piruvat
NaCO ₃	: Sodyum bikarbonat
FBS	: Fetal Bovine Serum (Fetal sığır serumu)
PBS	: Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltilisi)
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
DMSO	: Dimethylsulfoxide (Dimetil Sülfoksit)
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GHİ	: Genetik Hasar İndeksi
°C	: Santigrad derece
IC ₅₀	: Inhibition Concentration (DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon)
CC ₅₀	: Cytotoxic Concentration (Hücre canlılığını %50 azaltmak için gereken konsantrasyon)
mM	: Milimolar
µg	: Mikrogram
ml	: Mililitre
g	: Gram
%	: Yüzde oranı
V	: Volt
mA	: Miliamper
dk	: Dakika

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. (Sütleğen).....	19
Şekil 3.2. <i>Vitex agnus-castus</i> L. (Hayıt, Beşparmak otu)	21
Şekil 3.3. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. (Yılanıyastığı, Yılan bıçağı).....	22
Şekil 3.4. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. (Çiriş otu, Hıdırellez kamçısı).....	23
Şekil 3.5. Kurutulmaya bırakılan bitkiler (<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.).....	25
Şekil 3.6. Kurutulmuş bitki kısımlarının muhafazası.....	25
Şekil 3.7. MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücreleri.....	38
Şekil 3.8. MCF-7 hücrelerinde çeşitli derecelerdeki DNA Hasarları.....	45
Şekil 4.1.a. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	48
Şekil 4.1.b. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. petrol eteri ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	49
Şekil 4.1.c. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	50
Şekil 4.1.d. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	51
Şekil 4.1.e. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	52
Şekil 4.1.f. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. dekoksasyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	53
Şekil 4.1.g. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.' den elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	54
Şekil 4.2.a. <i>Vitex agnus- castus</i> L. dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	56
Şekil 4.2.b. <i>Vitex agnus- castus</i> L. petrol eteri ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	57
Şekil 4.2.c. <i>Vitex agnus- castus</i> L. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	58
Şekil 4.2.d. <i>Vitex agnus- castus</i> L. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	59

Şekil 4.2.e. <i>Vitex agnus- castus</i> L. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	60
Şekil 4.2.f. <i>Vitex agnus- castus</i> L. dekoksasyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	61
Şekil 4.2.g. <i>Vitex agnus-castus</i> L.’ den elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	62
Şekil 4.3.a. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	64
Şekil 4.3.b. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	65
Şekil 4.3.c. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	66
Şekil 4.3.d. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. dekoksasyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	67
Şekil 4.3.e. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.’ dan elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi.....	68
Şekil 4.4.a. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	71
Şekil 4.4.b. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	72
Şekil 4.4.c. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	73
Şekil 4.4.d. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	74
Şekil 4.4.e. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. dekoksasyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	75
Şekil 4.4.f. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.’ dan elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi	76
Şekil 4.5.a. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi.....	81
Şekil 4.5.b. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	82

Şekil 4.5.c. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	83
Şekil 4.5.d. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	85
Şekil 4.5.e. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	86
Şekil 4.5.f. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L. deoksasyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	87
Şekil 4.5 g. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.'den elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	88
Şekil 4.5 h. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.'den elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	89
Şekil 4.6.a. <i>Vitex agnus-castus</i> L. dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	93
Şekil 4.6.b. <i>Vitex agnus-castus</i> L. petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	94
Şekil 4.6.c. <i>Vitex agnus-castus</i> L. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	95
Şekil 4.6.d. <i>Vitex agnus-castus</i> L. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	96
Şekil 4.6.e. <i>Vitex agnus-castus</i> L. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	98
Şekil 4.6.f. <i>Vitex agnus-castus</i> L. deoksasyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	99
Şekil 4.6 g. <i>Vitex agnus-castus</i> L.'den elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	100
Şekil 4.6 h. <i>Vitex agnus-castus</i> L.'den elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	100

Şekil 4.7.a. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	104
Şekil 4.7.b. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	105
Şekil 4.7.c. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	106
Şekil 4.7.c. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. dekoksasyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	107
Şekil 4.7.e. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.'dan elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	108
Şekil 4.7.f. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.'dan elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	109
Şekil 4.8.a. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi.....	112
Şekil 4.8.b. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	113
Şekil 4.8.c. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	114
Şekil 4.8.d. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	115
Şekil 4.8.e. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot. dekoksasyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi	117
Şekil 4.8.f. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.'dan elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	118
Şekil 4.8.g. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.'dan elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması.....	119
Şekil 4.9. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.'den elde edilen ekstre uygulamalarından	

sonra gözlenen hasarlı hücre (%).....	123
Şekil 4.10. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler.....	124
Şekil 4.11. <i>Vitex agnus-castus</i> L.'den elde edilen ekstre uygulamalarından sonra gözlenen hasarlı hücre değerleri (%).....	127
Şekil 4.12. <i>Vitex agnus-castus</i> L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler.....	129
Şekil 4.13. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.'dan elde edilen ekstre uygulamalarından sonra gözlenen hasarlı hücre değerleri (%).....	132
Şekil 4.14. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler.....	134
Şekil 4.15. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.'dan elde edilen ekstre uygulamalarından sonra gözlenen hasarlı hücre değerleri (%).....	137
Şekil 4.16. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler.....	139

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Tez çalışması kapsamında kullanılmak üzere toplanan bitkiler, toplandığı yer ve toplanma tarihi.....	24
Çizelge 3.2. Tez çalışması kapsamında kullanılmak üzere seçilen bitkilerden Ekstre elde edilmesinde kullanılan kısımlar.....	24
Çizelge 4.1. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.'den elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ve IC ₅₀ değerleri.....	47
Çizelge 4.2. <i>Vitex agnus castus</i> L.'den elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ve IC ₅₀ değerleri.....	55
Çizelge 4.3. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. tan elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ve IC ₅₀ değerleri.....	63
Çizelge 4.4. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.' tan elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ve IC ₅₀ değerleri.....	69
Çizelge 4.5. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi ve CC ₅₀ değerleri.....	79
Çizelge 4.6. <i>Vitex agnus-castus</i> L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi ve CC ₅₀ değerleri	91
Çizelge 4.7. <i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi ve CC ₅₀ değerleri	102
Çizelge 4.8. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.'dan elde edilen ekstraktların MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi ve CC ₅₀ değerleri	110
Çizelge 4.9. <i>Euphorbia platyphyllos</i> L.'den elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri.....	121
Çizelge 4.10. <i>Vitex agnus-castus</i> L.'den elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri.....	126
Çizelge 4.11. <i>Dracunculus vulgaris</i> Scott.'dan elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri.....	131

Çizelge 4.12. <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.'dan elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri.....	136
---	-----

I-GİRİŞ

Bitkiler, tarih boyunca en önemli besin maddeleri olarak tercih edilmelerinin yanı sıra ilaç sanayisi, kozmetik ve parfümeri (güzel koku sağlamada), yiyecek endüstrisi (baharat, tatlandırıcı ve koruyucu madde olarak), ev temizlik ürünleri ve insektisid imalatı gibi pek çok endüstriyel alanda ve bunlara ilaveten bitkilerden elde edilen uçucu yağ ve bileşenleri kas gevşetici, antibakteriyel ve antifungal olarak sıklıkla kullanılmaktadır (De Oliveira *et al.*, 1997; Gomes-Carneiro *et al.*, 2005; Evandri *et al.*, 2005; Benli ve Yiğit, 2005; İpek *et al.*, 2005).

İnsanların gıda, giyim ve tedavi ihtiyaçlarını bitkilerden karşılaması insanlık tarihi kadar eskidir (Rates, 2001). Tarih öncesi devirlerden bu yana bütün kıta ve kültürlerde sentetik ilaçlar keşfedilene kadar bitkiler tıbbi tedavinin esas kaynağını oluşturmuştur (Dahanukar *et al.*, 2000; Exarchou *et al.*, 2002). İlk insanlar bitkilerle tedavi yollarını bitki ve hayvanları izleyerek, deneme yanılma yolu ile bulmuşlardır (Kırbağ, 1999). Tarih öncesi dönemlerde yazı olmadığı için, öğrenilen bu bilgilerin sözlü aktarımlarla kuşaktan kuşağa geçmiş olduğu yapılan kazılarla ortaya çıkmıştır. Bitkilere dair öğrenilen bilgiler yazının icadından sonra M.Ö. 2000 başlarından itibaren dikkatle kaydedilmiş ve kuşaktan kuşağa zenginleştirilerek aktarılmıştır. Sümerler tarafından M.Ö. 3000-700 yıllarında Mezopotamya'da kullanılmış olan bitkilere dair ilk yazılı bilgiler, Asur Kralı Assurbanipal'in (M.Ö. 668-627) [kitaplığında](#) çivi yazısıyla yazılmış olan 800 kil tablette bulunmuştur. Yüz yirmi mineral maddeye karşılık ikiyüz elli bitkisel drog adının geçtiği kil tabletlerdeki bilgiler aynı zamanda en eski eczacılık kayıtları olarak kabul edilmektedir (Brian, 2002).

Kuşaktan kuşağa aktarılan bu bilgiler sayesinde pek çok insan sağlıklı yaşamayı başarırken, hastalananlar da bu bilgilerden yararlanarak yeniden sağlıklarına kavuşmuşlardır. Uygarlık ilerledikçe endüstriyel devrim, organik kimya, tekstil ve ilaç sanayinin gelişimi ile insanlar gittikçe doğadan uzaklaşmış ve doğadaki ilaçların yerine sentetik ürünler ön plana çıkmıştır (Çırak ve Kevseroğlu, 2004). Yirminci

yüzyılda tıp biliminin muazzam bir şekilde gelişmesine rağmen, günümüzde ilaç endüstrisinin ürettiği ilaçların pahalı oluşu ve sentetik ürünlerin bazı sakıncalarının ortaya çıkması, insanların çareyi tekrar doğal bitkisel ürünlerde aramasına neden olmuş ve organik kökenli tedavi, tekstil ve gıda konusunda yeni arayışlar başlamıştır (Yue and Shu, 1998., Jain *et al.*, 2007). Dünya geneline bakıldığında insanların büyük bir kısmının beslenmeden kozmetik ürünlere kadar birçok alanda doğaya dönüş yaşamakta ve alternatif-destekleyici tedavi yöntemlerinden en az birini kullanmaktadır. Dünya sağlık örgütü (WHO) verileri gelişmekte olan ülkelerde sentetik ilaçların pahalı olması, yan etkisinin sıkça görülmesi ve tıbbi bitkilerin doğadan kolaylıkla elde edilebilmesi gibi nedenlerle insanların % 80'nin (yaklaşık 3.3 milyar insan) geleneksel tedavi yöntemlerini kullandığını ortaya koymaktadır (Cordell, 1995; Brian, 2002; Verschaeve *et al.*, 2004; Çelik ve Çelik, 2007).

Geleneksel halk hekimliğinde kullanılan bitkiler zamanla bilimsel bir süzgeçten geçirilerek yeniden değerlendirilmiş ve bitkilerle tedavi (fitoterapi) bir bilim dalı haline gelmiştir. Bitki ve tedavi sözcüklerinden oluşan fitoterapi terimi ilk kez, Fransız hekim Henri Leclerc (1870-1955) tarafından 'La Presse Medical' adlı [dergide](#) 1939 yılında kullanılmıştır. İnsanlık tarihinin bilinen en eski doğal tedavi yöntemlerinden olan fitoterapi, bitkilerin tamamının veya bazı bölümlerinin kullanılması ile hazırlanarak elde edilen doğal ilaçlarla hastalıkları bilimsel temele dayalı akılcı bir yaklaşımla önlemeyi ve tedavi etmeyi amaçlamaktadır. Günümüzde de bu bilim dalı giderek gelişmekte ve daha fazla önem kazanmaktadır.

II- KURAMSAL TEMELLER

Tıbbi bitkiler ve tıbbi bitkilerden elde edilen ekstre, drog vb. ürünler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tıbbi bitkilerden elde edilen ekstrelerin çoğunun biyolojik etkileri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilimsel veriler hala yetersizdir. Bu nedenle, tıbbi bitkiler ve tıbbi bitkilerden elde edilen ürünlerin biyolojik etkilerinin bilimsel olarak araştırılmasına olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkilerden ilk aktif bileşiklerin elde edilmesi 1800'lü yılların başlarına rastlamaktadır. İlk ticari saf doğal ürün olan morfin, 1826 yılında E. Merck tarafından üretilmiştir. Tıbbi bitkilerle yapılan ilaç araştırmaları sonucunda morfinin yanı sıra halen kullanılmakta olan ilk ilaçların (kokain, kodein, digitoksin ve kinin vb) aktif bileşiklerinin izolasyonu yapılmıştır. Tıbbi bitkilerden farmakolojik olarak aktif bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanması günümüzde de devam etmektedir (Brian, 2002; Balunas and Kinghorn, 2005). Özellikle, vücudu serbest radikallerin yol açtığı hasara karşı koruma yeteneğinde olan maddelerin keşfedilmesine yönelik yoğun bir ilgi vardır (Couladis *et al.*, 2003).

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir. Kararlı hale geçebilmek için diğer bileşiklerle oldukça hızlı reaksiyona girme eğilimindedirler. Genellikle en yakın kararlı moleküle saldırarak, onun elektronunu alırlar ve saldırıya uğrayan molekül elektronunu kaybettiğinde, kendisi bir zincir reaksiyonu başlatan bir serbest radikal haline gelir. Bu süreç bir kez başladığında zincirleme reaksiyonlar devam eder ve sonuçta canlı hücre zarar görür (Aslantürk, 2003). Serbest radikaller nötralize edilmezse vücutta hücre zarı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, zar lipid ve proteinlerini yok ederek hücre zarını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek, çekirdek zarını geçip çekirdekdeki genetik materyale etki ederek DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sistemini zorlamak, yaşlanma sürecini hızlandırmak, beyindeki sinir hücrelerine zarar vererek Parkinson veya Alzheimer hastalığına yol açmak gibi ciddi hasarlara neden olabilirler (Aslantürk, 2003). Serbest radikaller klinik ve

epidemiyolojik çalışmalarla ortaya konduğu gibi onkogenleri aktive ederek aşırı hücre çoğalmasına ve tümör supressör genlerin inaktive edilmesiyle de karsinogenезin başlamasına yol açarlar. Hücre çoğalması ve farklılaşmasında rol oynayan transkripsiyon faktörlerini kodlayan c-fos, c-myc, c-jun ve b-aktin genleri ile bir transkripsiyon faktörü olan NF κ B geni serbest radikaller tarafından aktifleştirilirler ve bu durum da karsinogenезin başlaması için zemin hazırlar (Doğan ve Zaman, 1997).

Vücut, serbest radikal hasarından korunmak için antioksidanlardan oluşan bir savunma sistemine sahiptir. Antioksidanlar, oksidatif zincir reaksiyonlarının başlamasını ya da ilerlemesini engelleyerek lipidlerin ve/veya diğer moleküllerin oksidasyonunu geciktirebilen veya engelleyebilen bileşiklerdir. Antioksidan aktiviteye sahip olan kimyasallar meyve, sebze ile tıbbi bitkilerin pek çoğunda yoğun miktarda ve doğal olarak bulunmaktadır (Velioğlu *et al.*, 1998; Capecka *et al.*, 2005). Tıbbi bitkilerde, yüksek antioksidan aktivite gösteren polifenoller, flavonoidler, C vitamini, E vitamini ve karotenoidler (Panovska *et al.*, 2005; Mosaddik, 2003), quinonlar, kumarinler, lignanlar, alkaloidler, aminler (Cai *et al.*, 2004), betalainler gibi nitrojen bileşikler; vitaminler ve karotenoidleri de içine alan terpenoidler gibi çok sayıda serbest radikal temizleyici bileşik ve antioksidan aktiviteye sahip bazı diğer endojen metabolitler bulunmaktadır (Velioğlu *et al.*, 1998). Epidemiyolojik çalışmalar, antioksidan bileşiklerin çoğunun anti-inflamatör, anti-aterosklerotik, anti-mutajenik, antibakteriyel, anti-viral veya anti-tümör aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Örneğin, flavonoidler grubuna ait flavonların ve özellikle de luteolin'in; protein kinaz C ve tirozin kinazlar gibi, sinyal akışı ve hücre transformasyonunda önemli rol oynadığı bilinen enzimlerin aktif inhibitörleri olduğu belirtilmektedir (Michaelis *et al.*, 2002). Bu maddeler, karsinogenleri inaktive ederek ve mutajenlerin ekspresyonunu engelleyerek malignan tümör oluşumunun çeşitli aşamalarına etki edebilmektedirler (Okwu, 2005).

Bitkilerin ikincil metabolik faaliyetleri sırasında ortaya çıkarak depolanan, sadece besin olarak tüketildikleri zaman insan sağlığı için yararlı etkilerde bulunan biyoaktif bileşiklere bitki kimyasalları (fitokimyasallar) denir (Visioli *et al.*, 2000). Fonksiyonel gıda özelliği gösteren fitokimyasallar; karotenoidler, flavonoidler,

polifenoller, fitosteroller, fitoestrogenler, indoller ve sülfidler olarak gruplandırılmaktadırlar. Fitokimyasallar sahip oldukları antioksidan aktiviteleri sayesinde birçok olumsuz duruma karşı koruyucu ve iyileştirici bir etkiye sahiptirler. Fitokimyasallar barsak florasını, safra asitlerini ve pH'yı düzenledikleri gibi, intrasellüler matrikslerin bütünlüğünün korunmasını üstlenerek hücrenin dış etkenlere karşı korunmasını da sağlarlar. Ayrıca karsinogen özelliği gideren enzimlerin aktivitesini arttırarak tümör oluşumu ve kanserleşmede önemli rol oynayan nitrozamin oluşumunu engelleyici etkide bulunurlar (Güney *et al.*, 2003). Fitokimyasalların önemli bir grubunu oluşturan fenolik bileşiklerin serbest radikal temizleme ve antioksidan aktivitesi genellikle fenolik moleküllerin aromatik halkasında bulunan hidrojen verici -OH gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlıdır ve aglikonların glikolizasyonu ve diğer H verici gruplar (-NH, -SH) gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu özellik serbest radikallerin absorbe edilmesinde ve nötralize edilmesinde, tekil ve üçlü oksijenin yakalanmasında veya peroksitlerin ayrıştırılmasında önemli rol oynamaktadır (Panovska *et al.*, 2005). Yine bu özellik sayesinde fenolik bileşikler indirgeyici ajan, hidrojen verici, tekil oksijen yakalayıcı ve metal şelatörü olarak görev yapmaktadırlar (Ivanova *et al.*, 2005). Flavonoidler ve diğer bitki fenolik bileşiklerin süperoksit, alkoksil, peroksil ve nitrik oksit gibi radikalleri temizleme, demir ve bakır şelasyonu, α -tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına ek olarak; damar açıcı, bağışıklığı uyarıcı, antiallerjik, östrojenik, antiviral aktivitesi bulunmaktadır (Çimen, 1999).

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin nedeni, redoks özelliği olup (Rice-Evans *et al.*, 1996; Morel *et al.*, 1994) bu özellik bileşiklerin kimyasal yapılarıyla yakından ilişkilidir. Örneğin; quercetin, myricetin ve kaemperol gibi aglikonlar çok sayıda -OH grubu içerir ve glikozidleri olan rutin, myricitin ve astragalinden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptirler. Özellikle polifenolik fitokimyasalların antibakteriyel (Chung *et al.*, 1998), bağışıklığı düzenleyici, karaciğeri koruyucu (Bhattacharya *et al.*, 2000; Lin *et al.*, 2001), antitümör (Hirobe *et al.*, 1997; Gali-Muhtasib *et al.*, 2001; Valadares *et al.*, 2006) ve antioksidan kapasiteye sahip oldukları (Nagakawa and Yokozawa, 2002; Miliauskas *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; Capecka *et al.*, 2005; Steenkamp *et al.*, 2005; Ljubuncic *et al.*, 2005; Chung *et al.*,

2006; Uçar *et al.*, 2006) gösterilmiştir Yapılan çalışmalarla fitokimyasalların çeşitli dejeneratif hastalıkları engellemedeki rolleri ortaya konmuştur (Capecka *et al.*, 2005). Fenolik bileşikler anti-kanser veya anti-tümör aktiviteye de sahip olup (Lee *et al.*, 2004; Cheng *et al.*, 2004), hücre döngüsü kontrol proteinleri ve apoptozis mekanizmasının uyarılması üzerinde de etkilidirler (Pillai *et al.*, 2004; Roscetti *et al.*, 2004; Ohyama *et al.*, 2005; Weisskopf *et al.*, 2005; Chicca *et al.*, 2007; Imai *et al.*, 2009). Fenolik bileşiklerin tüm bu etkilerinin yanı sıra çeşitli hücre dizinleri üzerinde sitotoksik (Hernández *et al.*, 1999; Hirobe and Kunio, 2000; Bedoya *et al.*, 2001; Betancur-Galvis *et al.*, 2002; Whelan and Ryan, 2003; Mosaddik, 2003; Itharat *et al.*, 2004; El-Desouky *et al.*, 2007; Baloch *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2008), antiproliferatif (Kim *et al.*, 1992; Lambertini *et al.*, 2004; Russo *et al.*, 2005; Chaabi *et al.*, 2007), antiviral (Betancur-Galvis *et al.*, 2002) ve antimikrobiyal (Oskay ve ark., 2007) etkiye sahip olduğu da bilinmektedir.

Fitokimyasalların önemli bir grubunu oluşturan flavonoidlerin biyolojik ve farmakolojik aktivitesi antioksidan (AO) ve prooksidan davranışlarına bağlıdır (Auroma and Murcia, 1993). Flavonoidler serbest radikallere karşı AO olarak davranırlar, ama bir geçiş metali varlığında prooksidan aktivite gösterirler. Bu flavonoidlerin AO aktivitesi ve bakırın indüklediği prooksidan aktiviteleri kendi yapılarına bağlıdır. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) testi kullanılarak bazı flavonoidlerin konsantrasyon ve serbest radikal kaynağına bağlı olarak hem AO hem de prooksidan gibi davranabileceği gösterilmiştir(Cao *et al.*, 1997; Moran *et al.*, 1997). Flavonoidlerin glikolizasyonu AO aktivitesini azaltmaktadır (Cai *et al.*, 2004). Yapılan bir çalışmada C vitamini ve flavonoidlerin CuCl₂ (bakır 2 klorür) ile indüklenen LDL oksidasyonunu arttırabildiği ortaya konmuştur. Bu nedenle biyolojik moleküllerde fenolik AO'ların prooksidan aktivitesini göz önünde bulundurmanın önemli olduğuna dair görüşler bulunmaktadır (Yen *et al.*,1997; Cao *et al.*, 1997).

Fenolik bileşiklerin ve özellikle de polifenollerin farmakolojik olarak bitkilerdeki aktif bileşiklerin önemli bir grubunu oluşturduğu ve bunların bitkilerde bulunan en aktif antioksidan türevleri oldukları (Bors *et al.*, 2001), polifenollerin monofenollerden daha yüksek serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu

bilinmektedir (Sanchez-Moreno *et al.*,1998). Bazı araştırmacılar fenolik AO'ların DNA, protein ve karbohidratlarda in-vitro oksidatif hasarı hızlandırabildiğini belirtmişlerdir (Bonet *et al.*, 1996). Soya fasulyesi ve baklagillerde bulunan isoflavonoidler kanser hücrelerinde fonksiyon kaybına neden olmakta ve aynı zamanda anjiyogenez olayını ve endotelial büyüme faktörünü inhibe ederek, tümör büyümesini engellemekte ve programlanmış hücre ölümüne (apoptozise) yol açmaktadırlar. Kanseri engelleyici etkisi bakımından ön plana çıkan karotenoidler ise, kanser hücrelerinde apoptozisi artırma özelliklerinin yanı sıra hücre proliferasyonunu (çoğalmasını) önleyerek kanserleşmiş hücrelerin dokulardaki yayılımını azaltmada etkilidirler (Erbaş, 2006).

İnsan vücudu çeşitli hücrelerden oluşan bir ekosistemdir. Hücreler bölünerek çoğalır ve işbirliği içerisinde dokuları meydana getirirler. İnsan vücudunu oluşturan milyarlarca hücrenin her biri ne zaman çoğalacağını ve nasıl gelişeceğini bildiren karmaşık bir programı taşımakta ve bunu okuyabilmektedir. İnsanların karşılaştığı hastalıkların çoğu bu programı okuma fonksiyonu bozulduğu zaman ortaya çıkmaktadır. Fonksiyonu bozulan hücre hızla büyüyen ve kontrolsüz bir şekilde çoğalan hücrelere dönüşür fakat bu hücreler farklılaşmalarını tamamlayamazlar. Fonksiyonu bozulan ve farklılaşmalarını tamamlayamayan bu hücreler, değişikliğe uğramış hücreler (transforme olmuş hücreler) olarak da bilinen kanser hücreleridir. Transforme olmuş bir hücre popülasyonu genellikle genlerinde yıkıcı değişimler olan tek bir hücrenin bölünmesi sonucunda meydana gelir. Bu nedenle kanser her zaman tek bir hücreyle başlar (monoklonal) (Bahçeci, 1999).

Kanser hücreleri; kendi normal büyüme ve bölünme düzenleme mekanizması bozulmuş ve yeni yüzey karakterleri kazanmış, ölümsüz, apoptozis mekanizması devre dışı kalmış hücrelerdir. Kanser hücreleri arasındaki kontakt inhibisyon özelliği ortadan kalkmıştır, komşu hücrelerden gelen sinyallere cevap vermezler ve sürekli bölünüp çoğalarak anormal hücre yığımları (tümör) oluştururlar (Bahçeci, 1999). Tümör oluşumu, vücuttaki hassas dengenin bozulduğunu ortaya koyan bir işarettir (Matthew and White, 2006). Tümör oluşumunun büyük ölçüde hücre proliferasyonundaki artış nedeniyle olduğu düşünülse de günümüzde tümör oluşumu ve gelişiminin hücre proliferasyonu ile hücre ölümü arasındaki dengesizlik nedeniyle

olduğu kabul edilmektedir. Normal dokularda hücre çoğalması oranı hücre ölümü oranına eşittir ve bu da homeostazisi (fizyolojik denge) sağlamaktadır. Bu süreçlerin herhangi birindeki kusur, tümör oluşumuna neden olacak şekilde kesintisiz büyümeyle sonuçlanabilir (Vogelstein and Kinzler, 2002). Çoğu zaman bölünen bu hücrelerin herhangi biri, genetik kompozisyonunu değiştirme ve malignant (kötü huylu) tümör şeklinde gelişme potansiyeline sahiptir. Sağlıklı bir hücrenin kanser hücresine dönüşmesi çoğunlukla ya hücrenin genomunda değişime uğrayan genlerin birikmesi ya da düzenleyici genlerin kaybı nedeniyle olmaktadır (<http://www.roche.com>). Kanser oluşum süreci (Karsinogenez), hücrenin normal halinden farklı bir kararlı duruma geçmesiyle ve homeostatik mekanizmalara normal cevap vermemesiyle karakterize edilen bir toksisite şeklidir (Gürdöl, 2002). Kanser oluşum sürecinde (Karsinogenez) bulunan genler, genomun özel bir alt setini kapsamaktadır. Bu alt setin ürünleri olan genler, hücre döngüsü boyunca ilerleme, komşu hücreler ile adhezyon, apoptozis ve DNA hasarı tamiri gibi aktiviteleri yerine getirmektedirler.

Çok sayıda hücrenin kansere dönüşmemesinin başlıca nedenlerinden biri malignant dönüşümün birden fazla genetik değişim gerektirmesidir. Bir malignant tümörün gelişimi, tek bir hücre hattında genetik değişimlerin ilerlemesi ile karakterize edilen çok aşamalı bir süreçtir. Bu süreç, hücrelerin vücudun normal düzenleme mekanizmalarına cevap vermemelerini ve normal dokuları istila etme eğilimlerini arttırmaktadır. Kanser hücreleri malignant özellik kazandıktan sonra kendilerini çok daha tehlikeli yapan ve yeni özellikler kazandıran mutasyonları biriktirmeye devam etmektedirler. Kanser hücrelerinin genetik kararsızlığı bunların klasik kemoterapi ile tedavisini zorlaştırmaktadır çünkü hücreler kemoterapi ilaçlarına karşı dirençli olan tümör kitlesinden ortaya çıkmaktadır.

Kanser oluşumunda hücrelerde bulunan farklı gen grupları önemli rol oynamaktadır. Bu genlerin en önemlileri; protoonkogenler, tümör baskılayıcı genler ve bekçi gen'lerdir. Bekçi genler kanser oluşumunda rol oynayan diğer genlerden farklı olarak genomik stabiliteyi (kararlılık) korurlar. Hücre büyümesini ve çoğalmasını doğrudan kontrol etmezler ancak mutasyon oranını kontrol ederler. Bekçi genleri kusurlu olan hücreler, onkogenler ve tümör baskılayıcı genler de dâhil olmak üzere bütün

genlerinde yüksek oranda mutasyon biriktirirler. Bekçi genlerde meydana gelen mutasyonlar genomik kararsızlığa (instabilite) neden olur ve ortaya çıkan bu durum diğer genlerde mutasyon meydana gelme riskini artırır (Weston and Haris, 2003). Yüksek orandaki bu mutasyon birikimi tümör oluşumunun hızlanmasına neden olur. Bekçi genleri kusurlu olan hücrelerin ve bu hücrelere sahip olan bireylerin kansere meyilli oldukları gerçeği, DNA'daki mutasyonların kanser oluşumu sürecinin anahtarı olduğuna dair kanıtları güçlendirmektedir (Vogelstein and Kinzler, 2002). Bekçi genlerin en iyi bilinen örnekleri yanlış eşleşmiş DNA'yı tamir eden *MSH1* ve *MLH1* genleri ile meme kanserine yatkınlık genleri olan *BRCA1* ve *BRCA2*'dir.

Kanser, günümüzde ciddi bir sağlık problemidir. Kanser tanınması, engelleme çabaları ve tedavideki modern ilerlemelere rağmen bu hastalık dünya çapında milyonlarca insanı etkileyerek, hastaların yaşam kalitesini düşürmekte ve ölümlere neden olmaktadır. Epidemiyolojik verilere göre kanserin görülme sıklığı çevreden (kirlilik, kimyasal maddeler, X ve UV ışınları gibi), yaşama biçiminden (sigara ve alkol alışkanlığı gibi) ve beslenme şekline (antioksidan faktörlerin, vitaminlerin, lifli veya yağlı yiyeceklerin varlığı veya yokluğu gibi) etkilenmektedir (Bahçeci, 1999). Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Daire Başkanlığı'nın 2004 yılında açıkladığı verilere göre; Türkiye'de her yıl yüz bin kişiye kanser teşhisi konulmaktadır. Yine aynı verilere göre Türkiye'de en sık görülen ilk dört kanser türü içerisinde; akciğer ve bronş (% 30,13), prostat (% 24, 33), deri (% 18, 91) ve meme (% 17,96) kanseri yer almaktadır (<http://www.kanser.gov.tr>).

Meme kanseri, genellikle yaygın olarak kadınlarda nadiren de olsa erkeklerde de görülebilen bir kanser çeşididir. Morbidite (hastalık oranı) ve mortalite (ölüm oranı) verileri ülkelere göre değişiklik göstermekle birlikte, özellikle 40-55 yaş aralığındaki kadınlarda kanser nedeniyle meydana gelen ölümlerin en önemli ikinci nedenidir (Draper, 2006; Vogelstein and Kinzler, 2002). Meme kanseri için cinsiyet, yaş, fertil çağ süresi, doğum kontrol hapı kullanılması, sosyo-ekonomik seviye gibi birçok risk faktörü tanımlanmıştır ve bu faktörler içerisinde ailesel yatkınlık (aile öyküsü) önemli rol oynamaktadır. Meme kanserli kadınların % 15-20'sinde aile öyküsünün mevcut olduğu görülmektedir. Aile öyküsünde meme kanseri olan tüm hastalarının % 5'inde bu hastalığa kalıtsal yatkınlığı arttıran dominant alleller olduğu ortaya

konmuştur. Meme kanserine yatkınlık genleri olan *BRCA1* ve *BRCA2* dışında meme kanserine yakalanma riskini arttıran başka genlerin olup olmadığı halen yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (Vogelstein and Kinzler, 2002). Meme kanserine yakalanma riskinin kalıtsal olarak aktarıldığı ailelerde, *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde mutasyon söz konusudur. Meme kanserinin klinik, genetik ve biyokimyasal profili heterojendir. Büyük çoğunluğu klinik olarak yalnızca memede kitle veya mamografik anomali ile teşhis edilen hastalık, hastaların ~% 30'unda ölümlerle sonuçlanan metastatik gelişim göstermektedir. Meme kanserinin en fazla metastaz yaptığı doku ve organlar; lenf bezleri, kemik, karaciğer ve akciğerdir (Simstein *et al.*, 2003). Meme kanseri preinvaziv ya da invaziv (yayılıcı) formda olabilir. Tedavisi hastalığın hangi aşamada olduğuna, hastanın yaşına ve tümör hücrelerinde östrojen reseptörünün varlığına ya da yokluğuna bağlıdır (Vogelstein and Kinzler, 2002).

Diğer kanser tiplerinde olduğu gibi, meme kanseri hastalarının önemli bir kısmı da (yaklaşık %48-66'sı) yaygın şekilde kullanılan cerrahi müdahale, kemoterapi, radyoterapi gibi tıbbi tedavi yöntemlerinin yanı sıra tedavilerine yardımcı olacağını ümit ederek tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerinin çeşitli formlarını da denemektedirler (Di Gianni *et al.*, 2002; Navo *et al.*, 2004; Henderson and Donatelle, 2004). Günümüzde halen devam etmekte olan ve kanser tedavisinde kullanılabilecek yeni bitkisel kökenli bileşiklerin elde edilmesi güncel bir yaklaşım olup, tıbbi bitkilerin araştırılması sonucunda yeni kimyasal bileşikler belirlenemese bile, bilinen maddelerin yeni biyolojik aktivitelerinin bulunmasının yeni ilaçların geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Kanser ilaçlarının çoğu etkilerini kanser hücresinin proliferasyon ve bölünme fazlarını etkileyerek gösterirler. Bazı kemoterapi ajanları bazı spesifik kanser hücrelerine etkiliyken, diğer kanser hücrelerinde etkileri sınırlı olabilir. Bu nedenle farklı sitotoksik maddelerin, farklı hücrelerdeki etkilerinin tam olarak aydınlatılması oldukça önemlidir.

Sentetik ilaçların yol açtığı ciddi yan etkiler de düşünülürse kanser tedavisinde kullanılmak üzere bu doğal kaynakların incelenerek yeni bileşiklerin belirlenmesi önemli ve gereklidir. Halihazırda kanser tedavisinde kullanılan ilaçların % 60'dan

fazlası bitkisel kökenlidir (Cragg *et al.*, 1997) ve 2001-2002 yılları arasında dünyada satılan ilaçların yaklaşık dörtte biri doğal ürün ya da doğal ürün türevidir (Balunas and Kinghorn, 2005). Kanser tedavisinde kullanılan bitkisel kökenli ilaçlara örnek olarak *Catharanthus roseus*'tan elde edilen vinkristin ve vinblastin (Cragg *et al.*, 1994), bunların yarı sentetik analogu olan vinorelbin (Newman *et al.*, 2000), *Podophyllum peltatum*'dan elde edilen epipodophyllotoxin'in (epipodofillotoksin) yarı sentetik türevleri olan etoposide ve teniposide, *Taxus brevifolis*'dan elde edilen taxanlar (taksanlar) ve *Camptoteca acuminata*'dan elde edilen camptotecinler (kampotesinler) verilebilir (Cragg *et al.*, 1994). Yapılan klinik denemelerde özellikle taksanlar (taxan) grubunda bulunan docetaxel'in ilerlemiş metastatik meme kanserinin tedavisinde etkili bir ajan olduğu belirlenmiştir (Nabholtz *et al.*, 2002).

Kanserin popülasyonu olumsuz yönde etkilemesinin yanı sıra yüksek tedavi maliyetleri ve hastaların daha sağlıklı ve kaliteli yaşam düzeylerine ulaşma istekleri de göz önüne alındığında bitkilerden elde edilen antikanser ilaçların kanser tedavisinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bitkisel kökenli maddelerin anti-kanser özelliklerinin araştırılması günümüzde halen devam eden, güncel bir yaklaşımdır. Ancak tıbbi bitkiler her ne kadar çok uzun süredir kanser tedavisinde kullanılıyor olsa da bitkisel formülasyonların etkinliğinin ve etki mekanizmasının çok iyi araştırılmamış ve anlaşılmamış olması ve kanserin spesifik bir hastalık olması nedeniyle, kanserde bitkisel tedaviye şüpheyle yaklaşılmaktadır (Hartwell, 1982; Hsieh *et al.*, 2006). Modern tıpta halen kanser tedavisinde kullanılmakta olan yöntem ve ilaçların yanı sıra tıbbi bitkilerde ve besinlerde bulunan pek çok bileşiğin bazı deneysel karsinogenezis modellerinde etkili bir koruyucu ve anti-tümör ajanlar oldukları bilinmekle birlikte bunların çoğunun etki mekanizmaları çok iyi bilinmemektedir. Bu nedenle, bitkilerden yeni kanser ilaçlarının araştırılmasındaki asıl hedef, hedef olmayan hücelere zarar vermeden doğrudan doğruya kanser hücreleri olmalıdır. Kanserli hücrelerin ve normal hücrelerin temelde birbirine benzer özellikleri göz önüne alındığında normal hücelere zarar vermeden kanser hücresinin canlılığının azaltılması (sitotoksitate) çok da basit bir olay değildir. Sitotoksitate görüntüleme modelleri, gelecekteki çalışmalar için potansiyel anti-neoplastik özelliklere sahip bitkisel ekstraktların seçilmesine yardımcı olan ön bilgileri

sağlayan önemli bir parametredir (Itharat *et al.*,2004); fakat tek başına yeterli değildir. Özellikle kanser tedavisine yönelik araştırmalarda hücre ölümüne yol açan madde ya da bileşiklerin etki mekanizmalarının belirlenebilmesi için farklı parametrelerin de incelenmesi gerekmektedir Bu açıdan hala kanser tedavisi için klinik açıdan araştırılmayı bekleyen çok sayıda bitki ve bitkisel formülasyon bulunmaktadır. Bu nedenle birçok bitki, sekonder metabolitler ve türevleri; kansere karşı etkinliklerinin, antioksidan aktivitelerinin ve mikrobiyolojik, farmakolojik ve hatta biyolojik savaşın gündemde olduğu son yıllarda bitki savunma mekanizmasının anlaşılması açısından çok yönlü olarak araştırılmaktadır.

Dünya ülkelerinde olduğu gibi Türkiye’de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler yüzyıllardan beri halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde her bölgede farklı amaçlar ve yöntemlerle kullanılmaktadır. Yapılan literatür çalışmaları ve yerel halkla görüşmeler sonucunda Aydın yöresi halkı tarafından gıda, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılan bitkilerden henüz antioksidan, sitotoksik ve anti-kanser kapasiteleri belirlenmemiş olan 4 farklı tıbbi bitki türü *Euphorbia platyphyllos* L. (Sütleşen), *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt, Beşparmak Otu), *Dracunculus vulgaris* Schott. (Yılan yastığı, Yılan bıçağı), *Asphodelus aestivus* Brot. (Çiriş otu, Hıdırellez kamçısı) çalışma materyali olarak seçilmiştir.

Halk arasında sütleşen olarak bilinen ve haricen siğillerin yok edilmesinde, egzama hastalıklarında bitkinin özsuyu kaşınan yerlere sürülerek ve romatizmal hastalıklarda ağrı kesici olarak kullanılan (Baytop, 1999; Anonim, 2006) farklı *Euphorbia* türlerinden farklı yöntemlerle elde edilen ekstraların jatrophone diterpen, jatrophone polyester (Hohmann *et al.*, 2003), tigliane diterpen, cycloartane-tipi triterpen (Haba *et al.*, 2007) ve quercetin (Chaabi *et al.*, 2007) içerdiği ortaya konmuştur. Bu bitkinin antiviral aktivite gösterdiği (Betancur-Galvis *et al.*, 2002) ve çeşitli kanser hücre dizinleri üzerinde antitümör (Valadares *et al.*, 2006), antiproliferatif (Chaabi *et al.*, 2007) ve sitotoksik (Betancur-Galvis *et al.*, 2002; Whelan and Ryan, 2003; Baloch *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2008) etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur.

Halk arasında hayıt, beşparmak otu gibi adlarla bilinen *V. agnus-castus* meyvelerinden % 2-5 oranında infüzyon (demleme) şeklinde hazırlanan çaylar idrar

arttırıcı, gaz söktürücü ve yatıştırıcı olarak, tohum ya da meyveden elde edilen ekstraler ise kadınlarda menopoz ve menstürasyon dönemi düzensizliklerini ve sıkıntılarını gidermek, emziren annelerde süt verimini arttırmak için, erkeklerde ise iktidarsızlık ve strese karşı kullanılmaktadır (Hobbs, 1996; Odenthal, 1998; Baytop, 1999, Anonim, 2005). Yapılan içerik analizleri ile *Vitex* türlerinin flavonoidler, iridoidler, agnusidler, aucubin, cineol, casticin, viticin (Li, 2002), uçucu yağ ve rezin (Baytop, 1999) içerdiğini tespit edilmiştir. *V. agnus-castus* meyvelerinden ve bu bitki ile aynı familyadan olan *V. trifolia*'nın dal ve yapraklarından elde edilen farklı ekstrelerin çeşitli kanser hücre dizinleri üzerinde sitotoksik (Hirobe *et al.*, 1997; Hernández *et al.*, 1999; Hirobe and Kunio, 2000) ve apoptotik (Ohyama *et al.*, 2005; Weisskopf *et al.*, 2005; Imai *et al.*, 2009) etkiye sahip olduğunu ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır.

Çalışma materyalini oluşturan bir diğer bitki olan *Dracunculus vulgaris*, halk arasında yılanıyastığı, yılan bıçağı gibi adlarla bilinmekte; kök yumruları ve yaprakları lapa halinde haricen hemoroide karşı ve çibanların tedavisinde kullanılmakta, ayrıca bitkisinin kökünün süt içinde bekletilmesi ile hazırlanan içeceğin akrep sokmalarına karşı bir yıl bağışıklık sağladığı da söylenmektedir (Baytop, 1999; Anonim, 2006). Bitkinin tohum yağının palmitik asit, vaccenic asit, stearik asit, arachidic asit gibi yağ asitleri içerdiği (Sağlık *et al.*, 2002) ve *D. vulgaris* ile aynı familyadan olan *Arum palaestinum* (Araceae) yaprak ekstralarının bazı kanser hücre dizinleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği (El-Desouky *et al.*, 2007), bazı kanser hücre dizinleri üzerinde ise sitotoksik etki göstermediği (Kaileh *et al.*, 2007) belirtilmiştir.

Asphodelus aestivus, halk arasında kök yumruları kınayla karıştırılarak hemoroid tedavisinde, kök özsuğu burundan çekilerek burun kanamalarının durdurulmasında ve iltihaplı yaraları kurutmada kullanılan (Baytop, 1999; Anonim, 2006) ve çiriş otu, hıdırellez kamçısı gibi adlarla bilinen bir bitkidir. Farklı *Asphodelus* türlerinin içerik analizleri, bitkinin müsilaj, glukoz ve fruktozdan oluşan bir oligosakkarit içerdiğini ortaya konmuştur (Baytop, 1999). *Asphodelus aestivus* Brot.'dan farklı yöntemlerle elde edilen ekstraların çeşitli hücre dizinleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği; bunun yanı sıra antiviral, antimikrobiyal, mide koruyucu etkiye sahip olduğu ve lipid

peroksidasyonunu baskıladığı bilinmektedir (Bedoya *et al.*, 2001; Gürbüz *et al.*,2002; Ljubuncic *et al.*, 2005; Oskay ve ark. 2007).

Bu çalışmada Aydın Yöresi'nde halk tarafından çeşitli amaçlarla kullanılan 4 farklı tıbbi bitki türünün (*Euphorbia platyphyllos* L., *Vitex agnus-castus* L., *Dracunculus vulgaris* Schott., *Asphodelus aestivus* Brot.) farklı kısımlarından elde edilen ekstrelerin (diethyl eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon)) farklı konsantrasyonlarının antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ölçülerek, ekstrelerin MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi Trypan Blue Exclusion Yöntemi ile ve MCF-7 hücrelerinin genetik materyali üzerindeki genotoksik etkisi ise Alkali Comet Yöntemi (Comet Assay, tek hücre jel elektroforezi) ile araştırılmıştır.

Ekstrelerin antioksidan aktivitesini ölçmede kullanılan DPPH (1'1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yöntemi, antioksidan ile reaksiyona giren bileşenlerin ortamdaki DPPH serbest radikallerinden kaynaklanan koyu menekşe renkli karışımın renginin açık sarı-yeşil renge açılmasına dayanan absorbands değişimlerinin 517 nm de ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Al-Dabbas *et al.*,2007).

Araştırmamızda deneme materyaliolarak kullanılan MCF-7 insan meme kanseri hücre dizini, dünyada meme kanseri çalışmalarında en fazla kullanılan kültüre edilmiş hücre dizinidir (Osborne *et al.*, 1987; Burdall *et al.*, 2003). MCF-7 hücreleri östrojen, androjen, progesteron, glukokortikoidler, insülin, epidermel büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, prolaktin ve tiroid hormonu gibi bir dizi hormona biyolojik yanıt veren reseptörlere sahiptir (Osborne *et al.*, 1987). Hücreler östrojene proliferatif yanıt vermektedir (Levenson and Jordan, 1997).

Hücre içine uygun yol ve dozda alınmayan her madde zehir etkisi yapabilir. Bu etki bir yapı değişikliği şeklinde olabileceği gibi biyokimyasal lezyon şeklinde de olabilir. Ortaya çıkan etki, geri dönüşlü (reversibl) olabileceği gibi hücre ölümü şeklinde de olabilir. Bu nedenle canlı hücreler üzerinde kimyasal maddelere bağlı önemli yapı ve fonksiyon değişikliklerinin saptanması ve yorumlanması amacıyla deneysel toksikolojik çalışmalar yapılır. Ölçüm performansı için, tekrarlanabilirlik

başarısı için ya da çalışmalarda karşılaştırma yapmak için hücre popülasyonlarının miktarlarının anlamlı bir şekilde belirlenmesine ihtiyaç vardır. Çalışmamızda ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini (hücre canlılığının azalması) belirlemek amacı ile kullanılan Trypan Blue Exclusion Yöntemi, in vitro sitotoksikite tespiti için geliştirilen hücre canlılığı testidir. Trypan blue (Tripan mavisi) ölü doku veya hücreleri seçici olarak boyayan diazo grubuna ait vital bir boyadır. Hücre zarı seçici geçirgen yapıda olduğu için, hücre zarı sağlam olan canlı hücre ve dokuları boyamamaktadır. Ölü hücreler ise, hücre zarının seçici geçirgenlik özelliği ortadan kalktığı için boyayı içine alarak maviye boyanmaktadır. Canlı hücrelerin boyayı dışarıda bırakarak boyanmamaları nedeniyle bu yöntem Dye Exclusion Method (boyayı dışarıda bırakma yöntemi) olarak adlandırılmaktadır ([Eisenbrand et al., 2002](#)).

Ekstrelerin MCF-7 hücrelerinin genetik materyali (DNA) üzerindeki etkisini belirlemek amacı ile kullanılan Comet Yöntemi DNA’da oluşan hasar ve tamirleri gösterebilmesi, az sayıda hücre ile analizin gerçekleştirilebilmesi, değişik doku ve hücre grupları ile çalışılabilmesi, sonuçların birkaç saat içinde elde edilip verilerin değerlendirilebilmesi, güvenli ve nispeten ekonomik olması nedeni ile giderek yaygınlaşan bir kullanım alanı bulan hızlı, kolay ve duyarlı bir yöntemdir (Tice *et al.*, 2000; Collins and Horvathova, 2001; Sasaki *et al.*, 2002). Bir bireyin, DNA onarım kapasitesini belirlemek içinde comet tekniğinden yararlanılmaktadır. Hasarlı DNA’nın onarılmaması kanser oluşumunun temel mekanizması olarak kabul edilir. Bu olay DNA onarım yetersizliğini ve kansere yatkınlığı dolayısıyla bireysel duyarlılığı belgeler. DNA onarım problemlerini saptayabilmek için Challenge tekniği ile kombine olarak comet tekniği hücrelerin radyasyona duyarlılıklarındaki farklılıklardan yola çıkarak ‘onarım’ olarak adlandırılan hasarın biyolojik prosesine bağlı olarak son yıllarda genotoksikoloji, ekotoksikoloji ve biyoizleme araştırmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Collins *et al.*, 1997).

Tez kapsamında seçilen bitkilerin antioksidan aktivitesi, MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi ve hücrelerin genetik materyali üzerindeki genotoksik (DNA kırıkları) etkisi ilk kez bu çalışma kapsamında ayrıntılı olarak araştırılmıştır.

Bu tezden elde edilen veriler, özellikle kadınlar arasında yaygın olan ve gittikçe erkekleri de tehdit etmeye başlayan meme kanseri tedavisinde kullanılabilir yeni bitkisel kökenli bileşiklerin araştırılmasına ışık tutabilecek ve anti-kanser özellik taşıyan bitkilerin belirlenebilmesine katkıda bulunacak olması nedeni ile önem taşımaktadır.

III-MATERYAL VE YÖNTEM

A- TEZ ÇALIŞMASINDA KULLANILACAK BİTKİLERİN SEÇİMİ

Türkiye florası, üç önemli fitocoğrafik bölgenin (Akdeniz, İran-Turan, Avrupa Siberian) bağlantı noktasında yer alması nedeni ile oldukça zengin olup çiçekli bitkileri de içine alan 11.000'den fazla kayıtlı takson bulunmaktadır. Bu bitkilerin yaklaşık olarak 3.000 tanesini oluşturan aromatik bitkilerin (Başer, 2002) bir kısmı halk tarafından gerek beslenme ve gerekse tıbbi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde bulunan bitkiler her bölgede farklı amaçlar ve yöntemlerle kullanılmaktadır. Tedavi amaçlı olarak kullanılan bitkilerin yaprak, kök, gövde, çiçek, tohum, filiz gibi kısımları su ile kaynatılarak (dekoksasyon), kaynamış su (infüzyon) veya yağ içerisinde bekletilerek, lapa halinde veya karışımlar şeklinde kullanılmaktadır (Şimşek ve ark., 2002).

Aydın yöresinde halk tarafından yaygın olarak kullanılan bitkileri belirleyebilmek için, Aydın'da bulunan aktarlar ve orta yaşın üzerindeki yerli halk ile yapılan sözlü görüşmeler sonucunda;

- Hangi bitkinin hangi hastalığın tedavisinde kullanıldığı (kullanılış amacı)
- Hangi miktarda ve ne kadar süreyle kullanıldığı (konsantrasyon ve süre)
- Hangi şekilde kullanıldığı (kullanılış biçimi)

hakkında bilgi toplanmıştır. Halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılan bitki türlerinin çok fazla sayıda olması nedeni ile sayıyı azaltmak amacıyla bir ön eleme yapılarak, tez çalışması kapsamında kullanılacak bitkiler belirlenmiştir. Tez çalışması kapsamında kullanılacak bitkilerin seçiminde aşağıdaki özellikler göz önünde bulundurulmuştur:

1) Hakkında bilgi toplanan tıbbi bitkilerle ilgili kapsamlı bir literatür taraması yapılarak, daha önce antioksidan aktivitesi ve in vitro sitotoksik etkisi hiç çalışılmamış ve/veya en az çalışılmış bitki türleri seçilmiştir

2) Hücrelerde serbest radikal miktarının herhangi bir enfeksiyon durumunda çok fazla artış gösterdiğine ve antioksidanların serbest radikalleri ve/veya aktivitesini yok edici bileşikler olduğuna dair literatür bilgileri göz önüne alınarak; yüksek antioksidan aktivite gösterebilecekleri düşüncesi ile özellikle halk arasında enfeksiyonları ve yaraları iyileştirmek amacıyla kullanılan bitkiler tercih edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında kullanılmak üzere, söz konusu kriterlere göre seçilen bitkilerin bir listesi oluşturulmuş ve yöre halkının seçilen bitkilerin kullanım amacı, kullanım şekli, kullanım süresi ve kullanılan miktarları hakkında edinilen bilgiler, Prof. Dr. Turan BAYTOP tarafından yazılan “Türkiye’de Tıbbi Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)”(1999) isimli kitaptaki bilgilerle karşılaştırılarak; çalışmada kullanılacak bitkilerin hangi kısımlarının kullanılacağı, kullanılacak kısımlardan elde edilecek ekstraktların elde ediliş şekli ve kullanılacak konsantrasyon aralıklarının belirlenmesi daha bilimsel bir temele dayandırılmaya çalışılmıştır.

1- Toplanan Bitkilerin Sistematiğine ve Halk Arasında Kullanılış Biçimine İlişkin Bilgiler

a- Familya: Euphorbiaceae (Sütlegengiller)

Kozmopolit bir familya olan *Euphorbiaceae* yaklaşık olarak 300 cins ve 5000 kadar tür içermektedir. Ülkemizde bu familyaya ait 5 cins ve 102 tür bulunmaktadır (Şekil 3.1). Kauçuk ve boya hammaddesi elde edilen ve ilaç sanayisinde kullanılan türleri vardır. Kerestesinden yararlanır. Bazı türleri süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir (Seçmen ve ark., 1998).

Genus (Cins): *Euphorbia* L.

Bir ya da çok yıllık bitkilerdir. Genellikle beyaz renkli özsuynun (süt) içerisinde rezin, kauçuk, nişasta ve enzimler bulunmaktadır. Tohumlar ise sabit yağ içermektedir (Baytop, 1999). Ayrıca çeşitli *Euphorbia* türlerinin yapılan içerik analizleri sonucunda, quercetin, jatrophone diterpen, jatrophone polyester, tigliane diterpen, cycloartane-tipi triterpen ve 13 adet triterpen içerdiği ortaya konmuştur (Hohmann *et al.*, 2003; Haba *et al.*, 2007; Chaabi *et al.*, 2007).

Species (Tür): *Euphorbia platyphyllos* L. (Sütleğen)

Euphorbia türlerinin sütü tahriş edicidir ve kuvvetli bir müshil etkiye sahiptir. Egzama hastalıklarında bitkinin özsuyu haricen kaşınan yerlere sürülerek, egzamanın tedavi edilmesinde, siğillerin yok edilmesinde ve romatizmal hastalıklarda ağrı kesici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bitkinin özsuyu ve tohumunda bulunan sabit yağ müshil olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Anonim, 2006). Daha önce yapılan çalışmalarda; çeşitli *Euphorbia* türlerinden elde edilen ekstraların farklı insan ve hayvan kanser hücre dizinleri üzerinde in vitro sitotoksik etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur (Betancur-Galvis *et al.*, 2002; Whelan and Ryan, 2003; Valadares *et al.*, 2006; Chaabi *et al.*, 2007).



Şekil 3.1. *Euphorbia platyphyllos* L. (Sütleğen)

b- Familya: Verbenaceae (Mineçiçeğigiller)

Tropik ve subtropik bölgelerde yayılış gösteren yaklaşık 100 cins ve 3000 kadar türü bulunmaktadır. Bitkiden eterik yağ ve tanen elde edilmekte, otsu kısımları ilaç olarak kullanılmakta ve bazıları da süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Ayrıca bitkiden elde edilen keresteler gemi yapımında kullanılmaktadır (Seçmen ve ark., 1998).

Genus (Cins): *Vitex* L.

Vitex agnus-castus ve *Vitex pseudo-negundo* olmak üzere iki türü vardır (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı). Yapılan kimyasal içerik analizleri *Vitex* türlerinin flavonoidler, iridoidler, agnusidler, aucubin, cineol, casticin, viticin (Li, 2002), uçucu yağ ve rezin (Baytop, 1999) içerdiğini ortaya koymuştur.

Species (Tür): *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt, Beşparmak otu)

Yaprakları el biçiminde parçalı, çiçekleri mavimsi, çalı görünüşlü bir ağaççıktır. Bitkinin meyveleri küre biçiminde, 3 mm çapında, sert, özel kokulu ve acımsıdır (Şekil 3.2). Meyvelerden %2-5 oranında infüzyon (demleme) şeklinde hazırlanan çaylar, idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tohum ya da meyveden elde edilen ekstreler halk arasında tedavi amaçlı olarak kadınlarda menopoz ve menstürasyon dönemi düzensizliklerini ve sıkıntılarını gidermek, emziren annelerde süt verimini arttırmak için, erkeklerde ise iktidarsızlık ve strese karşı kullanılmaktadır (Hobbs, 1996; Odenthal, 1998; Baytop, 1999, Anonim, 2005). Bitkinin tohumları bibere benzer tat ve kokuya sahip olduğu için, bazı toplumlarda karabiber yerine baharat olarak da kullanılmaktadır (Odenthal,1998). *Vitex* türleri ile daha önce yapılan çalışmalarda; *V. agnus-castus* meyvelerinden elde edilen etanol ve metanol ekstralarının farklı insan ve hayvan kanser hücre dizinleri üzerinde in vitro sitotoksik ve apoptotik etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Hirobe *et al.*, 1994, 1997; Hirobe and Kunio, 2000; Ohyama *et al.*, 2005).



Şekil 3. 2. *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt, Beşparmak Otu)

c- Familya: Araceae (Yılanyaştığıgiller)

Rizomlu veya tuberli, özsüt veya acı su içeren çok yıllık otsu bitkilerdir. Çoğunluğu sıcak bölgelerde yayılış gösteren yaklaşık 110 cins ve 2500 kadar türü vardır. Ülkemizde bu familyaya ait 6 cins ve 23 tür bulunmaktadır (Seçmen ve ark., 1998).

Genus (Cins): *Dracunculus* P. Mill.

Ülkemizde Batı ve Güney Anadolu'da yayılış göstermektedirler (Seçmen ve ark., 1998). *Dracunculus* türlerinin yaprakları ve kök yumruları zank, müsilaj, nişasta, saponin ve konisin alkaloidi (Baytop, 1999), estragole, phelandrine, methyl cavicol, iodine, rutin, tanin, flavonoid ve coumarin (Li, 2002), tohum yağı ise palmitik asit, oleik asit, cis-vaccenic asit, stearik asit, arachidic asit içermektedir (Sağlık *et al.*, 2002).

Species (Tür): *Dracunculus vulgaris* Schott. (Yılan yaştığı, Yılan bıçağı)

Yaklaşık 100 cm boyunda, çok yıllık otsu bir bitkidir. Yapraklar tabanda, uzun saplı, yaprak ayası daire biçiminde ve parçalıdır. Çiçeklenme ilkbaharda gerçekleşir (Şekil 3.3). Kök yumruları ve yaprakları lapa halinde haricen hemoroide karşı ve çibanların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, kökünün süt içinde bekletilmesi ile hazırlanan içeceğin akrep sokmalarına karşı bir yıl bağışıklık sağladığı da belirtilmektedir

(Baytop, 1999; Anonim, 2006). *Dracunculus* türleri ile daha önce yapılan çalışmalar, *D. vulgaris* ile aynı familyadan olan *Arum palaestinum* (Araceae)'dan elde edilen ekstraların çeşitli insan kanser hücre dizinleri (El-Desouky *et al.*, 2007) ve fare fibrosarkoma hücreleri (Kaileh *et al.*, 2007) üzerinde in vitro sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur.



Şekil 3.3. *Dracunculus vulgaris* Schott. (Yıllanyastığı, Yılan bıçağı)

d- Familya: Liliaceae (Zambakgiller)

Kozmopolit bir familya olan Liliaceae 250 cins ve 3500 kadar tür içermektedir. Ülkemizde bu familyaya ait yaklaşık 44 cins ve 426 tür bulunmaktadır (Seçmen ve ark., 1998).

Genus (Cins): *Asphodelus* L.

Ülkemizde, [Asphodelus aestivus](#) Brot., [Asphodelus fistulosus](#) L. ve [Asphodelus ramosus](#) L. olmak üzere üç farklı türü bulunmaktadır (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı). *Asphodelus* türleri müsilaj, glukoz ve fruktozdan oluşan bir oligosakkarit içermektedir (Baytop, 1999).

Species (Tür): *Asphodelus aestivus* Brot. (Çiriş otu, Hıdırellez kamçısı)

100-150 cm boyunda, rozet yapraklı, beyaz veya pembemsi çiçekli çok yıllık otsu bir bitkidir (Şekil 3.4). Kök yumruları Yontma Taş Dönemi'nden beri Anadolu Halkı tarafından kullanılmaktadır. Kökü kınayla karıştırılarak hemoroit tedavisinde, kök

özsuyu burundan çekilerek burun kanamalarının durdurulmasında ve iltihaplı yaraları kurutmada kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Anonim, 2006). *Asphodelus* türleri ile daha önce yapılan çalışmalarda; farklı *Asphodelus* türlerinden elde edilen ekstraların farklı insan ve hayvan kanser hücre dizinleri üzerinde düşük in vitro sitotoksik etkiye sahip olduğu (Bedoya *et al.*, 2001; Ljubuncic *et al.*, 2005) ve çeşitli bakteri ve maya suşları üzerinde ise antimikrobiyal etkisinin olduğu belirlenmiştir (Oskay ve ark., 2007).



Şekil 3.4. *Asphodelus aestivus* Brot. (Çiriş otu, Hıdırellez kamçısı)

2- Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Saklanması

a- Bitkilerin Toplanması

Tez çalışmasında kullanılmak üzere seçilen bitkiler, çiçeklenme dönemlerinde konuya ilişkin bilgisi ve deneyimi olan bir sistematik botanikçi ile birlikte bitkilerin yetişme alanlarından toplanmıştır. Bitkileri toplamak üzere yapılan arazi çalışmalarında trafiğin ve insan faaliyetlerinin en az olduğu alanlar tercih edilerek kirlilikten en az düzeyde etkilenmiş ve ağır metal vb. maddeleri bünyesinde biriktirmemiş bitkilerin toplanmasına özen gösterilmiştir. Toplanan bitki örnekleri arazi çalışmaları tamamlandıktan hemen sonra Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim elemanları olan Yrd. Doç. Dr. Özkan EREN ve Araş. Görev. Dr. Mesut KIRMACI tarafından tayin edilmiştir. Toplanan bitkilere ait birer örnek

numara verilerek etiketlenmiş ve Adnan Menderes Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Herbariyumu'nda (AYDN) kayıt altına alınarak saklanmıştır. Arazi çalışmaları sonucunda toplanan bitkiler, herbariyum numaraları, toplandıkları yer ve toplanma tarihleri Çizelge 3. 1'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan bitkiler, toplandığı yer ve toplanma tarihleri

Familya	Bitkinin Adı	Türkçe Adı	Toplandığı Yer	Toplanma Tarihi
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia platyphyllos</i> L. (AYDN 877)	Sütleğen	Koçarlı Yolu 4-6 km	19.04.2006
Verbenaceae	<i>Vitex agnus-castus</i> (AYDN 882)	Hayıt, Beşparmak otu, Namus Ağacı	Ortaklar-Söke Yolu 8-10 km 28 m	23.09.2006
Araceae	<i>Dracunculus vulgaris</i> Schott. (AYDN 883)	Yılanıyastığı, Yılan bıçağı	Paşa yaylası 368 m	31.05.2006
Liliaceae	<i>Asphodelus aestivus</i> Brot. (AYDN 878)	Çiriş otu, Hıdırellez kamçısı	ADÜ Merkez Kampus Batısı 160 m	30.03.2006

b - Bitkilerin Kurutulması

Çiçeklenme dönemlerine göre buldukları bölgelerden toplanan bitkiler laboratuara getirildikten sonra temizlenerek, yıkanmıştır. Temizlenip, yıkanan bitkilerin ekstraksiyon yapılacak kısımları (Çizelge 3.2) ayrıldıktan sonra, bitki kısımları doğrudan güneş ışığı almayan havadar bir odada kurutulmuştur (Şekil 3.5).

Çizelge 3.2. Tez çalışması kapsamında kullanılan bitkilerden ekstre elde edilmesinde kullanılan kısımlar

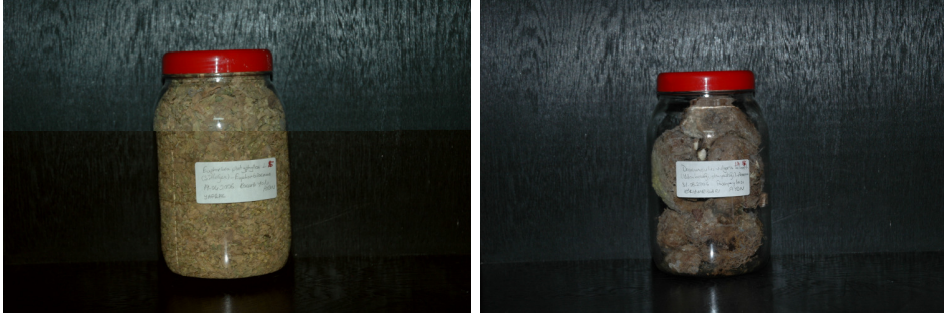
Familya	Bitkinin Adı	Türkçe Adı	Ekstraksiyonda Kullanılan Kısım
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia platyphyllos</i> L.	Sütleğen	Tam bitki
Verbenaceae	<i>Vitex agnus-castus</i>	Hayıt, Beşparmak otu, Namus Ağacı	Tohum
Liliaceae	<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.	Çiriş otu, Hıdırellez kamçısı	Kök yumrusu
Araceae	<i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.	Yılanıyastığı, Yılan bıçağı	Kök yumrusu



Şekil 3. 5. Kurutulmaya bırakılan bitkiler (*Asphodelus aestivus* Brot.)

c- Kurutulan Bitkilerin Muhafaza Edilmesi

Gölge ve havadar bir odada kurutulan bitki kısımları denemelerde kullanılıncaya kadar, her bir bitkiye numara verilerek etiketlenen temiz kavanozlarda ve ışıktan etkilenmeyecek şekilde kapalı dolaplarda muhafaza edilmişlerdir (Şekil 3.6).



Şekil 3. 6. Kurutulmuş bitki kısımlarının muhafazası

B- DENEMELERDE KULLANILACAK BİTKİLERDEN FARKLI YÖNTEMLERLE EKSTRELERİN ELDE EDİLMESİ

1- Kimyasallar ve Makine-Teçhizat

a- Kimyasallar

Dietil Eter (Riedel-de Haën, CAS NO: 24005), Petrol Eteri (Merck, CAS NO:1.00909.5000), Etil Asetat (Riedel-de Haën, CAS NO: 27227), Metanol (Merck, CAS NO: 1.06009.2500), DPPH (Fluka, CAS NO: 1898-66-4), Rutin (Fluka, CAS NO: 250249-75-3), DMEM (Sigma, CAS NO: 048K2354), FBS (Sigma, CAS No: 30021099000), L-Glutamin (Sigma, CAS NO: 56-85-9), Esensiyel Olmayan Amino Asitler (Sigma, CAS NO: 058K2362), Na-pyruvate (Sigma, CAS NO: 24899804), NaCO₃ (Sigma, CAS NO: 048K2446), Penisilin-Streptomisin çözeltisi (Sigma), Tripsin-EDTA (Sigma, CAS NO: 9002-07-7), PBS (Sigma, CAS NO: 018K2325), DMSO (Sigma, CAS NO: 200-664-3), Trypan Blue (Sigma, CAS NO: 72-57-1), Triton X-100 (Sigma, CAS NO: 9002-93-1), EtBr (Sigma, CAS NO: 057K8609), EDTA (Merck, CAS NO: 1.08421.1000), Trizma Base (Sigma, CAS NO: 43006-30-5), Low Melting Point Agarose (Sigma, CAS NO: 39346-81-1), Normal Melting Agarose (Sigma, CAS NO: 0009012366). Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasalların tümü analitik saflıktadır.

b- Makine-Teçhizat

Soxhlet aparatı, çalkalamalı su banyosu, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (BİOSAN MSH-300), rotary evaporatör (Ika Werke RV 05-ST), liyofilizatör (LABCONCO Freeze Dry System), hassas tartı (Scaltec SB 31), UV-Visible spektrofotometre (Shimadzu PharmaSpec UV-1700), CO₂'li inkübatör (Thermo Hepa Class 100 Steri-cycle), hücre kültürü kabini (HeraSafe TipII Laminar Flow), santrifüj (Hettich Rotina 38R), elektroforez (BioRad), invert mikroskop (Olympus CK 40-SL), ışık mikroskobu (Olympus), fluoresans mikroskop (Olympus BX-51), görüntüleme cihazı (Olympus DP 70), azot tankı, otoklav (Hi-Tech), mikropipet seti (Eppendorf).

2- Bitkilerin Ekstraksiyonu

Tez çalışması kapsamında kullanılacak olan 4 farklı bitkiden elde edilecek ekstre serileri (dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon ekstreleri)) için; *Euphorbia platyphyllos*'da toplam 200 g tam bitki, *Dracunculus vulgaris*'ta toplam 200 g kök yumrusu, *Vitex agnus-castus*'ta toplam 200 g tohum ve *Asphodelus aestivus*'ta toplam 95 g kök yumrusu kullanılmıştır. Ekstraksiyon için kullanılan miktarlar kuru bitki ağırlığıdır. Bitkiler, ekstreler elde edilmeden önce öğütülmüştür. Bitkilerden ekstrelerin eldesi için kullanılan çözücüler polarite özellikleri göz önünde bulundurularak seçilmiştir.

a- Dietil Eter Ekstraksiyonu:

Kaynama noktası	34,6 °C
Dielektrik sabiti	4,191
Molekül formülü	C ₄ H ₁₀ O

Bitki örneklerinden dietil ekstraksiyonu için; Goffin ve arkadaşlarının (2003) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Dietil ekstraksiyonu için izlenen işlem basamakları aşağıdaki gibidir:

- 1- Bitkinin ekstraksiyon yapılacak kısmından 10g bitki örneği (tam bitki, kök yumrusu, tohum) porselen havanda ezilerek ya da blendırda parçalanarak toz haline getirilmiş ve soxhlet kartuşuna konulmuştur.
- 2- İçerisinde bitki örneği bulunan kartuş, soxhlet aparatına yerleştirilmiştir.
- 3- Soxhlet aparatının haznesine 200 ml dietil eter ilave edilerek, eterin uçmasını önlemek amacıyla düzeneğe geri soğutucu bağlanmıştır.
- 4- 40 °C'lik su banyosunda soxhlet aparatının haznesindeki eter renksizleşinceye kadar ekstraksiyon yapılmıştır (1 gece).
- 5- Haznedeki eter renksiz hale gelince balonda toplanan çözelti evaporatör balonuna aktarılmıştır.
- 6- Çözeltide bulunan eter rotary evaporatörde 40 °C'de (Kika Werke RV 05-ST) uçurulmuştur.

7- Eter uçurulduktan sonra evaporatör balonunun cidarına yapışan ekstre spatula ile kazınarak, küçük bir şişede toplanmıştır. Balonda kalan az miktardaki örnek 1-2 ml eterle çözdürülerek şişeye aktarılmıştır.

8- Az miktardaki eter de uçurulmuş ve ekstrenin ışıktan etkilenmemesi için şişe alüminyum folyoya sarılarak denemelerde kullanılmak üzere -20°C 'de saklanmıştır.

9- Elde edilen net ekstre miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$X=Y-Z$$

X: Elde edilen net ekstre miktarı (g) (g cinsinden elde edilen net ağırlık mg'a çevrilmiştir).

Y: İçerisinde ekstre çözeltisi bulunan evaporatör balonunun çözücü uçurulduktan sonraki ağırlığı (g).

Z: Evaporatör balonunun net ağırlığı (g)

b- Petrol Eteri Ekstraksiyonu:

Kaynama noktası	30-40 °C
Dielektrik sabiti	2-2.2
Molekül formülü	C_7H_7

Bitki örneklerinden petrol eteri ekstraksiyonu için; Lee ve arkadaşlarının (2004) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Petrol eteri ekstraksiyonu için izlenen işlem basamakları aşağıdaki gibidir:

1- Dietil eter ekstraksiyonundan sonra soxhlet kartuşunda kalan bitki örneği (tam bitki, kök yumrusu, tohum) dietil eteri uzaklaştırmak amacı ile 1 gün süreyle açık havada kurutulmuştur.

2- Kuruyan bitki örneği tekrar soxhlet kartuşuna konularak soxhlet aparatına yerleştirilmiştir.

- 3- Soxhlet aparatının haznesine 200 ml petrol eteri ilave edilmiştir ve petrol eterinin uçmasını önlemek amacıyla düzeneğe geri soğutucu bağlanmıştır.
- 4) Soxhlet aparatının haznesindeki petrol eteri renksizleşinceye kadar 65 °C'lik su banyosunda (1gece) ekstraksiyon yapılmıştır.
- 5) Haznedeki petrol eteri renksiz hale gelince, balonda toplanan çözelti evaporatör balonuna aktarılmıştır.
- 6) Çözeltide bulunan petrol eteri rotary evaporatörde 65 °C'de uçurulmuştur.
- 7) Petrol eteri uçurulduktan sonra evaporatör balonunun cidarına yapışan ekstre spatula ile kazınarak, küçük bir şişede toplanmıştır. Balonda kalan az miktardaki örnek 1-2 ml petrol eteri ile çözdürülerek şişeye aktarılmıştır.
- 8) Az miktardaki petrol eteri de uçurulmuş ve ekstrenin ışıktan etkilenmemesi için, şişe alüminyum folyoya sarılarak denemelerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.
- 9) Elde edilen net ekstre miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$X=Y-Z$$

X: Elde edilen net ekstre miktarı (g) (g cinsinden elde edilen net ağırlık mg'a çevrilmiştir).

Y: İçerisinde ekstre çözeltisi bulunan evaporatör balonunun çözücü uçurulduktan sonraki ağırlığı (g).

Z: Evaporatör balonunun net ağırlığı (g)

c- Etil Asetat Ekstraksiyonu:

Kaynama noktası	76,5-77,5 °C
Dielektrik sabiti	6,0
Molekül formülü	CH ₃ COOC ₂ H ₅

Bitki örneklerinden etil asetat ekstraksiyonu için; Miliauskas ve arkadaşlarının (2004) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Etil asetat ekstraksiyonu için izlenen işlem basamakları aşağıdaki gibidir:

- 1- Petrol eteri ekstraksiyonundan sonra soxhlet kartuşunda kalan bitki örneği, petrol eterini uzaklaştırmak amacı ile 1 gün süreyle açık havada kurutulmuştur.
- 2- Kuruyan bitki örneği temiz bir erlene alınmıştır.
- 3- Üzerine bitki ağırlığının 5 katı kadar etil asetat ilave edilerek erlenin ağzı kapatılmıştır.
- 4- İçerisinde bitki örneği ve etil asetat bulunan erlen çalkalamalı su banyosuna yerleştirilerek 25 °C'de bir gece ekstraksiyon için bırakılmıştır.
- 5- Ertesi gün içerisinde bitki örneği bulunan etil asetat filtre kâğıdından süzülerek, süzüntü evaporatör balonunda toplanmıştır.
- 6- Filtre kâğıdında kalan bitki kalıntısı erlene alınmış ve tekrar 5 katı kadar etil asetat ilave edilerek, çalkalamalı su banyosunda 25 °C'de bir gece ekstraksiyon için bırakılmıştır.
- 7- Bu işlem etil asetat renksizleşinceye kadar tekrarlanmıştır.
- 8- Evaporatör balonunda toplanan süzüntülerin etil asetatı rotary evaporatörde 77 °C'de uçurulmuştur.
- 9- Etil asetat uçurulduktan sonra evaporatör balonunun cidarına yapışan ekstre spatula ile kazınarak, küçük bir şişede toplanmıştır. Balonda kalan az miktardaki örnek 1-2 ml etil asetat ile çözdürülerek şişeye aktarılmıştır.
- 10- Az miktardaki etil asetat da uçurulmuş ve ekstreinin ışıktan etkilenmemesi için, şişe alüminyum folyoya sarılarak denemelerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.
- 11- Elde edilen net ekstre miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$X=Y-Z$$

X: Elde edilen net ekstre miktarı (g) (g cinsinden elde edilen net ağırlık mg'a çevrilmiştir).

Y: İçerisinde ekstre çözeltisi bulunan evaporatör balonunun çözücü uçurulduktan sonraki ağırlığı (g).

Z: Evaporatör balonunun net ağırlığı (g)

d- Metanol Ekstraksiyonu:

Kaynama noktası	64.7 °C
Dielektrik sabiti	32.6
Molekül formülü	CH ₃ OH

Bitki örneklerinden metanol ekstraksiyonu, Avcı ve arkadaşlarının (2006) yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Metanol ekstraksiyonu için izlenen işlem basamakları aşağıdaki gibidir:

- 1- Etil asetat ekstraksiyonundan sonra erlende kalan bitki örneği, etil asetatı uzaklaştırmak için 1 gün süreyle açık havada kurutulmuştur.
- 2- Kuruyan örnek temiz bir erlene alınmıştır.
- 3- Üzerine 200 ml absölu metanol ilave edilerek, alkolün uçmasını engellemek için erlenin ağzı parafilm ile kapatılmıştır.
- 4- İçerisinde bitki örneği ve metanol bulunan erlen kuru çalkalamalı inkübatöre yerleştirilerek 25 °C'de 100 rpm çalkalama hızında bir gece ekstraksiyon için bırakılmıştır.
- 5- Ertesi gün içerisinde bitki örneği bulunan alkol filtre kâğıdından süzülerek alkollü ekstrakt evaporatör balonunda toplanmıştır.
- 6- Filtre kâğıdında kalan bitki kalıntısı erlene alınmış ve tekrar 200 ml metanol ilave edilerek, kuru çalkalamalı inkübatörde 100 rpm çalkalama hızında 25 °C'de bir gece ekstraksiyon için bırakılmıştır.
- 7- Bu işlem metanol renksizleşinceye kadar tekrarlanmıştır.
- 8-Evaporatör balonunda toplanan süzüntülerin alkollü rotary evaporatörde 68 °C'de uçurulmuştur.

9- Metanol uçurulduktan sonra evaporatör balonunun cidarına yapışan ekstre spatula ile kazınarak, küçük bir şişede toplanmıştır. Balonda kalan az miktardaki örnek 1-2 ml metanolla çözdürülerek şişeye aktarılmıştır.

10- Az miktardaki metanol de uçurulmuş ve ekstrenin ışıktan etkilenmemesi için, şişe alüminyum folyoya sarılarak denemelerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

11- Elde edilen net ekstre miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$X=Y-Z$$

X: Elde edilen net ekstre miktarı (g) (g cinsinden elde edilen net ağırlık mg'a çevrilmiştir).

Y: İçerisinde ekstre çözeltisi bulunan evaporatör balonunun çözücü uçurulduktan sonraki ağırlığı (g).

Z: Evaporatör balonunun net ağırlığı (g)

e- Sulu Ekstreler:

Kaynama noktası	100 °C
Dielektrik sabiti	80
Molekül formülü	H ₂ O

Bitki örneklerinden sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstraksiyonlar Ljubuncic ve arkadaşlarının (2005) yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Sulu ekstraksiyonlar için izlenen işlem basamakları aşağıdaki gibidir:

1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

1- Metanol ekstraksiyonundan sonra filtre kâğıdında kalan bitki örneği metanolü uzaklaştırmak için 1 gün süreyle açık havada kurutulmuştur.

2- Üzerine, ağırlığının 20 katı kadar (200 ml) 80 °C sıcaklıktaki distile su ilave edilmiştir.

- 3- Bitki örneği 5 dakika süreyle demlenmeye bırakılmış ve sıcak olarak süzölmüştür.
- 4-Süzöntü liyofilizatör kaplarına alınarak derin dondurucuda (-80 °C) bir gece bekletilmiştir.
- 5-Derin dondurucuda dondurulan süzöntünün suyu ertesi gün liyofilizatörde uzaklaştırılmıştır.
- 6-Elde edilen ekstre küçük bir şişeye aktarıldıktan sonra, şişe alüminyum folyoya sarılarak denemelerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.
- 7-Elde edilen net ekstre miktarı aşağıdaki formöl kullanılarak hesaplanmıştır:

$$X=Y-Z$$

- X:** Elde edilen net ekstre miktarı (g) (g cinsinden elde edilen net ağırlık mg'a çevrilmiştir).
- Y:** İçerisinde ekstre çözeltisi bulunan liyofilizatör kabının çözöcü uçurulduktan sonraki ağırlığı (g).
- Z:** Liyofilizatör kabının net ağırlığı (g)

2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

- 1-Kurutularak toz haline getirilmiş 10 g bitki örneği 200 ml distile su ilave edilerek 5 dakika kaynatılmıştır.
- 2-Çözelti sıcak olarak süzölmüştür.
- 3-Süzöntü liyofilizatör kaplarına alınarak derin dondurucuda (-80 °C) bir gece bekletilmiştir.
- 4-Derin dondurucuda dondurulan süzöntünün suyu, ertesi gün liyofilizatörde uzaklaştırılmıştır.
- 5-Elde edilen ekstre küçük bir şişeye aktarıldıktan sonra, şişe alüminyum folyoya sarılarak denemelerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.
- 6-Elde edilen net ekstre miktarı aşağıdaki formöl kullanılarak hesaplanmıştır:

$$X=Y-Z$$

X: Elde edilen net ekstre miktarı (g) (g cinsinden elde edilen net ağırlık mg'a çevrilmiştir).

Y: İçerisinde ekstre çözeltisi bulunan liyofilizatör kabının çözücü uçurulduktan sonraki ağırlığı (g).

Z: Liyofilizatör kabının net ağırlığı (g)

Ekstraksiyon işlemleri sonucunda *E. platyphyllos* ve *V. agnus-castus*'dan kullanılan tüm çözücülerle ekstre elde edilmesine karşın; *A. aestivus*'tan petrol eteri ve *D. vulgaris*'den dietil eter ve petrol eteri ekstraları elde edilememiştir.

C-BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

1- DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Ekstre Çözeltilerinin Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında seçilen 4 farklı bitkiden, bitkilerin farklı kısımları kullanılarak elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstraların (dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksiyon (kaynatma)) DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitelerinin belirlenmesi amacı ile ekstralar hassas terazide gerekli miktarlarda tartılarak eppendorf tüplerine alınmış ve sonikatör yardımıyla 30 saniye süreyle 1mg/ml'lik stok çözelti elde edilecek şekilde metanolde çözdürülmüşlerdir. Bu şekilde hazırlanan 1mg/ml'lik stok ekstre çözeltileri, DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktiviteleri ölçülünceye kadar -20 °C' de saklanmıştır.

2- Ekstrelerin DPPH üzerinden Serbest Radikali Süpürücü Aktivitesinin Belirlenmesi

Bir maddenin antioksidan aktivitesi ortamdaki serbest radikalleri süpürebilmesine bağlıdır. Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, günümüzde özellikle doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesini belirlemede yaygın olarak kullanılan DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) serbest radikal süpürme aktivitesi üzerinden DPPH yöntemi ile spektrofotometrik olarak tayin edilerek Brand-Williams ve ark. (1995) göre belirlenmiştir.

Ekstrelerin DPPH üzerinden serbest radikali süpürücü aktivitesinin belirlenmesi amacı ile 1mg/ml'lik stok ekstre çözeltisinden metanolla seyreltilerek hazırlanan ekstrelerin, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 75 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml ve 300 µg/ml'lik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bitkilerden elde edilen ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitelerinin belirlenmesinde izlenen işlem basamakları şöyledir:

- 1- Antioksidan aktivitesi belirlenecek ekstrelerden belirlenen konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan çözeltilerin 3'er ml'si alınarak, deney tüpüne konulmuştur.
- 2- Hazırlanan DPPH (0,1 mM)'dan 1 ml alınarak ekstre çözeltisi üzerine ilave edilip, kuvvetlice karıştırılmıştır.
- 3- Karışım 30 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta bekletilmiştir.
- 4-30 dakika sonunda, karışımın absorbansı spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür.
- 5- Ölçümler üç tekrarlı yapılmıştır.
- 6-Pozitif kontrol olarak standart bir antioksidan olan Rutin'in 50 µg/ml ve 100 µg/ml'lik konsantrasyonları kullanılmıştır.
- 7-Ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktiviteleri aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir:

$$\% \text{ IE} = \left(\frac{\text{Ac-As}}{\text{As}} \right) \times 100$$

% IE: DPPH serbest radikal süpürücü aktivite yüzdesi

Ac: Kontrolün 517 nm'deki absorbansı

As: Örneğin 517 nm'deki absorbansı

8- Her bir bitkiden elde edilen ekstreler için, DPPH metoduna göre yapılan serbest radikal süpürücü deneylerinde ölçülen absorbanslara bağlı olarak, 30 dakika içerisinde DPPH'nin kalibrasyon grafiğinden faydalanılarak IC₅₀ değerleri (ortamdaki serbest radikallerin yarısını süpüren örnek konsantrasyonu) hesaplanmıştır. IC₅₀ değeri ne kadar küçükse ortamdaki bileşiklerin antioksidan aktivitesi de o kadar fazladır denilebilir. Bu, aynı miktarda serbest radikali en düşük konsantrasyonda süpürebilen madde daha kuvvetli aktivite göstermektedir anlamına gelmektedir (Pourmorad *et al.*, 2006).

D- BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN MCF-7 HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ İN VİTRO SİTOTOKSİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Sitotoksisite, herhangi bir kimyasal madde veya dışarıdan gelen bir etkinin hücreleri doğrudan öldürmesi ya da hücrelerin çoğalmasını ve büyümesini inhibe etmesi demektir (Eisenbrand *et al.*, 2002). Toksik olduğu düşünülen maddenin, uygun hücre kültüründe, hücre büyüme oranı ve hücre tahribatı üzerindeki etkisi dikkate alınarak değerlendirme yapılan testlere de "sitotoksisite testleri" denir. Bu test sistemleri; morfolojik olarak hücresel hasarın gözlenmesi, hücresel hasarın çeşitli ölçüm yöntemleri ile belirlenmesi, hücresel büyümenin ve hücresel metabolizmadaki herhangi bir değişikliğin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır.

1- Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi için Kullanılacak Ekstre Çözeltilerinin Hazırlanması

Bitkilerin farklı kısımları kullanılarak elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstrelerin MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacı ile, 10 mg/ml'lik stok ekstre çözeltileri hazırlanmıştır. Hassas terazide gerekli miktarlarda tartılan ekstreler eppendorf tüplerine alınmıştır. Ekstreleri çözmek için gerekli miktarda tartılan ekstre üzerine Dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilmiş (hücre kültürü uygulamalarında ortam içerisindeki oranı % 0,1'i geçmeyecek şekilde) ve ekstreler sonikatör yardımıyla 30 saniye süreyle DMSO'da çözdürülmüştür. Çözdürülen ekstrelerin üzerine azar azar PBS (Fosfat tamponlu tuz çözeltisi) ilave edilerek (pH 7,4) çözdürme işlemine devam edilmiş ve stok çözelti gerekli hacme tamamlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti 0,22 µm por çaplı, şırıngalı filtreden geçirilerek, steril edilmiş kapaklı tüplere alınmış ve denemelerde kullanılıncaya kadar tekrar -20 °C' de saklanmıştır.

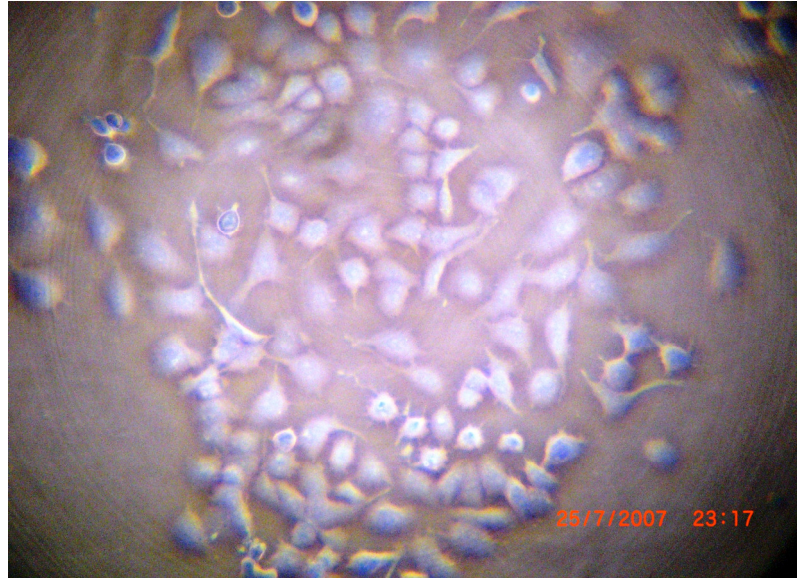
2- Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

a- MCF-7 Hücrelerinin Temini

Denemede 4 farklı bitkiden, bitkilerin farklı kısımları kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik aktivitesinin araştırılması için kullanılacak olan MCF-7 hücreleri (Şekil 3.7), Ege Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir.

MCF-7 dünyada meme kanseri çalışmalarında en fazla kullanılan kültüre edilmiş insan meme kanseri hücre dizinidir (Osborne *et al.*, 1987; Burdall *et al.*, 2003). Bu hücreler ilk kez 1973 yılında Michigan Kanser Araştırma Birimi'nde daha önce radyoterapi ve hormon tedavisi görmüş, metastatik meme kanserli, menopoza girmiş bir kadının malignant göğüs zarı (plevra) efüzyonundan elde edilmiştir. MCF-7

hücreleri östrojen, androjen, progesteron, glukokortikoidler, insülin, epidermal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, prolaktin ve tiroid hormonu gibi bir dizi hormona biyolojik yanıt veren reseptörlere sahiptir (Osborne *et al.*, 1987). Hücreler östrojene proliferatif yanıt vermektedir (Levenson and Jordan, 1997). MCF-7 hücrelerinde, p53 proteinini kodlayan *TP53* geni mutasyona uğramamıştır (Lacroix *et al.*, 2006).



Şekil 3.7. MCF-7 İnsan Meme Metastatik Karsinoma Hücreleri (M.B.10x)

b- MCF-7 Hücrelerinin Çoğaltılması ve Saklanması

Ege Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Bölümü'nden soğuk zincirle getirilen dondurulmuş MCF-7 hücreleri, 37 °C'de su banyosunda hızlıca çözündürülmüştür. Çözündürülen hücreler, içerisinde Fetal Bovine serum, L-Glutamin, esansiyel olmayan amino asitler, sodyum piruvat ve sodyum bikarbonat bulunan EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium) besi ortamına ekilmiştir. Hücreler, iki günde bir besi ortamı değiştirilmek suretiyle, 37 °C'de CO₂'li inkübatörde çoğaltılmışlardır. Çoğalan hücreleri yedeklemek amacı ile hücreler, içerisinde %10 DMSO bulunan besi ortamına alınarak cryo (dondurma) şişelerine konulmuştur. Cryo şişelerine konulan hücreler kademeli olarak (-20 °C ve -80 °C) dondurulmuş ve denemelerde kullanılıncaya kadar sıvı azotta (-196 °C) saklanmıştır.

c- MCF-7 Hücrelerinin Yeniden Canlandırılması ve Çoğaltılması

EMEM besi ortamında çoğaltılarak sıvı azotta dondurulup saklanmış olan MCF-7 Hücreleri, denemelerde kullanılmak üzere yeniden canlandırılmıştır. Bu amaçla, dondurulmuş hücreler 37 °C’de su banyosunda hızlıca çözündürülmüştür. Çözündürülen hücreler EMEM besi ortamına yeniden ekilmiştir. Hücreler sitotoksisite denemelerinde kullanılacak miktara ulaşmaya kadar, iki günde bir besi ortamı değiştirilmek suretiyle 25 cm²’lik (T-25) kültür şişelerinde 37 °C’de CO₂’li inkübatörde çoğaltılmıştır. Tez çalışması süresince MCF-7 hücrelerinin çoğaltılması rutin olarak sürdürülmüştür.

d- Çoğaltılan MCF-7 Hücrelerinin 24-Kuyucuklu Plaklara (24-well plate) Ekilmesi

T-25 kültür şişelerinde çoğaltılan MCF-7 hücreleri, kültür şişelerinde %80-90 yoğunluğa ulaştığında tripsinle muamele edilerek, hücrelerin kültür şişesinde tuttukları zeminden ayrılması sağlanmıştır. Süspansiyon haldeki MCF-7 hücrelerini içeren tripsin üzerine serum içeren besiyeri ilave edilerek, tripsin inaktive edilmiş ve tripsin+besiyeri karışımı içerisinde süspansiyon halde bulunan hücreler, kapaklı bir tüp içerisinde toplanarak santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen hücreler, süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra besiyeri ile tekrar süspansiyon edilmiştir. Tekrar süspansiyon edilen hücrelerden 50 µl alınarak eppendorf tüplerine aktarılmış ve üzerine aynı miktarda trypan blue (tripan mavisi) ilave edilmiştir. Daha sonra hazırlanan bu karışımdan örnek alınarak Thoma lamında inceleme ve sayım yapılmış, 1 ml’deki toplam hücre sayısı ve % canlılık oranı belirlenmiştir. Canlılık oranı (%) belirlenirken hücrelerin Tripan mavisi (Trypan Blue) ile boyanma oranları göz önüne alınmıştır. Bu şekilde toplam hücre sayısı ve % canlılık oranı belirlendikten sonra, 24-kuyucuklu plaklara ekim yapmak için her kuyucukta 50.000 hücre/ml olacak şekilde gerekli hesaplamalar yapılmış ve steril koşullarda kapaklı tüpler içerisinde seyreltmeler yapılarak, denemelerde kullanılmak üzere gereken miktarda hücre elde edilmiştir.

e- MCF-7 Hücrelerine Ekstre Uygulamalarının Yapılması

Denemede kullanılacak olan ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin belirlemesi amacı ile MCF-7 hücreleri 24-kuyucuklu plaklara ekilmiş ve kuyucukların karışmaması için her bir kuyucuk, üzerine açıklayıcı bilgiler yazılarak etiketlenmiştir. Ekim yapıldıktan sonra hücrelerin kuyucuk zeminine tutunması için 24 saat beklenmiş ve kuyucuk zeminine tutunan hücreler, farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstreler (diethyl eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) ile 24 ve 72 saat süre ile muamele edilmiştir.

Ekstre uygulamalarından 24 ve 72 saat sonra, sayımı yapılacak hücrelerin bulunduğu kuyucuklardaki besiyeri uzaklaştırılarak, pH'sı 7,4 olan PBS ile 3 kez yıkama yapılmış ve hücreler tripsinle muamele edilerek, hücrelerin tutundukları kuyucuk zeminden ayrılmaları sağlanmıştır. Süspansiyon haldeki MCF-7 hücrelerini içeren tripsin üzerine serum içeren besiyeri ilave edilerek, tripsin inaktive edilmiş ve tripsin+besiyeri karışımı içerisinde süspansiyon halde bulunan hücreler, mikropipetle alınarak 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Eppendorf tüplerinde bulunan hücre süspansiyonundan başka bir mikropipet yardımı ile 50 µl hücre süspansiyonu alınarak, süspansiyon diğer bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır.

f- Trypan Blue Exclusion (Tripan mavisi) Yöntemi ile in vitro Sitotoksitenin Belirlenmesi

Denemede 4 farklı bitkiden, bitkilerin farklı kısımları kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi Trypan Blue Exclusion Yöntemi ile belirlenmiştir (Son *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2005).

Ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin belirlenebilmesi amacı ile; eppendorf tüpü içerisinde bulunan 50 µl hücre süspansiyonu üzerine 50 µl % 0,4'lük tripan mavisi ilave edilerek, boyama sonrasında ışık mikroskopunda canlı ve ölü hücre sayımı yapılmıştır. Her bir ekstrenin her bir konsantrasyonu için; 100

hücrede sayım yapılmıştır. Denemeler 3 tekrarlı olduğu için her bir ekstre konsantrasyonu için toplam 300 hücrede sayım yapılmıştır. % sitotoksisite oranı aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir (Son *et al.*,2003; Lee *et al.*, 2005).

$$\% \text{ Sitotoksisite} = [(\text{Toplam Hücre-Canlı Hücre}) / \text{Toplam Hücre}] \times 100$$

MCF-7 hücrelerinin % 50 sinin ölümüne sebep olan ekstre konsantrasyonu (CC₅₀) değerleri de, uygulanan ekstre konsantrasyonlarına karşı % sitotoksisitenin grafikleri çizilerek hesaplanmıştır. Kontrole göre %50 oranında sitotoksik etki gösteren konsantrasyon sitotoksik doz olarak, sitotoksisitesi %50'nin altında bulunan konsantrasyonlar ise; etkisiz olarak kabul edilmiştir.

Denemelerde uygulama gruplarının yanı sıra, biri sadece besi yerinde büyütülen hücreler, diğeri, çözücü (% 0,1'i geçmeyecek oranda DMSO) içeren besi yerinde büyütülen hücrelerden olmak üzere iki farklı kontrol grubu da kullanılmıştır. Uygulama grupları için izlenen işlem basamakları kontrol grupları için de benzer şekilde yapılmıştır.

E- BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN MCF-7 HÜCRELERİNİN GENETİK MATERYALİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN COMET YÖNTEMİ (COMET ASSAY) İLE BELİRLENMESİ

Denemede kullanılan bitkilerden elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinin genetik materyali (DNA) üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacı ile; in vitro sitotoksisite denemeleri sonucunda MCF-7 hücreleri üzerinde en fazla sitotoksik etkiye neden olan ekstre konsantrasyonları (100, 150, 200 ve 300 µg/ml) seçilmiştir. MCF-7 hücreleri ekstrelerin seçilen konsantrasyonları ile 72 saat süre ile muamele edilmiş ve süre sonunda MCF-7 hücrelerinin genetik materyalinde (DNA) ortaya çıkan hasar, Comet Yöntemi (Comet assay; tek hücre jel elektroforezi) ile (Singh *et al.*, 1988) her bir bitki için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Comet yöntemi; DNA’da oluşan hasar ve tamirleri gösterebilmesi, az sayıda hücre ile analizin gerçekleştirilebilmesi, değişik doku ve hücre grupları ile çalışılabilmesi, sonuçların birkaç saat içinde elde edilip verilerin değerlendirilebilmesi, güvenli ve nispeten ekonomik olması nedeni ile giderek yaygınlaşan bir kullanım alanı bulan hızlı, kolay ve duyarlı bir yöntemdir (Tice *et al.*, 2000; Collins and Horvathova, 2001; Sasaki *et al.*, 2002). Nötral comet tekniğinde, nötral deney şartlarının denaturasyonu hızlandırmadığı ve bunun sadece çift bağ hasarının tanınmasına yol açtığı ve sonuçta bu yöntemle DNA çift zincir (sarmal) kırıkları tespit edilebilirken; alkali comet tekniğinde ise, DNA tek zincir kırıklarını tespit etmek de mümkündür (Tice *et al.*,2000; Collins and Horvathova, 2001; Sasaki *et al.*,2002). Alkali ortamda bağların çözülmesi ve DNA moleküllerinin denaturasyonu daha kolaydır. Süperkoil yapıda ve az miktarda non-histon protein içeren nükleoid DNA alkali ortamda bekletildiğinde, zincir kırıklarının bulunduğu bölgelerde süperkoil yapı gevşeyerek açılır. Bu da DNA’da tek bağ hasarına neden olur. Bu nedenle son yıllarda tercih edilen yöntem alkali ortamda DNA hasarını çalışmaktır (Klaude *et al.*, 1996; Collins *et al.*, 1997).

Ekstrelerin seçilen konsantrasyonlarının alkali ortamda MCF-7 hücrelerinin genetik materyalinde oluşturduğu hasarı belirleyebilmek için aşağıda belirtilen işlem basamakları uygulanmıştır:

- 1- MCF-7 hücreleri kültür şişelerinde yeterli sayıya ulaşıncaya dek yeniden çoğaltıldıktan sonra 24 kuyucuklu plaklara ekim yapılmıştır.
- 2- Ekim yapıldıktan sonra hücrelerin kuyucuk zeminine tutunması için 24 saat beklenmiş ve süre sonunda MCF-7 hücreleri 72 saat süreyle 100, 150, 200 ve 300 µg/ml’lik ekstreler ile muamele edilmiştir.
- 3- Muamele süresi sonunda tripsinlenerek toplanan hücreler, eppendorf tüplerine aktarılmış ve santrifüjlenerek, süpernatant kısmı atılmış ve hücreler % 0,5’lik low melting agarose (LMPA) ile süspanse edilmiştir.

4- Ekstre uygulama süresi (72 saat) sona ermeden 24 saat önce temiz lamalar % 1'lik agarozla kaplanmış ve 1 gece kurumaya bırakılmıştır.

5- % 0,5'lik low melting agarose (LMPA) ile süspanse edilen hücreler, % 1'lik agarozla kaplanmış olan lamaların üzerine yayılmış ve preparat lamelle kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar buz üzerinde 5 dakika bekletilerek LMPA'nın katılması sağlanmıştır.

6- Katılan LMPA üzerinden lamel dikkatlice uzaklaştırılmış ve preparat tekrar LMPA ile kaplanarak 3. bir tabaka oluşturulmuş ve lamelle kapatılarak 5. basamak tekrarlanmıştır (sandviç modeli).

7- Preparatlar, taze hazırlanmış soğuk lysing çözeltisinde (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Trizma base, % 1 Triton X-100 ve %10 DMSO) 1 gece süreyle +4 °C'de bekletilmiştir. Ertesi gün preparatlar, DNA sarmallarının çözülmesi (unwinding) ve alkali koşullara duyarlı (alkali-labile) DNA bölgelerinin ifade edilebilmesi (expression) için alkali tamponda (1mM EDTA and 300 mM NaOH, pH>13) 20 dk bekletilmiştir.

8- 72 saat süreyle ekstre muamelesi yapılan MCF-7 hücrelerinin genetik materyalinde (DNA) meydana gelen DNA kırıklarının elektriksel alanda DNA sarmalları içerisinde uzaklaşması için, aynı çözeltide 25V, 300 mA'da 30 dk süreyle elektroforez işlemi yapılmıştır. Elektroforez sırasında anoda doğru hareket eden DNA bir kuyruklu yıldız görüntüsü verir. DNA'nın sağlam kısmı yıldızın başını, kırık parçalar ise kuyruğunu oluşturur. "Baş" bölgesi çekirdek dışına göç etmeyen, "kuyruk" ise parçalanmaya ve yapısal kayba bağlı olarak çekirdek dışına göç etmiş DNA'yı belirtmektedir.

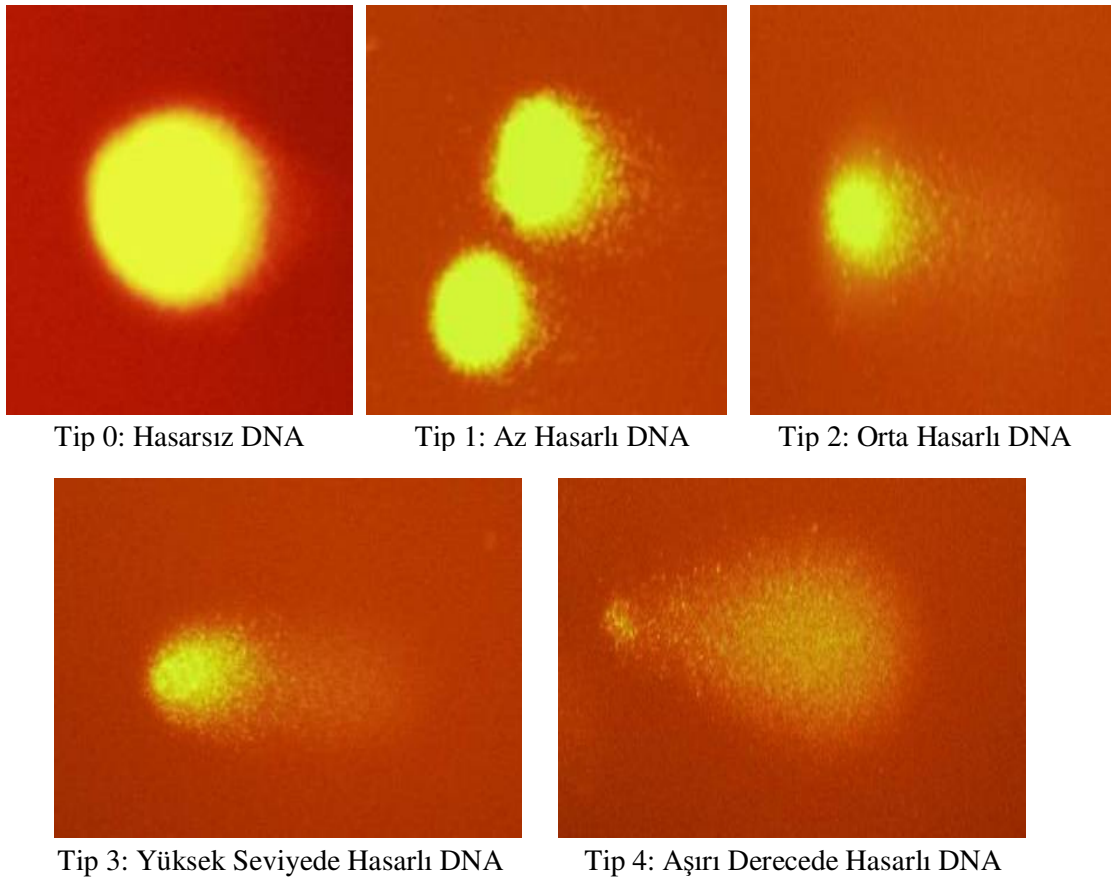
9- Elektroforezden sonra preparatlar nötralizasyon tamponu ile (0.4M Tris, pH 7.5) nötralize edilmiştir. Nötralizasyondan sonra preparatlar DNA'nın boyanması için 80µl (20 µg/ml) etidyum bromid ile 5 dk boyanmıştır. Boyanan preparatlar Olympus DP 70 görüntü aktarma cihazı bulunan OLYMPUS BX 51 floresans mikroskopta, yeşil ışık altında incelenmiştir.

10- Her uygulama 3 tekrarlı yapılmış ve her preparat toplam 100 hücre üzerinden değerlendirilmiştir. Denemeler 3 tekrarlı olduğu için her bir ekstre konsantrasyonu için, toplam 300 hücrede sayım yapılmıştır.

11- Floresan mikroskopunda verdikleri görüntüye göre DNA'lar hasar bakımından 5 farklı kategoriye (tipe) ayrılarak değerlendirilir. Hasarsız DNA kuyuksuz yıldız görünümündedir ve 0 kategorisini (tipini) oluşturur. Çok hasarlı DNA'da ise kuyuklu yıldızın baş kısmı yoktur sadece kuyruk görünümündedir ve 4 kategorisini (tipini) oluşturur. Çok az, az ve orta derecede hasarlı DNA kuyruk kısmının genişliğine göre 1, 2, 3 ve 4 kategorilerini (tiplerini) oluşturur (Collins and Horvathova , 2001) (Şekil 3.8).

12- Preparat başına her tipteki DNA hasar %'si (% comet) hesaplanmış, hesaplanan DNA hasar %'leri toplanarak sonuçlar, % hasarlı hücre olarak değerlendirilmiştir. Her bir kategorideki (tipteki) DNA hasarı saptanarak DNA zincir kırıkları sıklığı arbitrary unite (au) olarak ifade edilmiştir. au kuyruk kısmında bulunan % DNA'yı göstermektedir (Collins *et al.*, 1995). Her sınıftaki hasarlı hücrelerin yüzdesi, cometlerin tip numarası (0-4 arası) ile çarpılarak Arbitrary unite (au) değeri hesaplanmıştır (Tip 1+ 2.Tip 2+ 3.Tip 3+ 4.Tip 4). au sonuçları, DNA hasar seviyesinin fonksiyonu olan kuyruk yoğunluğu ile ilişkilendirilebildiği için görsel comet değerlendirmesinde önem taşımaktadır. au değeri ne kadar büyükse DNA hasarı seviyesi de o kadar yüksek demektir. Ayrıca, au değerleri kullanılarak genetik hasar indeksi (GHI) de belirlenmiştir. GHI de comet yönteminde DNA hasarı seviyesinin belirlenmesinde kullanılan parametrelerden biridir. GHI, au değerinin hasar tiplerinin toplamına bölünmesi ile hesaplanmıştır. GHI'nın hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (Pitarque *et al.*, 1999):

$$\text{GHI} = (\text{Tip 1} + 2.\text{Tip 2} + 3.\text{Tip 3} + 4.\text{Tip 4}) / (\text{Tip 0} + \text{Tip 1} + \text{Tip 2} + \text{Tip 3} + \text{Tip 4})$$



Şekil 3. 8. MCF-7 hücrelerinde çeşitli derecelerdeki DNA hasarları

F- İSTATİSTİKÎ ANALİZ

Üç tekrarlı denemelerden elde edilen verilerin ortalama değeri \pm SD olarak verilmiştir. Kontroller ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar ile sonuçların istatistiki önemi, SPSS 11.5 istatistik paket programında One Way ANOVA varyans analizi yapılarak değerlendirilmiştir ($p < 0,05$).

IV. BULGULAR

A- BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Tez çalışması kapsamında *E. platyphyllos* , *V.agnus-castus*, *D. vulgaris*, *A. aestivus*'dan bitkilerin farklı kısımları kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrelerin (dietyl eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) antioksidan aktiviteleri, DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) serbest radikal süpürücü aktivitesi üzerinden DPPH yöntemi ile spektrofotometrik olarak tayin edilerek Brand-Williams *et al.*, (1995) 'e göre belirlenmiştir. Ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü kapasiteleri, özellikle *Citrus* türlerinde yaygın olarak bulunan bir flavonoid glukosid olan sentetik bir antioksidan rutin (standart) ile karşılaştırılmış ve ekstrelerin antioksidan aktivitesi, her bir bitki için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

1-*Euphorbia platyphyllos* L. (Sütleğen) Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

E. platyphyllos bitkisinden tam bitki kullanılarak, farklı yöntemlerle elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrelerin (dietyl eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve su (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) sentetik bir antioksidan olan rutin'e göre % DPPH radikal süpürücü aktivitesi ile DPPH'nin kalibrasyon grafiğinden faydalanılarak hesaplanan IC₅₀ değerleri (ortamdaki serbest radikallerin yarısını süpüren ekstre konsantrasyonu), her bir ekstre için Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1.a-g'de yer almaktadır.

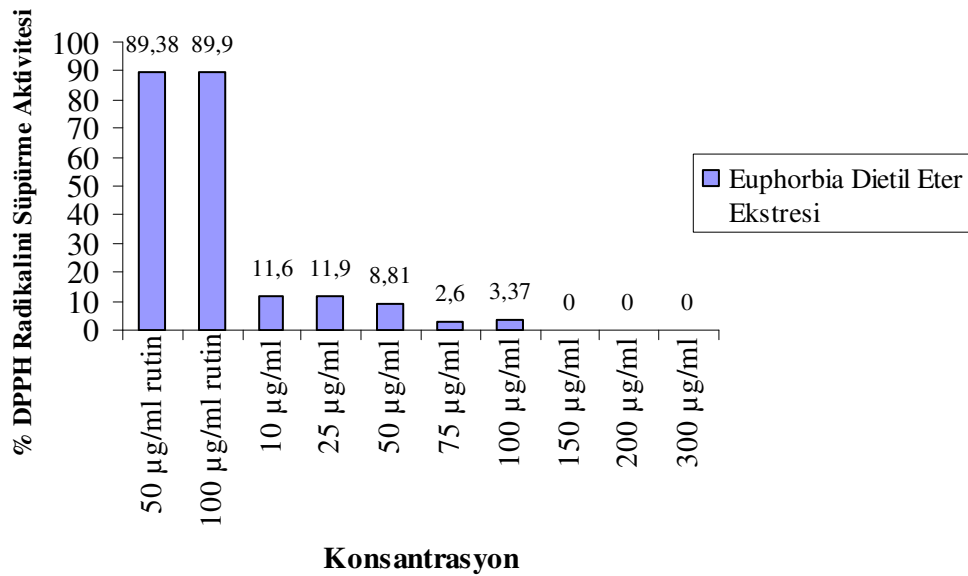
Çizelge 4.1. *Euphorbia platyphyllos* L.'den elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ve IC₅₀ değerleri

Ekstre Tipi	Konsantrasyon	% DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	IC ₅₀
Rutin	50 µg/ml	89,38±0,000	7,77 µg/ml
Rutin	100 µg/ml	89,90±0,005	
Dietil Eter	10 µg/ml	11,6±0,006	-----
	25 µg/ml	10,90±0,000	
	50 µg/ml	8,81±0,002	
	75 µg/ml	2,60±0,014	
	100 µg/ml	3,37±0,004	
	150 µg/ml	---	
	200 µg/ml	---	
	300 µg/ml	---	
Petrol Eteri	10 µg/ml	7,77±0,001	-----
	25 µg/ml	5,44±0,006	
	50 µg/ml	---	
	75 µg/ml	9,07±0,008	
	100 µg/ml	7,77±0,004	
	150 µg/ml	6,21±0,036	
	200 µg/ml	4,40±0,004	
	300 µg/ml	2,36±0,055	
Etil Asetat	10 µg/ml	47,40±0,000	11,71 µg/ml
	25 µg/ml	93,80±0,003*	
	50 µg/ml	94,60±0,000*	
	75 µg/ml	91,20±0,000*	
	100 µg/ml	91,00±0,004*	
	150 µg/ml	90,69±0,016*	
	200 µg/ml	90,70±0,002*	
	300 µg/ml	80,91±0,018*	
Metanol	10 µg/ml	66,06±0,009*	8,50 µg/ml
	25 µg/ml	90,41±0,001*	
	50 µg/ml	88,08±0,003*	
	75 µg/ml	89,64±0,014*	
	100 µg/ml	90,67±0,012*	
	150 µg/ml	96,98±0,061*	
	200 µg/ml	87,31±0,001*	
	300 µg/ml	90,77±0,000*	
İnfüzyon (sulu)	10 µg/ml	50,26±0,001*	9,70 µg/ml
	25 µg/ml	86,27±0,000*	
	50 µg/ml	90,16±0,016*	
	75 µg/ml	84,97±0,001*	
	100 µg/ml	89,64±0,016*	
	150 µg/ml	88,34±0,065*	
	200 µg/ml	83,94±0,001*	
	300 µg/ml	80,07±0,038*	
Dekoksiyon (sulu)	10 µg/ml	41,45±0,012	12,50 µg/ml
	25 µg/ml	80,57±0,001*	
	50 µg/ml	82,90±0,001*	
	75 µg/ml	82,90±0,003*	
	100 µg/ml	81,61±0,002*	
	150 µg/ml	81,32±0,012*	
	200 µg/ml	80,83±0,001*	
	300 µg/ml	80,13±0,015*	

*p<0,05

a- Dietil Eter Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin rutine göre oldukça düşük olduğu ve artan ekstre konsantrasyonlarında (150, 200 ve 300 µg/ml) bu etkinin tamamen kaybolduğu Çizelge 4.1 ve Şekil.4.1.a'dan izlenebilir. Dietil eter ekstresinin % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesinin çok düşük olması ve konsantrasyon artışıyla birlikte etkisini tamamen kaybetmesi nedeni ile bu ekstrenin DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır.

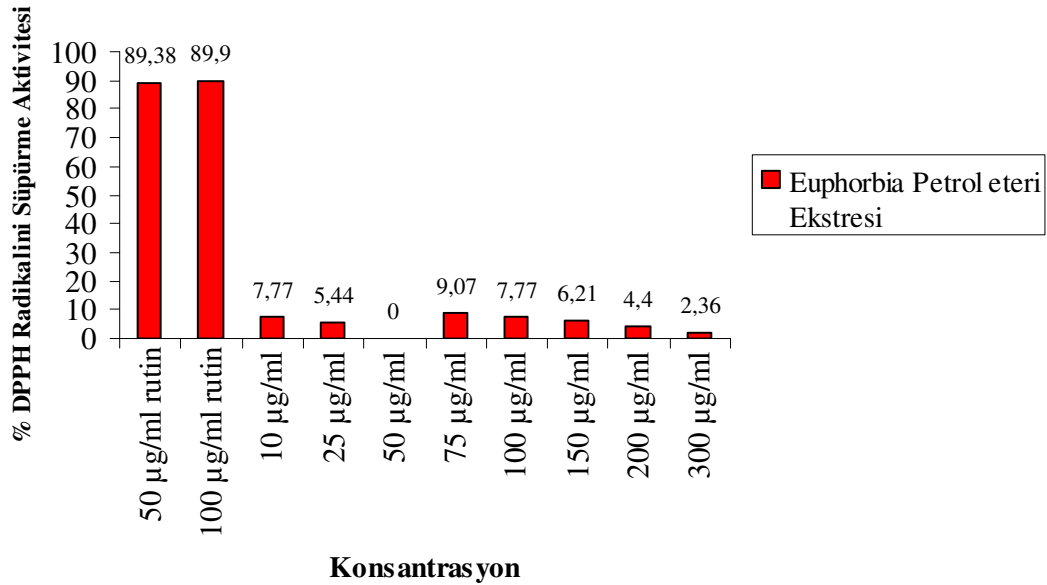


Şekil 4.1.a. *Euphorbia platyphyllos* L. dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

b-Petrol Eteri Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan petrol eteri ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin denenen bütün konsantrasyonlarda rutinle karşılaştırıldığında, dietil eter ekstresine benzer şekilde çok düşük olduğu ve konsantrasyon artışıyla birlikte bu etkinin gittikçe azaldığı görülmektedir. Petrol eteri ekstresinin de serbest

radikali süpürücü aktivitesinin bulunmaması nedeni ile IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1.b).

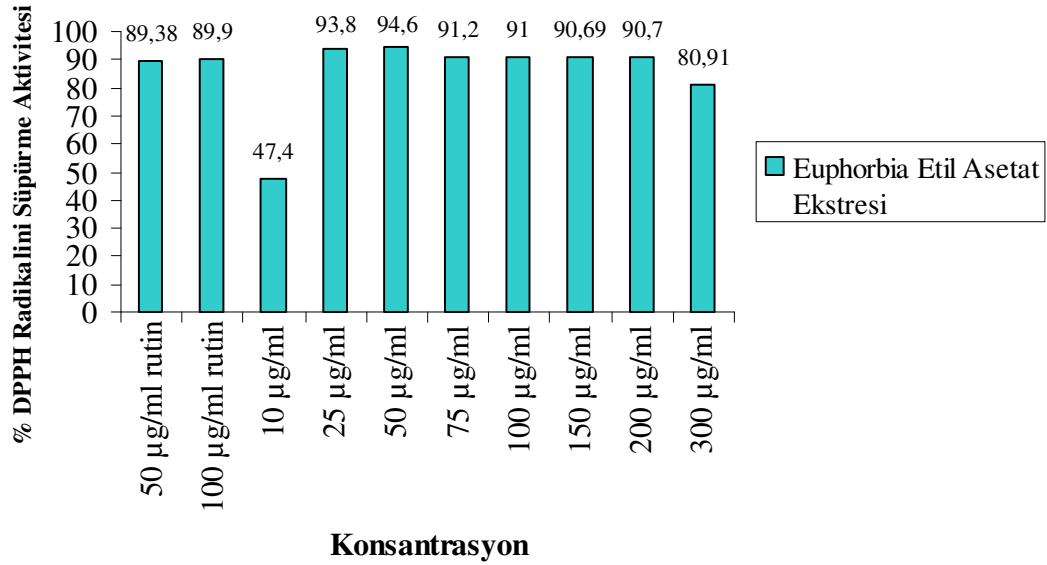


Şekil 4.1.b. *Euphorbia platyphyllos* L. petrol eteri ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

c- Etil Asetat Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Etil asetat ekstresi, 10 µg/ml' lik ekstre hariç denenen bütün konsantrasyonlarda rutinle karşılaştırıldığında (sırası ile, % 89,39 ve % 89,90), dietil eter ve petrol eteri ekstrelerinin aksine, rutin serbest radikali süpürücü aktivitesinden daha yüksek seviyede % DPPH serbest radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Etil asetat ekstresindeki en yüksek % DPPH serbest radikal süpürücü aktivite 50 µg/ml'de elde edilmiştir (% 94,60). Ancak 50 µg/ml'de gözlenen bu yüksek radikal süpürücü aktivite, konsantrasyon artışı ile birlikte azalmaya başlamış ve en yüksek konsantrasyon olan 300 µg/ml'de % 80,91'e gerilemiştir (Şekil 4.1.c). Etil asetat ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değeri, 11,71 µg/ml olup, bu değer rutine göre (7,77 µg/ml) yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1). Bir ekstrenin IC₅₀ değeri ne kadar küçükse antioksidan aktivitesi de o kadar fazladır denilebilir. Bu, aynı miktar serbest radikali en düşük konsantrasyonda süpürebilen

maddeler daha kuvvetli aktivite göstermektedir demektir (Pourmorad *et al.*, 2006). Buna göre, etil asetat ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin rutine göre biraz düşük olduğu söylenebilir.

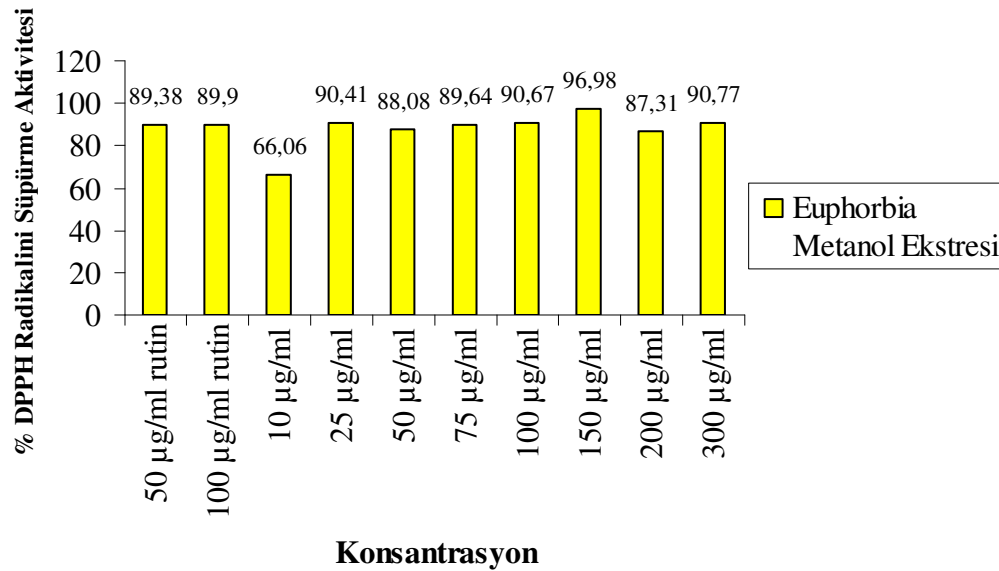


Şekil 4.1.c. *Euphorbia platyphyllos* L. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

d- Metanol Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Metanol ekstresi de en düşük konsantrasyon olan 10 µg/ml'den itibaren denenen bütün konsantrasyonlarda rutinle karşılaştırıldığında, yüksek oranda % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi göstermiştir. Denenen konsantrasyonlar arasındaki en yüksek radikal süpürücü aktivite, 150 µg/ml'de elde edilmiştir (% 96,98). Metanol ekstresinden elde edilen bu yüksek süpürücü aktivite değeri rutinle karşılaştırılırsa, rutinin serbest radikali süpürücü aktivitesinden (sırası ile, % 89,39 ve % 89,90) daha fazla olduğu görülmektedir. Metanol ekstresine ilişkin serbest radikal süpürücü aktivite ve IC₅₀ değerleri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1.d' de yer almaktadır. Metanol ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri dikkate alındığında, metanol ekstresinin IC₅₀ değeri (8,50 µg/ml), rutine (7,77 µg/ml) göre daha yüksektir (Çizelge 4.1). Buna göre, metanol ekstresinin de ortamdaki

serbest radikali süpürücü aktivitesinin de rutine göre biraz düşük olduğu ortaya çıkmıştır.



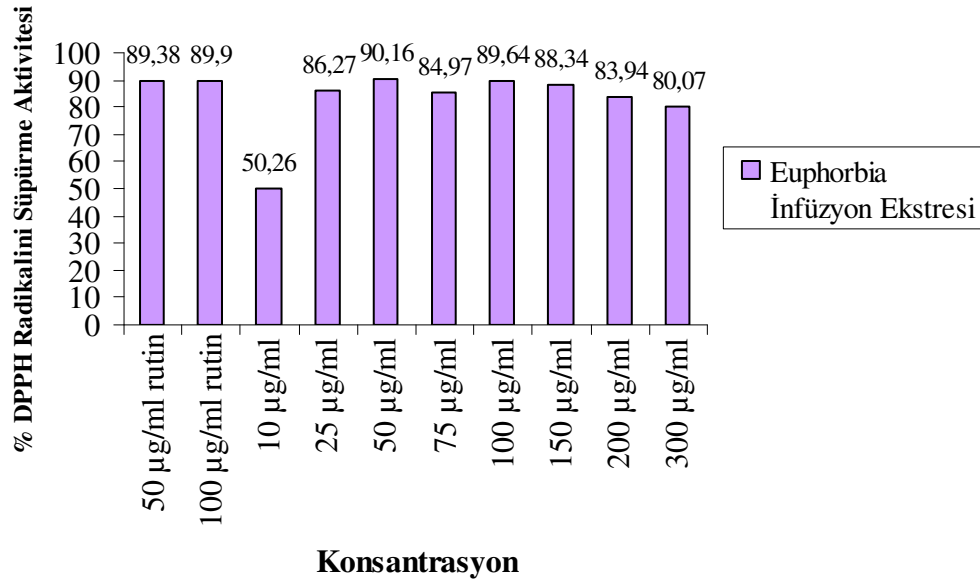
Şekil 4.1.d. *Euphorbia platyphyllos* L. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

e- Sulu Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

İnfüzyon ekstresi de denenen bütün konsantrasyonlarda en düşük konsantrasyon olan 10 µg/ml'den itibaren (% 50,26) yüksek % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi göstermiştir. Denenen konsantrasyonlar arasında en yüksek % DPPH radikal süpürücü aktivite 50 µg/ml'de elde edilmiştir (% 90,16). İnfüzyon ekstresinden elde edilen bu yüksek radikal süpürücü aktivite değerleri rutinle karşılaştırılırsa, infüzyon ekstresinin serbest radikali süpürücü aktivitesinin 50 µg/ml'lık konsantrasyon hariç, denenen diğer konsantrasyonlarda, rutinden daha yüksek olduğu görülmektedir İnfüzyon ekstresine ilişkin serbest radikal süpürücü aktivite ve IC₅₀ değerleri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1.e' de yer almaktadır. İnfüzyon ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri dikkate

alındığında; infüzyon ekstresinin IC₅₀ değerinin (9,70 µg/ml) rutine göre (7,77 µg/ml) daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1). Buna göre, infüzyon ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin de rutine göre biraz düşük olduğu söylenebilir.

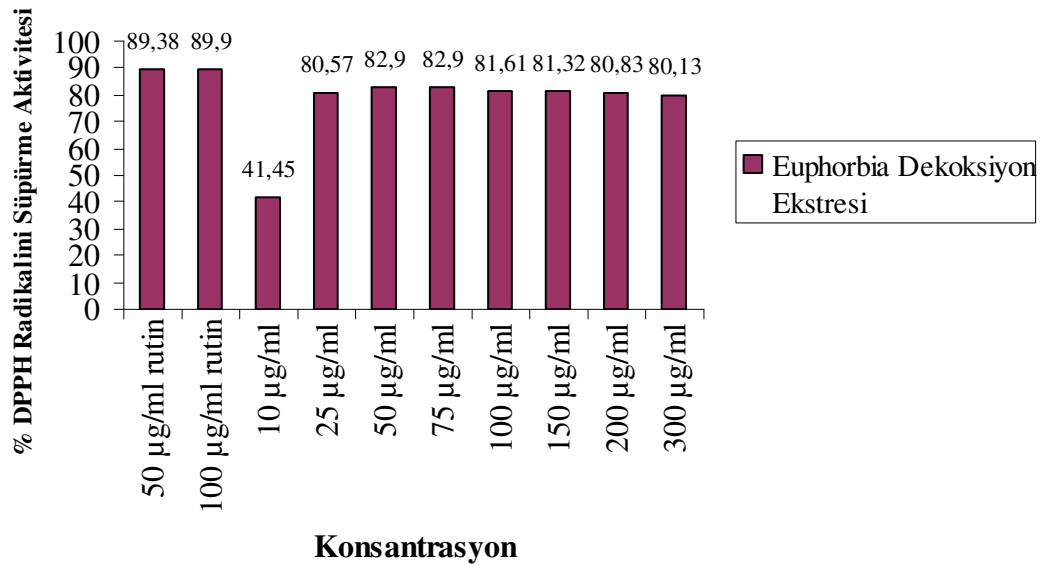


Şekil 4.1.e. *Euphorbia platyphyllos* L. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

E. platyphyllos'dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan dekoksiyon ekstresinde de infüzyon ekstresine benzer sonuçlar elde edilmiştir. Dekoksiyon ekstresi de 10 µg/ml'lik konsantrasyon hariç (% 41,45) denenen bütün konsantrasyonlarda yüksek % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi göstermiştir. Denenen konsantrasyonlar arasındaki en yüksek % DPPH radikal süpürücü aktivite 50 ve 75 µg/ml'de elde edilmiştir (her iki konsantrasyonda da (% 82,90). Dekoksiyon ekstresine ilişkin serbest radikal süpürücü aktivite ve IC₅₀ değerleri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1.f' de yer almaktadır. Dekoksiyon ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri dikkate alındığında,

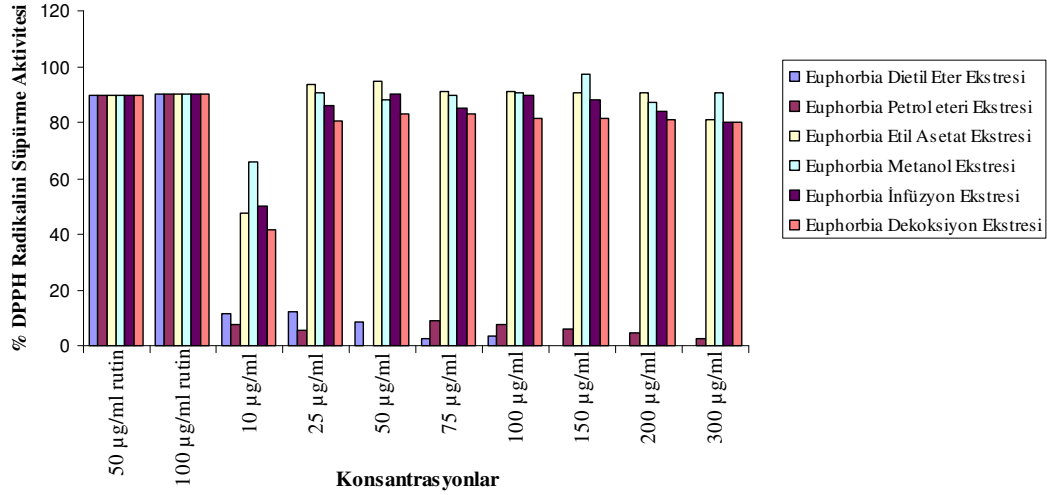
dekoksasyon ekstresinin IC₅₀ değerinin (12,50 µg/ml) rutine göre (7,77 µg/ml) daha yüksek olduğu görülmektedir (izelge 4.1). Buna göre, dekoksasyon ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesi de rutine göre biraz düşüktür denilebilir.



şekil 4.1.f. *Euphorbia platyphyllos* L. dekoksasyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

E.platyphyllos'dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri dikkate alındığında, ekstrelerin IC₅₀ değerleri rutine göre daha yüksek olmuştur (izelge 4.1). Oysa, IC₅₀ değeri ne kadar küçükse, ortamdaki maddelerin antioksidan aktivitesi de o kadar fazladır (Pourmorad *et al.*, 2006). Denemeden elde edilen bu verilere göre; *E. platyphyllos* L.'dan elde edilen ekstrelerin serbest radikali süpürücü aktivitesi, sentetik bir antioksidan olan rutine göre biraz düşüktür denilebilir. Ekstreler IC₅₀ değerleri bakımından kendi aralarında sıralandığında ise; rutin serbest radikali süpürücü aktivitesine (7,77 µg/ml) en yakın serbest radikali süpürücü aktivite gösteren ekstrenin, 8,50 µg/ml'lik değer ile metanol ekstresi olduğu görülmektedir.

Bunu sırası ile İnfüzyon > Etil Asetat > Dekoksiyon > Dietil Eter > Petrol Eteri ekstreleri izlemektedir (Şekil 4.1.g).



Şekil 4.1.g. *Euphorbia platyphyllos* L.' den elde edilen ekstrelerin %DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

2- *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt, Beşparmak otu) Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

V. agnus-castus tohumlarından elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrelerin (dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve su (infüzyon (demleme) ve dekoksiyon (kaynatma)) sentetik bir antioksidan olan rutine göre % DPPH radikal süpürücü aktivitesi ile DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri, her bir ekstre için Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2.a-g'de yer almaktadır.

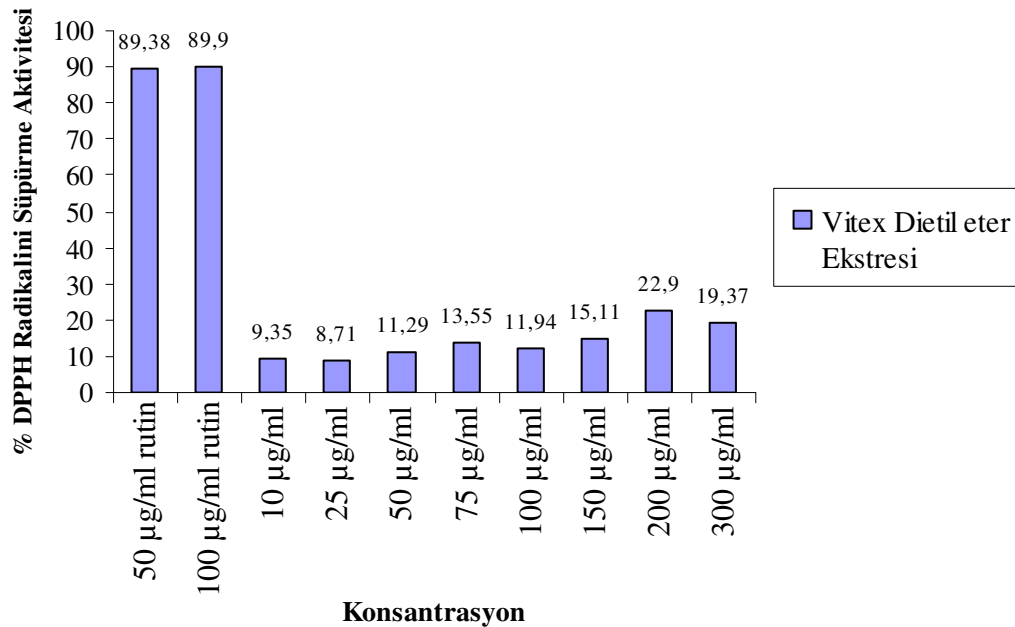
Çizelge 4.2. *Vitex agnus-castus* L.'den elde edilen ekstrelerin % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi ve IC₅₀ değerleri

	Ekstre Tipi	Konsantrasyon	% DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	IC ₅₀
	<i>Vitex agnus-castus</i>	Rutin	50 µg/ml	89,38±0,000
Rutin		100 µg/ml	89,90±0,005	
Dietil Eter		10 µg/ml	9,35±0,002	-----
		25 µg/ml	8,71±0,000	
		50 µg/ml	11,29±0,000	
		75 µg/ml	13,55±0,001	
		100 µg/ml	11,94±0,001	
		150 µg/ml	15,11±0,011	
		200 µg/ml	22,90±0,001	
		300 µg/ml	19,37±0,004	
Petrol Eteri		10 µg/ml	9,35±0,001	-----
		25 µg/ml	9,03±0,011	
		50 µg/ml	10,32±0,001	
		75 µg/ml	6,77±0,001	
		100 µg/ml	8,06±0,001	
		150 µg/ml	10,33±0,001	
		200 µg/ml	11,29±0,001	
		300 µg/ml	12,10±0,011	
Etil Asetat		10 µg/ml	8,06±0,008	-----
		25 µg/ml	13,55±0,001	
		50 µg/ml	16,13±0,001	
		75 µg/ml	24,52±0,000	
		100 µg/ml	22,90±0,001	
		150 µg/ml	27,20±0,015	
		200 µg/ml	34,52±0,000	
		300 µg/ml	40,81±0,024	
Metanol		10 µg/ml	11,61±0,001	83,47 µg/ml
		25 µg/ml	18,06±0,001	
		50 µg/ml	32,90±0,001	
		75 µg/ml	47,42±0,001	
		100 µg/ml	57,74±0,001*	
		150 µg/ml	58,85±0,030*	
	200 µg/ml	83,55±0,008*		
	300 µg/ml	79,77±0,002*		
İnfüzyon (sulu)	10 µg/ml	11,61±0,002	87,60 µg/ml	
	25 µg/ml	18,71±0,000		
	50 µg/ml	31,61±0,001		
	75 µg/ml	46,13±0,010		
	100 µg/ml	53,23±0,001*		
	150 µg/ml	55,39±0,012*		
	200 µg/ml	82,90±0,010*		
	300 µg/ml	81,80±0,042*		
Dekoksiyon (sulu)	10 µg/ml	9,86±0,001	85,33 µg/ml	
	25 µg/ml	20,00±0,001		
	50 µg/ml	48,71±0,008		
	75 µg/ml	48,71±0,009		
	100 µg/ml	54,52±0,010*		
	150 µg/ml	58,19±0,013*		
	200 µg/ml	77,42±0,001*		
	300 µg/ml	79,27±0,001*		

*p<0,05

a- Dietil Eter Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Çizelge 4.2 ve Şekil.4.2.a'dan da izlenebileceği gibi, *V. agnus-castus* dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi rutine göre (sırası ile % 89,39 ve %89,90) oldukça düşüktür ve artan ekstre konsantrasyonlarında % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitede küçük artışlar olmasına rağmen, yine de bu artışlar rutine göre oldukça azdır. Dietil eter ekstresinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesinin düşük olması nedeni ile bu ekstrenin DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.2).

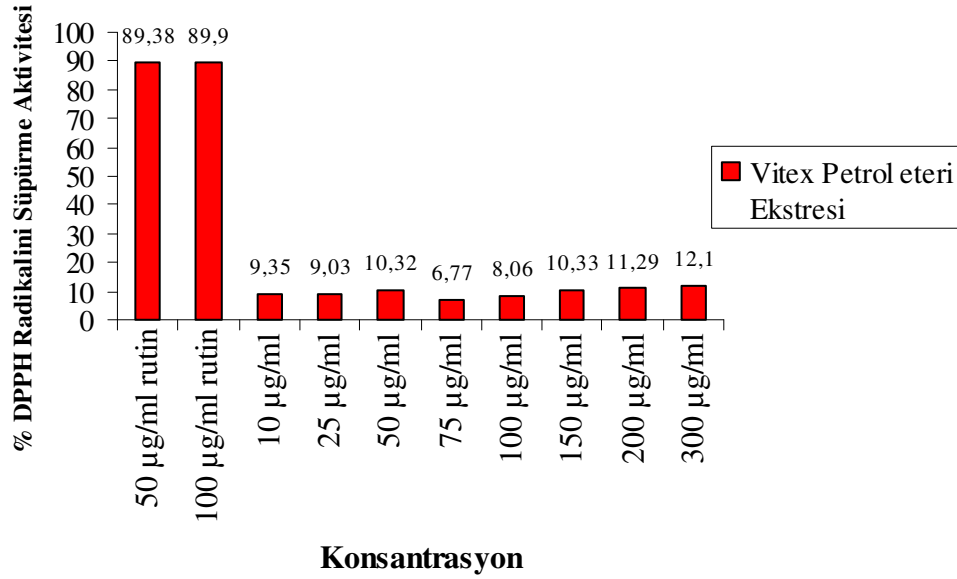


Şekil 4.2.a. *Vitex agnus- castus* L. dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

b- Petrol Eteri Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Petrol eteri ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin denenen bütün konsantrasyonlarda rutinle (sırası ile, % 89,39 ve % 89,90) karşılaştırıldığında dietil eter ekstresine benzer şekilde, çok düşük olduğu ve konsantrasyon artışıyla birlikte serbest radikali süpürücü aktivitesinde hafif bir artış olmakla birlikte, bu artışın

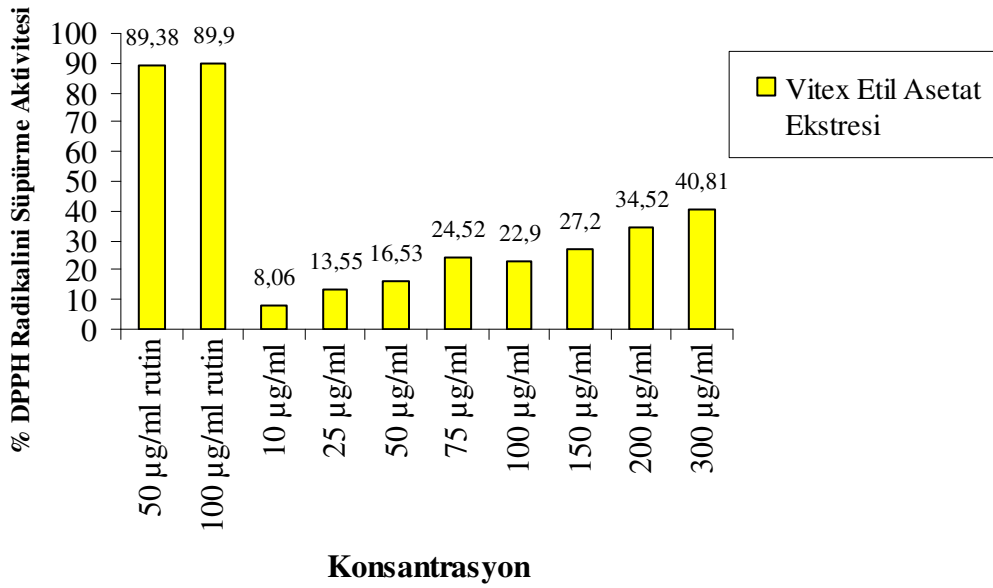
önemsiz olduğu görülmüştür. Petrol eteri ekstresinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesinin düşük olması nedeni ile bu ekstrenin de DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2.b).



Şekil 4.2.b. *Vitex agnus- castus* L. petrol eteri ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

c- Etil Asetat Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

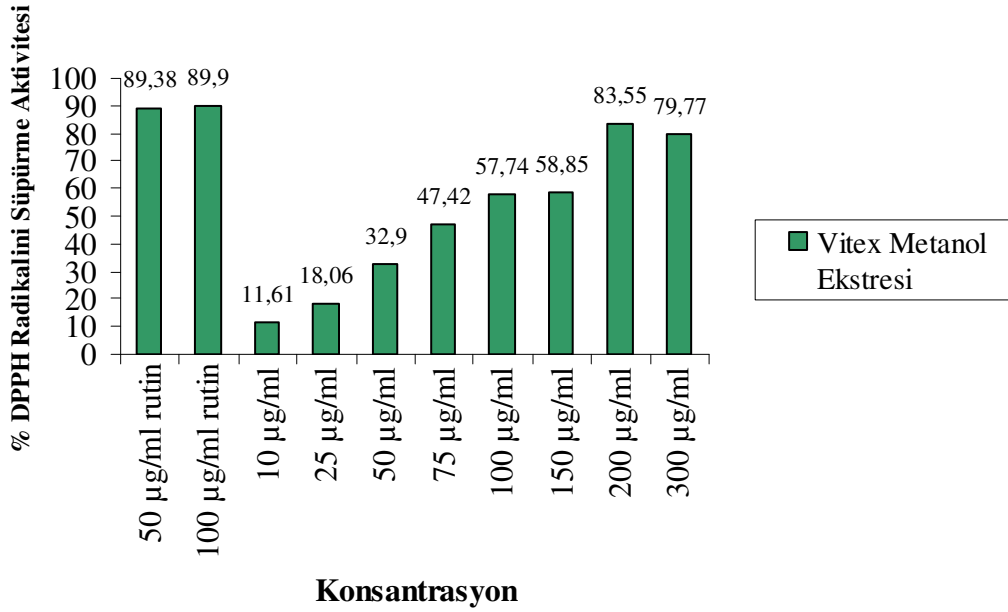
Etil asetat ekstresi denenen bütün konsantrasyonlarda rutinle karşılaştırıldığında, dietil eter ve petrol eteri ekstrilerine göre biraz daha yüksek seviyede % DPPH serbest radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Etil asetat ekstresinde en yüksek % DPPH serbest radikal süpürücü aktivite 300 µg/ml'de elde edilmiştir (% 40,81). Ancak yükselişe geçen bu radikal süpürücü aktivitenin rutinle (sırası ile % 89,39 ve % 89,90) karşılaştırıldığı zaman yine oldukça düşük kaldığını görülmektedir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2.c). Etil asetat ekstresinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesinin düşük olması nedeni ile bu ekstrenin de DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır.



Şekil 4.2.c. *Vitex agnus-castus* L. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

d-Metanol Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Metanol ekstresi denenen düşük konsantrasyonlar hariç, 100 µg/ml'den itibaren rutinle karşılaştırıldığında, yüksek % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi göstermiştir. Denenen konsantrasyonlar arasında en yüksek radikal süpürücü aktivite, 200 µg/ml'den elde edilmiştir (% 83,55). Ancak yükselişe geçen bu radikal süpürücü aktivite % 50 değerini geçmesine rağmen, 200 µg/ml'lik konsantrasyon uygulaması hariç, rutinle (sırası ile % 89,39 ve % 89,90) karşılaştırıldığı zaman düşük kalmaktadır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.d). Metanol ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri dikkate alındığında, metanol ekstresinin IC₅₀ değerinin (83,47µg/ml) rutine göre (7,77 µg/ml) oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Buna göre, metanol ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin de rutine göre düşük olduğu söylenebilir (Şekil 4.2.d).

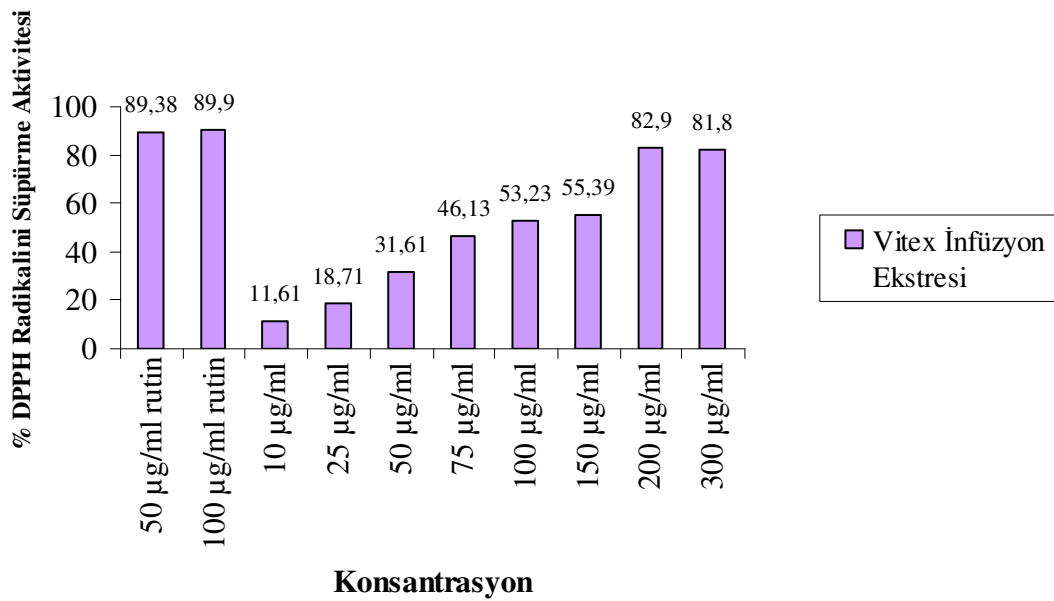


Şekil 4.2.d. *Vitex agnus-castus* L. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

e- Sulu Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

1. İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

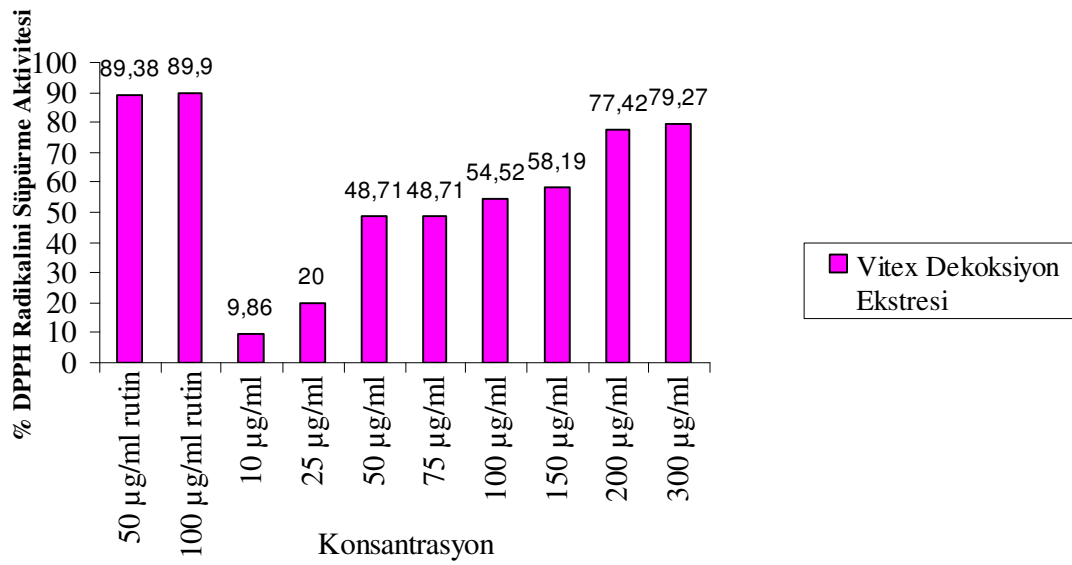
V. agnus-castus'dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan infüzyon ekstresi de metanol ekstresi gibi denenen düşük konsantrasyonlar hariç, 100 µg/ml'den itibaren (%53,23) denenen diğer bütün konsantrasyonlarda yüksek seviyede serbest radikal süpürücü aktivitesi göstermiştir. Denenen konsantrasyonlar arasında en yüksek radikal süpürücü aktivite yine 200 µg/ml'de elde edilmiştir (% 82,90). İnfüzyon ekstresine ilişkin serbest radikal süpürücü aktivite ve IC₅₀ değerleri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1.e' de yer almaktadır. İnfüzyon ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri dikkate alındığında, infüzyon ekstresinin IC₅₀ değerinin (87,60 µg/ml) görülmektedir (Çizelge 4.2). Buna göre, infüzyon ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin de rutine göre oldukça düşük olduğu söylenebilir (Şekil 4.2.d).



Şekil 4.2.e. *Vitex agnus-castus* L. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

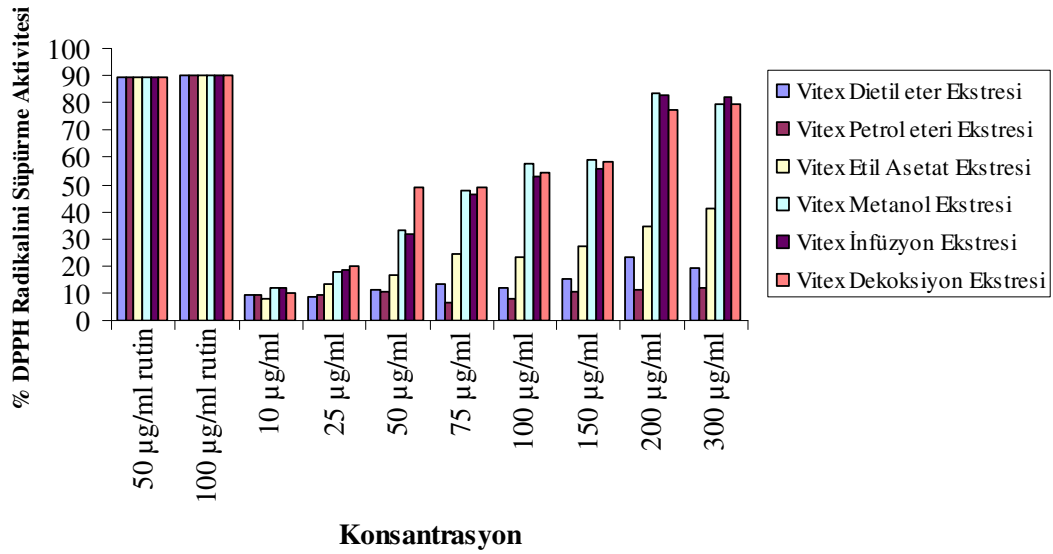
2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

Dekoksiyon ekstresinde de infüzyon ekstresine benzer sonuçlar elde edilmiştir. İnfüzyon ekstresi gibi denenen düşük konsantrasyonlar hariç, denenen diğer bütün konsantrasyonlarda 100µg/ml'den itibaren (% 54,52) yüksek % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi görülmüştür. Denenen konsantrasyonlar arasında en yüksek % DPPH radikal süpürücü aktivite 300 µg/ml'de elde edilmiştir (% 79,27). Ancak dekoksiyon ekstresinden elde edilen yüksek süpürücü aktivite değerlerine rağmen, bu değerler rutinle karşılaştırılırsa, rutinin serbest radikali süpürücü aktivitesinin daha fazla olduğu görülmektedir (sırası ile % 89,39 ve % 89,90). Dekoksiyon ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri dikkate alındığında, dekoksiyon ekstresinin de IC₅₀ değerinin (83,47 µg/ml) rutine göre (7,77 µg/ml) oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Buna göre, dekoksiyon ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin de rutine göre oldukça düşük olduğu söylenebilir (Çizelge 4.2).



Şekil 4.2.f. *Vitex agnus-castus* L. dekoksiyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

Denemeden elde edilen verilere göre; *V. agnus-castus* 'dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstreler, IC_{50} değerleri de göz önüne alınarak antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında, rutin serbest radikali süpürücü aktivitesine (7,77 µg/ml) yakın bir etki gösteren ekstre olmadığı, dietil eter, petrol eteri ve etil asetat ekstralarının serbest radikal süpürücü aktivitesinin bulunmadığı, diğer ekstralarda da IC_{50} değerlerinin rutine göre oldukça yüksek olduğu görülmektedir. IC_{50} değerleri açısından uygulanan ekstralar serbest radikali süpürücü aktivite bakımından kendi içinde sıralandığında; metanol ekstresini (83,47 µg/ml) sırası ile dekoksiyon (85,33 µg/ml) ve infüzyon ekstresi (87,60 µg/ml) izlemektedir (Şekil 4.2.g).



Şekil 4.2.g. *Vitex agnus-castus* L.' den elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

3- *Dracunculus vulgaris* Schott. (Yılanıyastığı, Yılan bıçağı) Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

D. vulgaris kök yumrularından elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrelerin (etil asetat, metanol ve su (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) sentetik bir antioksidan olan rutine göre % DPPH radikal süpürücü aktivitesi ile DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri, her bir ekstre için Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3 a-e'de verilmiştir. *D. Vulgaris*' den dietil eter ve petrol eteri ekstreleri elde edilememiştir. Bunun, bu bitkinin dietil eter ve petrol eterinin çözdüğü bileşikler içermemesi nedeni ile olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.3. *Dracunculus vulgaris* Schott'tan elde edilen ekstrelerin % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi ve IC₅₀ değerleri

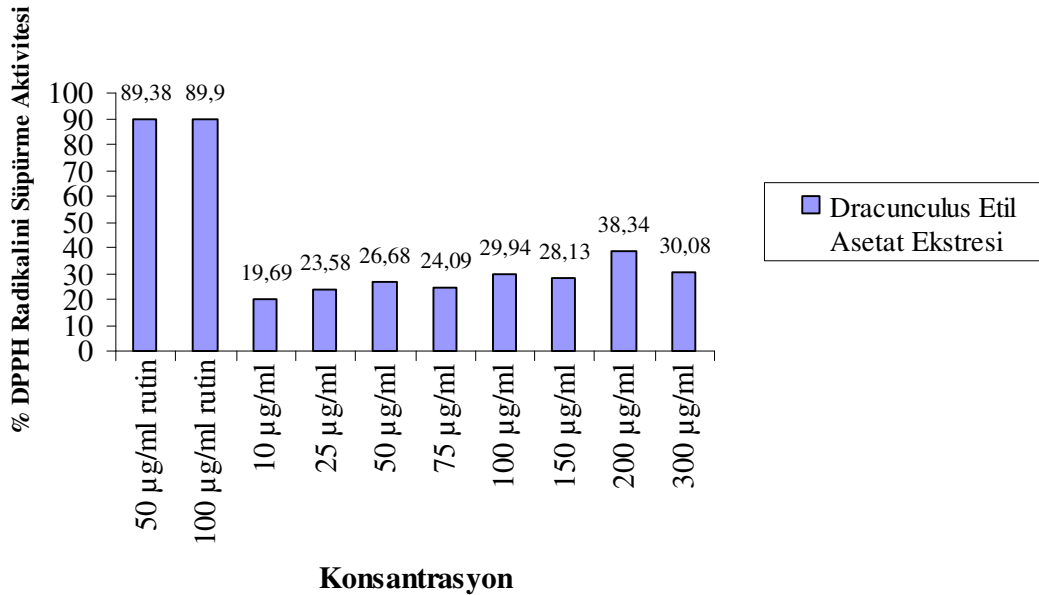
	Ekstre Tipi	Konsantrasyon	% DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	IC ₅₀
	<i>Dracunculus vulgaris</i> Schott.	Rutin	50 µg/ml	89,38±0,000
Rutin		100 µg/ml	89,90±0,005	
Etil Asetat		10 µg/ml	19,69±0,001	-----
		25 µg/ml	23,58±0,001	
		50 µg/ml	26,68±0,000	
		75 µg/ml	24,09±0,000	
		100 µg/ml	26,94±0,000	
		150 µg/ml	28,13±0,004	
		200 µg/ml	38,34±0,001	
		300 µg/ml	30,08±0,004	
Metanol		10 µg/ml	18,91±0,000	-----
		25 µg/ml	19,43±0,001	
		50 µg/ml	19,95±0,001	
		75 µg/ml	16,84±0,001	
		100 µg/ml	5,70±0,001	
		150 µg/ml	16,60±0,001	
		200 µg/ml	23,06±0,000	
		300 µg/ml	16,60±0,002	
İnfüzyon (sulu)		10 µg/ml	12,95±0,002	-----
		25 µg/ml	16,06±0,001	
		50 µg/ml	16,06±0,003	
		75 µg/ml	13,47±0,001	
		100 µg/ml	18,91±0,001	
		150 µg/ml	19,01±0,081	
		200 µg/ml	19,95±0,02	
		300 µg/ml	20,89±0,087	
Dekoksiyon (sulu)		10 µg/ml	17,88±0,002	-----
		25 µg/ml	22,02±0,001	
	50 µg/ml	22,54±0,002		
	75 µg/ml	27,98±0,001		
	100 µg/ml	31,35±0,001		
	150 µg/ml	33,01±0,032		
	200 µg/ml	44,82±0,000		
	300 µg/ml	41,99±0,048		

*p<0,05

a- Etil Asetat Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Çizelge 4.1 ve Şekil.4.1.a'dan da izlenebileceği gibi, etil asetat ekstresinin denenen bütün konsantrasyonlarında, konsantrasyon artışı ile birlikte % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinde hafif bir artış olmasına rağmen, bu etki rutinle karşılaştırıldığında oldukça düşük olmuştur. Etil asetat ekstresinin % DPPH serbest

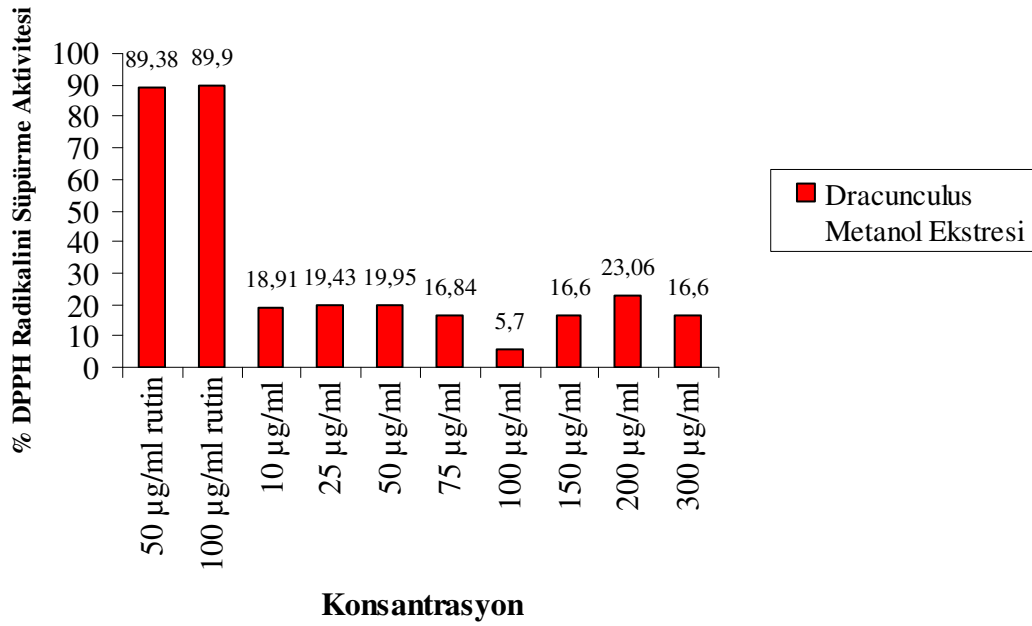
radikal süpürücü aktivitesinin çok düşük olması nedeni ile bu ekstrenin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ve DPPH'nin % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.3).



Şekil 4.3.a. *Dracunculus vulgaris* Schott. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

b- Metanol Ekstresinin Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin de etil asetat ekstresi gibi, denenen bütün konsantrasyonlarda rutine göre oldukça düşük olduğu ve serbest radikali süpürücü aktivitenin 100 µg/ml'lik konsantrasyonda % 5,70'e kadar düştüğü ve diğer konsantrasyonlarda % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinde hafif bir artış olmasına rağmen bu etkinin, rutinle karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu ortaya çıkmıştır. Metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin çok düşük olması nedeni ile DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ve DPPH'nin % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.3).

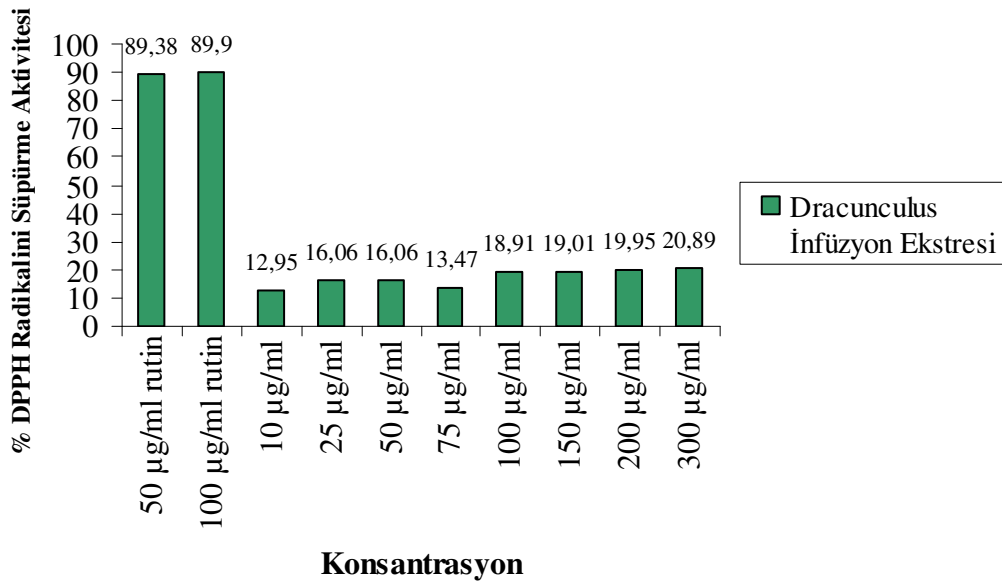


Şekil 4.3.b. *Dracunculus vulgaris* Schott. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

c Sulu Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

1. İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

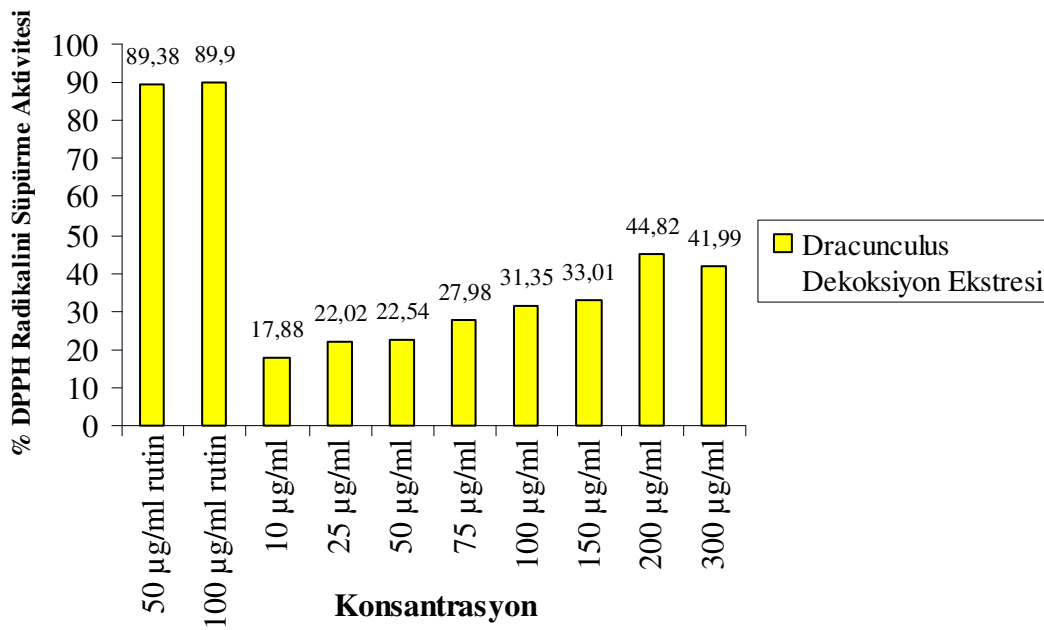
İnfüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi; etil asetat ve metanol ekstrlerinde olduğu gibi, denenen bütün konsantrasyonlarda rutine göre oldukça düşüktür. Artan ekstre konsantrasyonlarında infüzyon ekstresinin radikal süpürücü aktivitesinde hafif bir artış olmasına rağmen, artan bu etki Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3.c'den de izlenebileceği gibi, rutinle karşılaştırıldığında yine oldukça düşüktür. İnfüzyon ekstresinin de etil asetat ve metanol ekstresine benzer şekilde % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin çok düşük olması nedeni ile; DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ve DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.3).



Şekil 4.3.c. *Dracunculus vulgaris* Schott. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

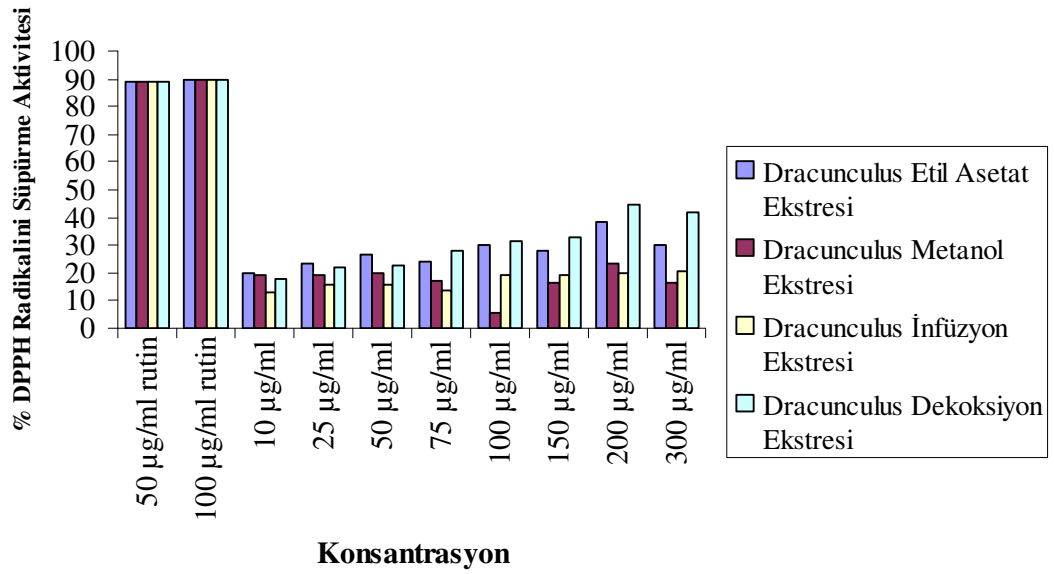
d- Dekoksasyon (Kaynatma) Ekstresi

Dekoksasyon ekstresinin de % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi denenen diğer ekstrele göre biraz daha yüksek olmasına rağmen, bu etki yine %50'nin altında kalmıştır. Bu açıdan değerlendirildiğinde, dekoksasyon ekstresinin serbest radikal süpürücü aktivitesinin denenen bütün konsantrasyonlarda rutine göre oldukça düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3.d). Dekoksasyon ekstresinde de denenen diğer ekstrelerde olduğu gibi % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin çok düşük olması nedeni ile DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ve DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC_{50} değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.3)



Şekil 4.3.d. *Dracunculus vulgaris* Schott. dekoksiyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

D. vulgaris Schott. bitkisinden elde edilen ekstrelerin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktiviteleri kendi aralarında ve rutinle karşılaştırıldığında; dekoksiyon ekstresi diğerlerine göre serbest radikali süpürücü aktivite bakımından biraz daha yüksek etkiye sahip olmasına rağmen, standart antioksidan olarak kullanılan rutin'in etki değerleri de dikkate alındığında ekstrelerin hiçbirinin kayda değer bir serbest radikal süpürücü aktivite göstermediği görülmektedir (Şekil 4.3.e). Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin çok düşük olması nedeni ile DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamış, dolayısı ile ekstrelerin antioksidan aktivitelerini karşılaştırmak mümkün olmamıştır.



Şekil 4.3.e. *Dracunculus vulgaris* Schott.'dan elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

4- *Asphodelus aestivus* Brot. (Çiriş otu) Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

A. aestivus kök yumrusundan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrelerin (etil asetat, metanol ve su (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) sentetik bir antioksidan olan rutine göre % DPPH radikal süpürücü aktivitesi ile DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri, her bir ekstre için Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4 a-f'de yer almaktadır. *A. aestivus* Brot.'tan petrol eteri ekstresi elde edilememiştir. Bunun, bu bitkinin petrol eterinin çözdüğü bileşikleri içermemesi nedeni ile olabileceği düşünülmektedir.

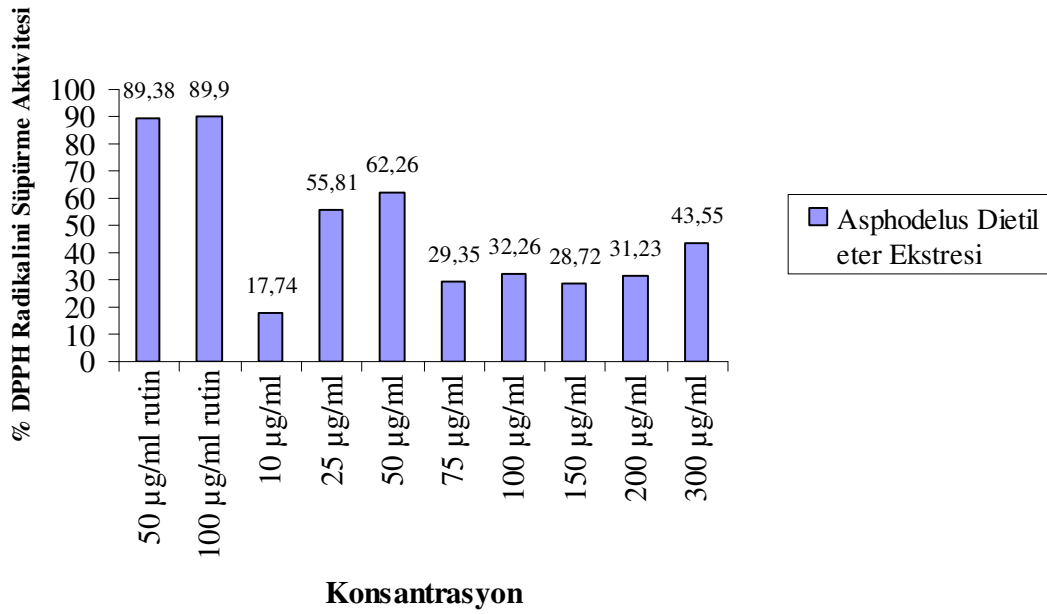
Çizelge 4.4. *Asphodelus aestivus* Brot.' tan elde edilen ekstrelerin % DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi ve IC₅₀ değerleri

	Ekstre Tipi	Konsantrasyonlar	%DPPH Süpürücü aktivite	IC ₅₀
	<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.	Rutin	50 µg/ml	89,38±0,000
Rutin		100 µg/ml	89,90±0,005	
Dietil Eter		10 µg/ml	17,74±0,003	22,46 µg/ml
		25 µg/ml	55,81±*0,001	
		50 µg/ml	62,26±*0,006	
		75 µg/ml	29,35±0,001	
		100 µg/ml	32,26±0,000	
		150 µg/ml	28,72±0001	
		200 µg/ml	31,23±0,007	
		300 µg/ml	43,55±0,010	
Etil Asetat		10 µg/ml	13,87±0,006	188,90 µg/ml
		25 µg/ml	25,81±0,001	
		50 µg/ml	34,84±0,007	
		75 µg/ml	37,74±0,007	
		100 µg/ml	39,68±0,005	
		150 µg/ml	39,78±0,009	
		200 µg/ml	53,23±0,002*	
		300 µg/ml	54,32±0,003*	
Metanol		10 µg/ml	10,65±0,008	-----
		25 µg/ml	9,35±0,000	
		50 µg/ml	10,97±0,002	
		75 µg/ml	11,61±0,001	
		100 µg/ml	17,10±0,008	
		150 µg/ml	14,11±0,002	
		200 µg/ml	22,26±0,001	
		300 µg/ml	25,94±0,013	
İnfüzyon (sulu)		10 µg/ml	8,50±0,003	-----
		25 µg/ml	9,29±0,002	
		50 µg/ml	7,31±0,002	
		75 µg/ml	8,69±0,007	
	100 µg/ml	8,30±0,009		
	150 µg/ml	8,49±0,004		
	200 µg/ml	12,85±0,006		
	300 µg/ml	13,87±0,011		
Dekoksiyon (sulu)	10 µg/ml	3,95±0,006	-----	
	25 µg/ml	5,53±0,008		
	50 µg/ml	5,34±0,009		
	75 µg/ml	7,71±0,009		
	100 µg/ml	8,10±0,008		
	150 µg/ml	9,52±0,008		
	200 µg/ml	11,07±0,006		
	300 µg/ml	13,28±0,009		

*p<0,05

a- Dietil Eter Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4.a'da görüldüğü gibi *A.aestivus*' dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan dietil eter ekstresi, 25 ve 50 µg/ml'lik konsantrasyonlar hariç (sırası ile % 55,81 ve % 62,26) denenen diğer bütün konsantrasyonlarda rutinle karşılaştırıldığında, düşük seviyede % DPPH serbest radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Ancak 25 ve 50 µg/ml'lik konsantrasyonlarda yükselişe geçen bu radikal süpürücü aktivite, konsantrasyon artışı ile farklılıklar göstermiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde serbest radikali süpürücü aktivitenin konsantrasyon artışına bağlı olarak değişmediği söylenebilir. Örneğin; 50 µg/ml de % 62,26 olan serbest radikali süpürücü aktivitenin, konsantrasyon 75 µg/ml'ye çıkarıldığında % 29,35'e düştüğü, 100 µg/ml'de yeniden artarak % 32,26 ya çıktığı, ancak 150 µg/ml'lik konsantrasyon uygulamasında, etkinin yine azalarak % 28,72'e gerilediği görülmektedir (Çizelge 4.4). Dietil eter ekstresinin DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan DPPH'm % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değerleri dikkate alındığında, bu ekstrenin IC₅₀ değerinin (22,46 µg/ml) rutine (7,77 µg/ml) göre daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.4). Buna göre, dietil eter ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin de rutine göre oldukça düşük olduğu söylenebilir.

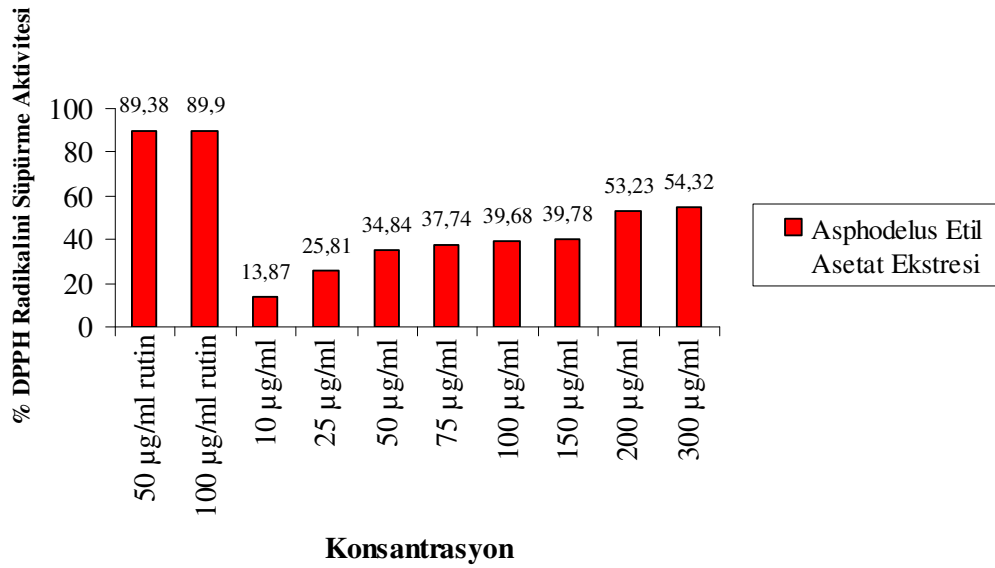


Şekil 4.4.a. *Asphodelus aestivus* Brot. dietil eter ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

b- Etil Asetat Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4.b den izlenebileceği gibi; etil asetat ekstresi de sadece denenen en yüksek konsantrasyonlar olan 200 ve 300 µg/ml'den itibaren, diğer konsantrasyonlara göre düşük seviyede % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi göstermiştir. Denenen konsantrasyonlar arasında en yüksek radikal süpürücü aktivite, 300 µg/ml'de elde edilmiş (% 54,32) olmasına rağmen bu etki değeri rutinle (sırası ile % 89,39 ve % 89,90) karşılaştırıldığı zaman oldukça düşük kalmaktadır.

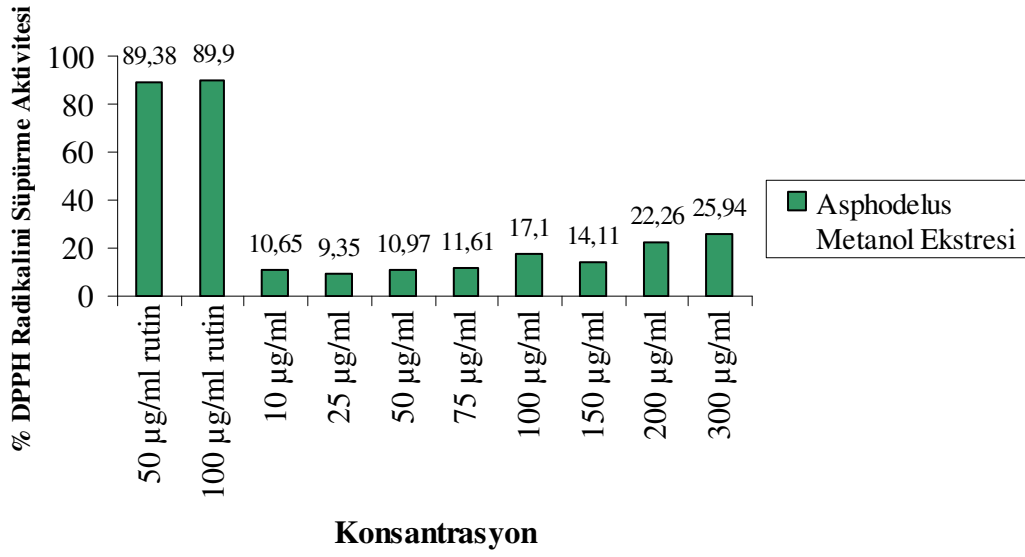
DPPH'nin kalibrasyon eğrisinden hesaplanan DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değerleri dikkate alındığında, etil asetat ekstresinin IC₅₀ değerinin (188,90 µg/ml), rutine (7,77 µg/ml) göre oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.4). Buna göre, etil asetat ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin de rutine göre oldukça düşük olduğu söylenebilir (Şekil 4.4.b).



Şekil 4.4.b. *Asphodelus aestivus* Brot. etil asetat ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

c- Metanol Ekstresinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin denenen diğer ekstrele göre oldukça düşük olduğu ve denenen bütün konsantrasyonlarda % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinde hafif bir artış olmasına rağmen, artan bu etkinin, rutinle karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 4.4, Şekil 4.4.c). Metanol ekstresinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesinin düşük olması nedeni ile bu ekstrenin de DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC_{50} değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.4).

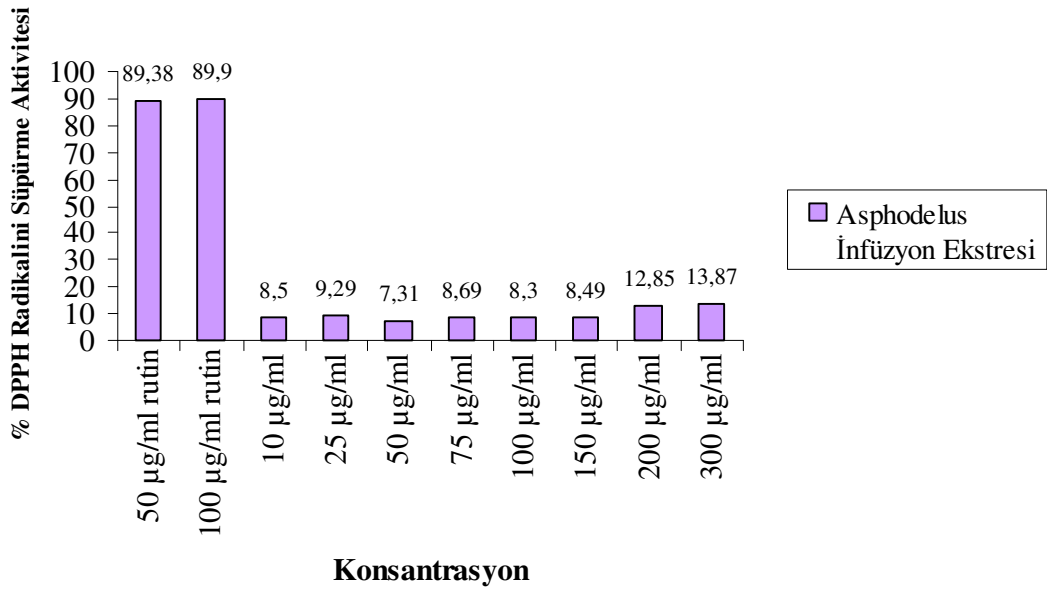


Şekil 4.4.c. *Asphodelus aestivus* Brot. metanol ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

d- Sulu ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

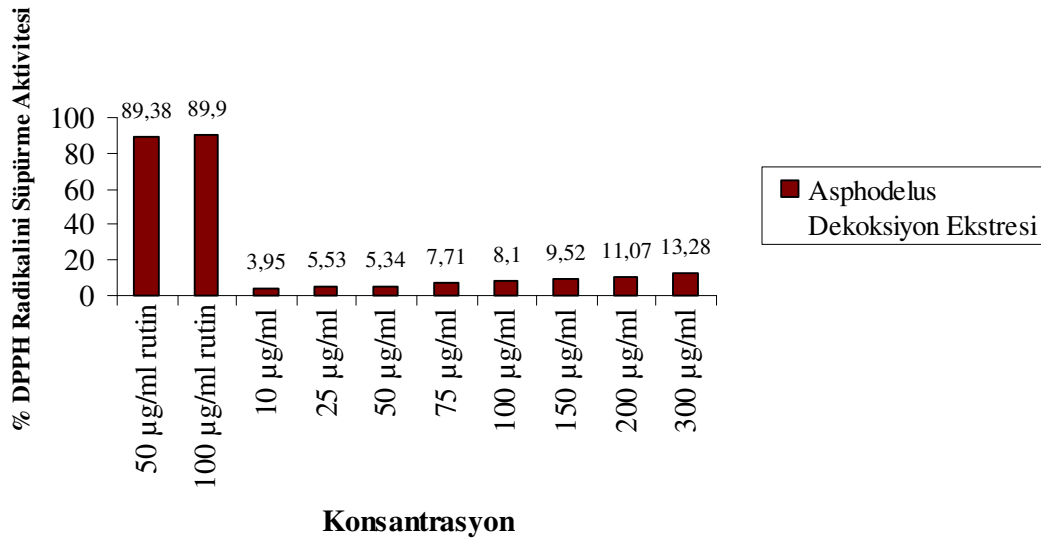
İnfüzyon ekstresinin de denenen bütün konsantrasyonlarda % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi rutinle karşılaştırıldığında oldukça düşüktür (Çizelge 4.4, Şekil 4.4.d). İnfüzyon ekstresinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesinin düşük olması nedeni ile bu ekstrenin de DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC_{50} değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.4).



Şekil 4.4.d. *Asphodelus aestivus* Brot. infüzyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

e- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

A. aestivus' dan elde edilen dekoksasyon ekstresinde de infüzyon ekstresine benzer bir durum ortaya çıkmıştır ve ekstre denenen bütün konsantrasyonlarda standart rutinle karşılaştırıldığında çok düşük serbest radikal süpürücü aktivite göstermiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4.e). Dekoksasyon ekstresinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesinin düşük olması nedeni ile bu ekstrenin de DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Çizelge 4.4).

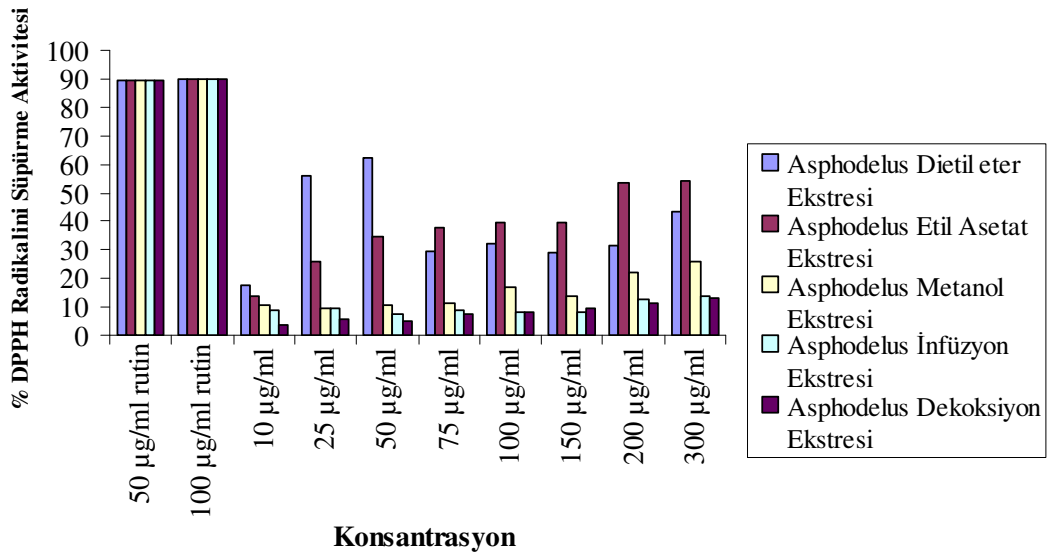


Şekil 4.4.e. *Asphodelus aestivus* Brot. dekoksyon ekstresinin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

A. aestivus bitkisinden elde edilen ekstrelerin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktiviteleri kendi aralarında ve rutinle karşılaştırıldığında; etil asetat ve dietil eter ekstresi diğerlerine göre serbest radikal süpürücü aktivite bakımından biraz daha yüksek etkiye sahip olmasına rağmen, standart antioksidan olarak kullanılan rutin'in etki değerleri de dikkate alındığında denenen ekstrelerin kayda değer bir serbest radikal süpürücü aktivite göstermediği görülmektedir (Şekil 4.3.f). Yine de uygulanan farklı ekstreler serbest radikali süpürücü aktiviteleri bakımından kendi içinde sıralandığında sıralama; Dietil Eter > Etil asetat > Metanol > İnfüzyon > Dekoksyon ekstresi şeklinde olmaktadır.

Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin çok düşük olması nedeni ile, etil asetat ve dietil eter ekstresi hariç DPPH'ın % 50'sini süpüren konsantrasyon değerini gösteren IC₅₀ değeri, hesaplanamamıştır. DPPH'ın kalibrasyon eğrisinden hesaplanan IC₅₀ değerleri göz önüne alındığında, IC₅₀ değeri ne kadar küçükse örneğin antioksidan aktivitesi o kadar yüksek demektir. Bu, aynı miktar serbest radikali en düşük konsantrasyonda süpürebilen maddeler daha kuvvetli aktivite göstermektedir anlamına gelmektedir (Pourmorad *et al.*, 2006). Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin, IC₅₀ değerleri de göz önüne alınarak antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında; dietil eter ve etil asetat ekstreleri metanol, infüzyon

ve dekoksasyon ekstrilerine göre serbest radikali süpürücü açısından biraz daha etkili olmuştur denilebilir. Ancak görülen bu etki de rutinle karşılaştırıldığında çok da önemli değildir (Çizelge 4.4).



Şekil 4.4.f. *Asphodelus aestivus* Brot.' dan elde edilen ekstrilerin % DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

Tez çalışması kapsamında *E. platyphyllos*, *V. agnus-castus*, *D. vulgaris* ve *A. aestivus* bitkilerinin farklı kısımları kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrilerin (dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) antioksidan aktivitelerinin DPPH serbest radikali süpürücü özelliklerine dair elde edilen verilere göre bitkiler kendi aralarında karşılaştırıldığında; en yüksek serbest radikali süpürücü aktivite; *E. platyphyllos*'dan elde edilen ekstriler ile elde edilmiştir. Serbest radikali süpürücü aktivite bakımından *E. platyphyllos*'u sırası ile *V. agnus castus*, *A. aestivus* ve *D. vulgaris* izlemiştir.

Bitkilerden elde edilen bütün ekstriler DPPH serbest radikal süpürücü aktiviteleri bakımından karşılaştırıldığında, en etkili ekstrenin metanol ekstresi olduğu; bu ekstreyi sırası ile infüzyon, dekoksasyon ve etil asetat ekstrilerinin izlediği, dietil eter ve petrol eteri ekstrilerinin ise en etkisiz ekstriler olduğu görülmüştür.

B- BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN MCF-7 İNSAN MEME KARSİNOMA HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ *in vitro* SİTOTOKSİK ETKİLERİ

E. platyphyllos, *V. agnus-castus*, *D. vulgaris* ve *A. aestivus* bitkilerinin farklı kısımları kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) hazırlanan ekstrelerin (diethyl eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) 24 ve 72 saat süre ile MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücreleri üzerine uygulanmaları sonucunda ortaya çıkan *in vitro* sitotoksik etkiler, Trypan Blue Exclusion Yöntemi ile Son *et al.*, 2003 ve Lee *et al.*, 2005'e göre değerlendirilmiştir. Ekstrelerin % sitotoksik etkisinin yanı sıra başlangıçtaki hücre canlılığını % 50 azaltmak için gereken örnek konsantrasyonuna karşılık gelen CC₅₀ değerleri de hesaplanmıştır. CC₅₀ değeri sitotoksik etkiyi saptamada sıklıkla kullanılan bir yöntem olup, düşük CC₅₀ değeri yüksek sitotoksik etkiyi göstermektedir (Betancur-Galvis *et al.*, 2002; Fornelli *et al.*, 2004).

Ekstrelerin % sitotoksik etkisi, biri sadece besi yerinde büyütülen hücreler, diğeri, çözücü (% 0,1'i geçmeyecek oranda DMSO) içeren besi yerinde büyütülen hücreler olmak üzere iki farklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve ekstrelerin 24 ve 72 saat süre ile MCF-7 hücrelerine uygulanmaları sonucunda ortaya çıkan *in vitro* sitotoksik etkiler her bir bitki için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

1-*Euphorbia platyphyllos* L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

E. platyphyllos'dan tam bitki kullanılarak farklı yöntemlerle elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) ekstrelerin (diethyl eter, petrol eteri, etil asetat, metanol, ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) 24 ve 72 saat süre ile MCF-7 hücrelerine uygulanmaları sonucunda ortaya çıkan ve kontrol grupları ile karşılaştırılan % sitotoksik etkilere ait veriler ve CC₅₀ değerleri; her bir ekstre için, Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5 a-h'de yer almaktadır.

Çizelge 4.5. *Euphorbia platyphyllos* L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi ve CC₅₀ değerleri

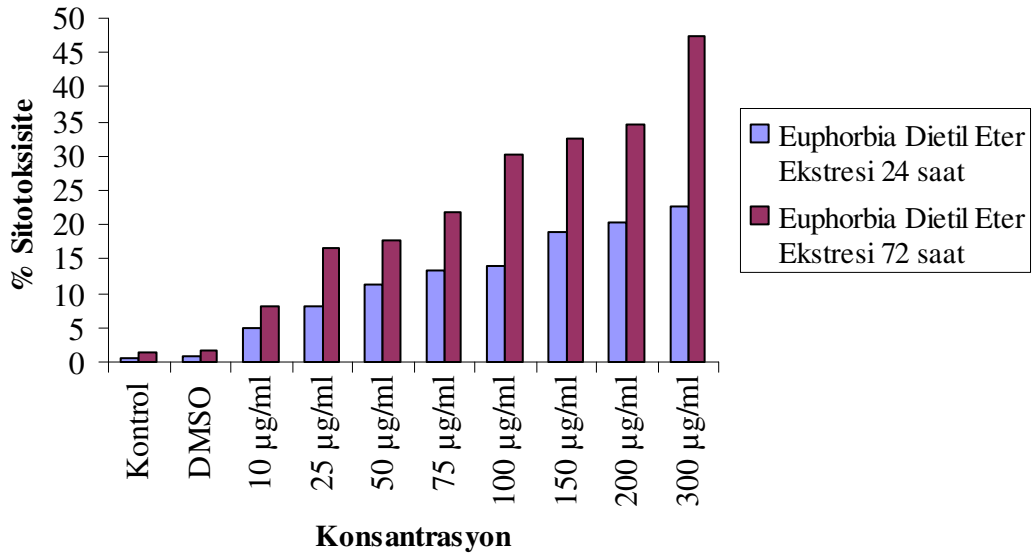
	Konsantrasyon	Toplam Hücre	Sitotoksosite (%)			
			24. Saat	CC ₅₀	72. Saat	CC ₅₀
Dietil Eter	Kontrol	300	0,66±0,580	-----	1,33±0,577	-----
	Kontrol (DMSO)	300	1,00±1,000	-----	1,66±0,580	-----
	10 µg/ml	300	5,00±0,000	-----	8,00±0,000	-----
	25 µg/ml	300	8,00±1,000		16,66±0,580	
	50 µg/ml	300	11,33±0,577		17,66±0,580	
	75 µg/ml	300	13,33±0,577		21,66±0,580*	
	100 µg/ml	300	14,00±0,000		30,33±0,577*	
	150 µg/ml	300	19,00±0,000		32,66±0,580*	
	200 µg/ml	300	20,33±0,577		34,66±0,580*	
300 µg/ml	300	22,66±0,580*	47,33±0,577*			
Petrol Eteri	10 µg/ml	300	5,00±0,000		186,72 µg/ml	
	25 µg/ml	300	8,66±0,580	13,66±0,580		
	50 µg/ml	300	18,33±0,577	41,33±0,577* ^t		
	75 µg/ml	300	26,66±0,580*	46,33±0,577* ^t		
	100 µg/ml	300	36,00±1,000*	52,66±0,580* ^{x t}		
	150 µg/ml	300	41,66±0,580*	58,66±0,580* ^{x t}		
	200 µg/ml	300	52,66±0,580* ^x	67,66±0,580* ^{x t}		
	300 µg/ml	300	68,00±1,000* ^x	78,33±0,577* ^{x t}		
Etil Asetat	10 µg/ml	300	13,00±0,000	296,10 µg/ml	29,00±0,000* ^t	46,24 µg/ml
	25 µg/ml	300	21,33±0,577*		36,00±1,000* ^t	
	50 µg/ml	300	26,66±0,580*		55,33±0,577* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	30,00±0,000*		62,66±0,580* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	35,00±0,000*		81,66±0,580* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	40,66±0,580*		86,33±0,577* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	46,33±0,577*		89,33±0,577* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	51,00±1,000* ^x		91,33±0,577* ^{x t}	
Metanol	10 µg/ml	300	12,66±0,580	200,00 µg/ml	20,66±0,580	97,16 µg/ml
	25 µg/ml	300	21,33±0,577*		27,33±0,577*	
	50 µg/ml	300	30,00±1,000*		33,00±0,000*	
	75 µg/ml	300	36,66±0,580*		40,33±0,577*	
	100 µg/ml	300	40,33±0,577*		51,33±0,577* ^x	
	150 µg/ml	300	45,33±0,577*		62,66±0,580* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	50,00±1,000* ^x		68,66±0,580* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	51,66±0,580* ^x		79,00±1,000* ^{x t}	
İnfüzyon (Sulu)	10 µg/ml	300	10,33±0,577	141,66 µg/ml	15,67±0,600	38,29 µg/ml
	25 µg/ml	300	12,67±0,600		20,33±0,577	
	50 µg/ml	300	23,33±0,577*		61,33±0,577* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	31,00±0,000*		74,33±0,577* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	45,67±0,600*		81,00±1,000* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	51,67±0,600* ^x		87,33±0,577* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	56,67±0,600* ^x		90,33±0,577* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	63,33±0,577* ^x		92,33±0,577* ^{x t}	
Dekoksiyon (Sulu)	10 µg/ml	300	21,33±0,577*	80,36 µg/ml	39,33±0,577* ^t	27,79 µg/ml
	25 µg/ml	300	29,67±0,600*		49,33±0,577* ^t	
	50 µg/ml	300	45,33±0,577*		55,00±1,000* ^x	
	75 µg/ml	300	47,33±0,577*		60,33±0,577* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	61,00±0,000* ^x		79,33±0,577* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	67,00±1,000* ^x		86,33±0,577* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	70,33±0,577* ^x		91,00±0,000* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	72,66±0,580* ^x		93,67±0,600* ^{x t}	

* $p<0,05$ ^x Sitotoksik etki $>50\%$ ^t Uygulama süreleri arasındaki sitotoksik etki farkı $p<0,05$ seviyesinde önemli

a- Dietil Eter Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Dietil eter ekstresinin konsantrasyon artışı ile MCF-7 hücrelerinin canlılığını azaltma yönünde etki ettiği (sitotoksik etki) ve bu etkinin uygulama süresi 24 saatten 72 saate çıkarıldığında daha belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.a). Dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki en yüksek sitotoksik etkisi, 300 µg/ml ekstrenin 72 saatlik uygulaması sonucunda ortaya çıkmıştır (% 47,33). Elde edilen değer kontrol gruplarına göre (sırası ile; kontrol, % 0,66; DMSO kontrol, % 1.00) oldukça yüksek olmakla birlikte sitotoksik etkinin %50'nin altında kalması bakımından dikkate değer değildir. Ancak yapılan istatistikî analizler sonucunda, farklı konsantrasyonlardaki dietil eter ekstresi 72 saat süreyle MCF-7 hücreleri üzerine uygulandığında, ekstrenin in vitro sitotoksik etkisinin 75 µg/ml'lık konsantrasyondan itibaren kontrol gruplarına göre önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Dietil eter ekstresinin sitotoksik etkisi denenen hiçbir süre ve konsantrasyonda %50 değerine ulaşmadığı için, hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri hem 24 hem de 72 saatlik uygulama için hesaplanamamıştır (Çizelge 4.5).

Elde edilen veriler kontrol gruplarından elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisinin düşük olduğu söylenebilir.



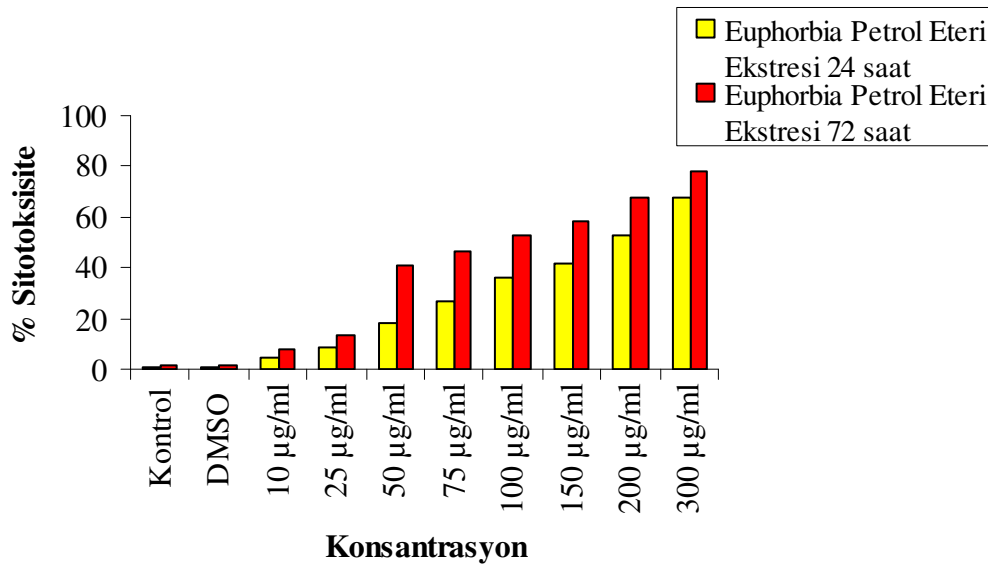
Şekil 4.5.a. *Euphorbia platyphyllos* L. dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

b- Petrol Eteri Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi konsantrasyon artışına ve uygulama süresine bağlı olarak artmıştır. En yüksek konsantrasyonlar olan 200 µg/ml ve 300 µg/ml'lik ekstrenin 24 saat süreyle MCF-7 hücrelerine uygulanması ile ortaya çıkan sitotoksik etki % 50'nin üzerinde olmuştur (sırası ile % 52,66 ve % 68,00). 24 saatlik uygulama süresinde yüksek konsantrasyonlardan itibaren görülmeye başlayan bu sitotoksik etki, uygulama süresinin 72 saate çıkarılması durumunda ise 100 µg/ml'lik ekstrakt uygulamasından itibaren artışa geçmiştir ve 24 saatlik uygulamada 300 µg/ml da % 68,00 olan sitotoksik etki, 72. saatlik uygulama sonucunda % 78,33'e kadar yükselmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.b).Yapılan istatistikî analizler sonucunda farklı konsantrasyonlardaki petrol eteri ekstresinin gerek 24 ve gerekse 72 saat süreyle MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması ile ortaya çıkan in vitro sitotoksik etki kontrol grupları ile karşılaştırıldığında aradaki farkın $p < 0,05$ seviyesinde önemli olduğu ve 50 µg/ml ekstre konsantrasyondan itibaren uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki farkının da istatistiki bakımdan önemli olduğu görülmektedir. Petrol eteri ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon

değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 186,72 $\mu\text{g/ml}$, 72 saatlik ekstre uygulamasında ise, 98,07 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik etkide bulunduğu söylenebilir.



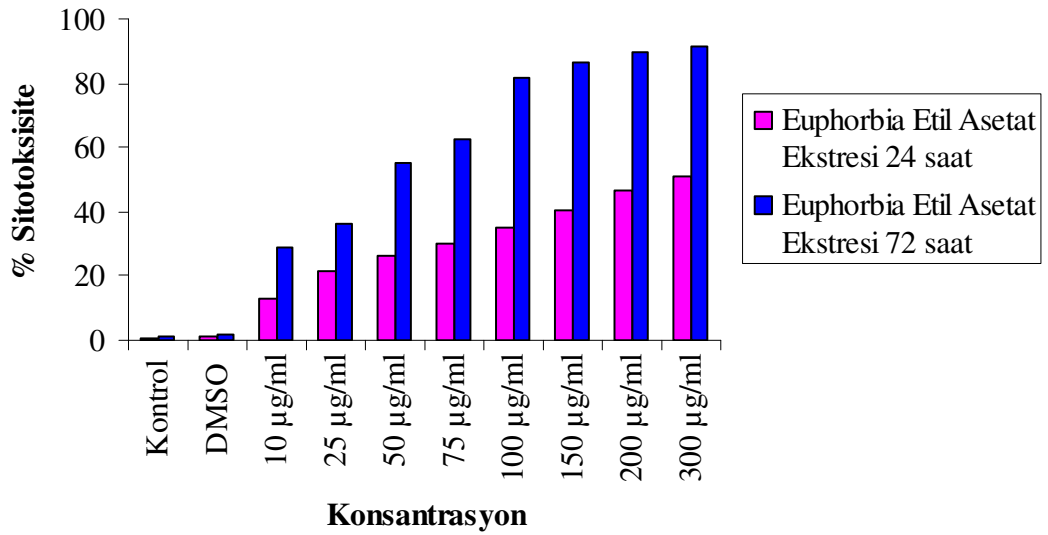
Şekil 4.5.b. *Euphorbia platyphyllos* L. petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

c- Etil Asetat Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisine ilişkin elde edilen veriler incelendiğinde; etil asetat ekstresi uygulamaları sonucunda ortaya çıkan in vitro sitotoksik etkinin yine hem konsantrasyon hem de uygulama süresinin artışına bağlı olarak arttığı Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.c'den izlenebilir. Ancak, 24 saatlik ekstre uygulamalarında kontrol gruplarına göre, oldukça yüksek seviyeye ulaşan bu sitotoksik etki, 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik ekstre uygulaması hariç (%51.00) diğer konsantrasyonlarda % 50'nin üzerine çıkamamıştır. Farklı konsantrasyonlardaki etil asetat ekstresinin MCF-7 hücrelerine daha uzun süre uygulandığı (72 saat) durumda ise sitotoksik etkisi 50 $\mu\text{g/ml}$ 'lik ekstre uygulamasından başlayarak artışa geçmiş ve konsantrasyon artışına paralel şekilde artarak en yüksek ekstre konsantrasyonu olan

300 µg/ml'lik uygulamada sitotoksik etki % 91,33' e kadar ulaşmıştır (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.c). Yapılan istatistikî analizler sonucunda, farklı konsantrasyonlardaki etil asetat ekstresinin gerek 24 ve gerekse 72 saat süreyle MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması ile ortaya çıkan sitotoksik etki kontrol grupları ile karşılaştırıldığında $p<0,05$ seviyesinde önemli derecede yüksektir. Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında ise tüm konsantrasyonlarda aradaki sitotoksik etki farkı önemli bulunmuştur. Etil asetat ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 296,10 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında ise 46,24 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde oldukça yüksek sitotoksik etki gösterdiği söylenebilir.

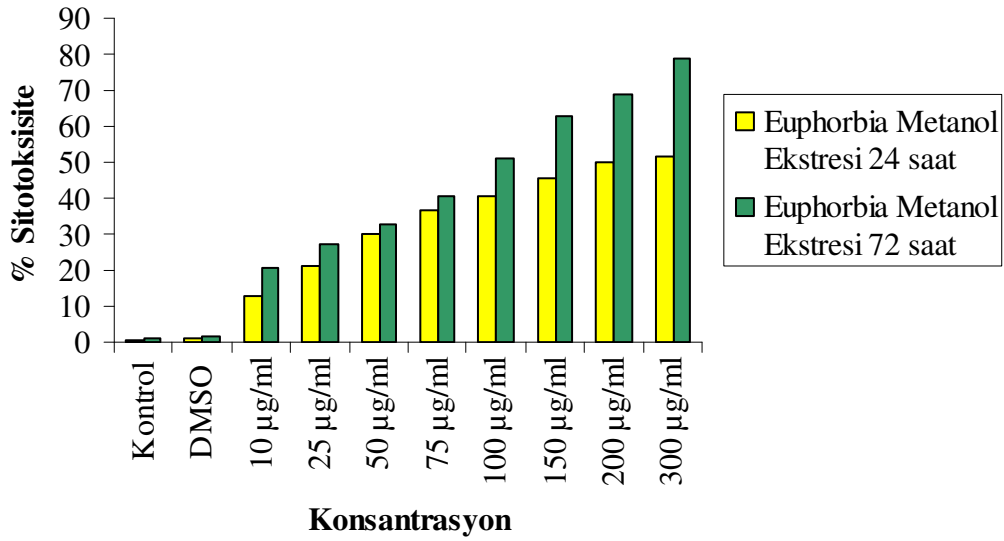


Şekil 4.5.c. *Euphorbia platyphyllos* L. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

d- Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisine ilişkin elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; metanol ekstresinin de MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin, denenen diğer ekstrelerde olduğu gibi, uygulama konsantrasyonu ve uygulama süresinin artışına bağlı olarak arttığı görülmektedir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.d). Ancak 24 saatlik ekstre uygulamasında ortaya çıkan sitotoksik etki, 200 µg/ml'lik ekstre uygulamasına kadar % 50'nin altında iken, daha yüksek konsantrasyonlarda % 50'nin üzerine çıkmıştır (sırası ile; 200 µg/ml'de % 50, 300 µg/ml'de ise % 51,66). Süre 72 saate çıkarıldığında ise, metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi, 100 µg/ml'lik uygulamadan itibaren artmaya başlamış (% 51,33) ve en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 µg/ml'de % 79,00'a çıkmıştır. Yapılan istatistikî analizler sonucunda, farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstresinin gerek 24 ve gerekse 72 saat süreyle MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması ile ortaya çıkan sitotoksik etki, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ seviyesinde önemlidir. Ayrıca, uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerlerinin farkı da 150 µg/ml konsantrasyondan itibaren istatistikî bakımdan önemlidir. Metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerine farklı konsantrasyon ve sürelerde uygulanması sonucunda elde edilen CC_{50} değerleri 24 saatlik ekstre uygulaması için 200 µg/ml ve 72 saatlik ekstre uygulaması için 97,16 µg/ml'dir.

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik etkide bulunduğu söylenebilir.



Şekil 4.5.d. *Euphorbia platyphyllos* L. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

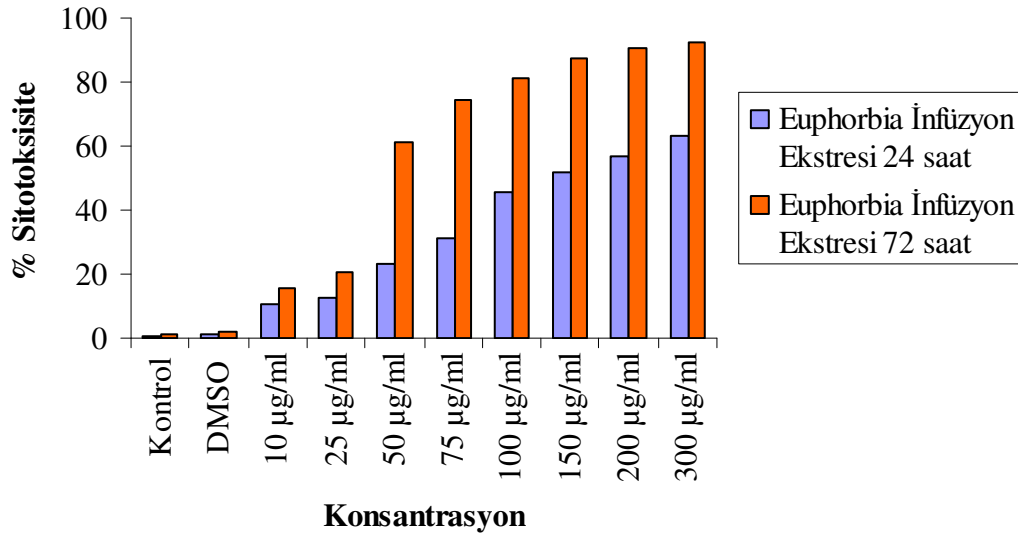
e- Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

İnfüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin hem konsantrasyon artışına hem de özellikle süre artışına bağlı olarak dietil eter, petrol eteri, etil asetat ve metanol ekstresine göre, daha yüksek olduğu görülmektedir. (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.e). 150 µg/ml'lik ekstrenin 24 saatlik uygulaması ile infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi % 50'nin üzerine çıkmış (% 51,67) ve en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 µg/ml'de bu oran % 63,33 olarak belirlenmiştir. 72 saatlik infüzyon ekstresi uygulamalarında ise sitotoksik etki 50µg/ml ekstre uygulamasından itibaren artışa geçmiş (% 61,33) ve en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 µg/ml ekstre uygulamasında % 92,33 gibi çok yüksek bir değere ulaşmıştır. Yapılan istatistikî analizler sonucunda, farklı konsantrasyonlardaki infüzyon ekstresinin gerek 24 ve gerekse 72 saat süreyle MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması ile ortaya çıkan sitotoksik etki kontrol grupları ile karşılaştırıldığında aradaki farkın $p < 0,05$ seviyesinde önemli olduğu görülmüştür.

Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında da, 10 ve 25 µg/ml ekstre konsantrasyonları hariç diğer tüm konsantrasyonlarda aradaki fark istatistiki olarak önemlidir. İnfüzyon ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC₅₀ değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 141,66 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 38,29 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin diğer ekstrele göre biraz daha yüksek olduğu söylenebilir.



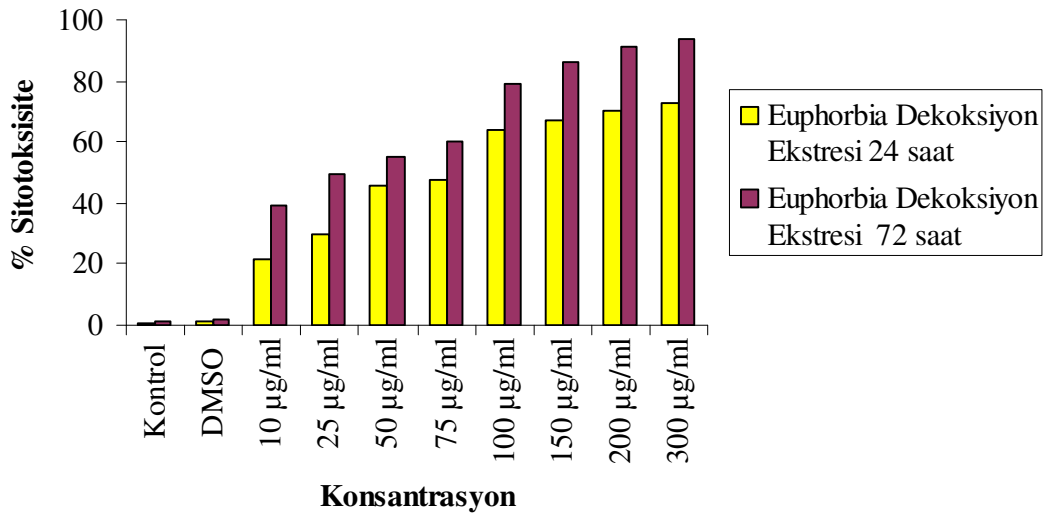
Şekil 4.5.e. *Euphorbia platyphyllos* L. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

Dekoksiyon ekstresinin konsantrasyon artışı ile MCF-7 hücrelerinin canlılığını azaltma yönünde etki ettiği (sitotoksik etki) ve bu etkinin uygulama süresi 24 saatten 72 saate çıkarıldığında daha belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.f). Dekoksiyon ekstresinin 24 saatlik süreyle MCF-7 hücrelerine uygulanması sonucunda ortaya çıkan sitotoksik etki, 100 µg/ml konsantrasyondan itibaren % 50'nin oldukça üzerine çıkmış (%61,00) ve en yüksek konsantrasyon olan 300

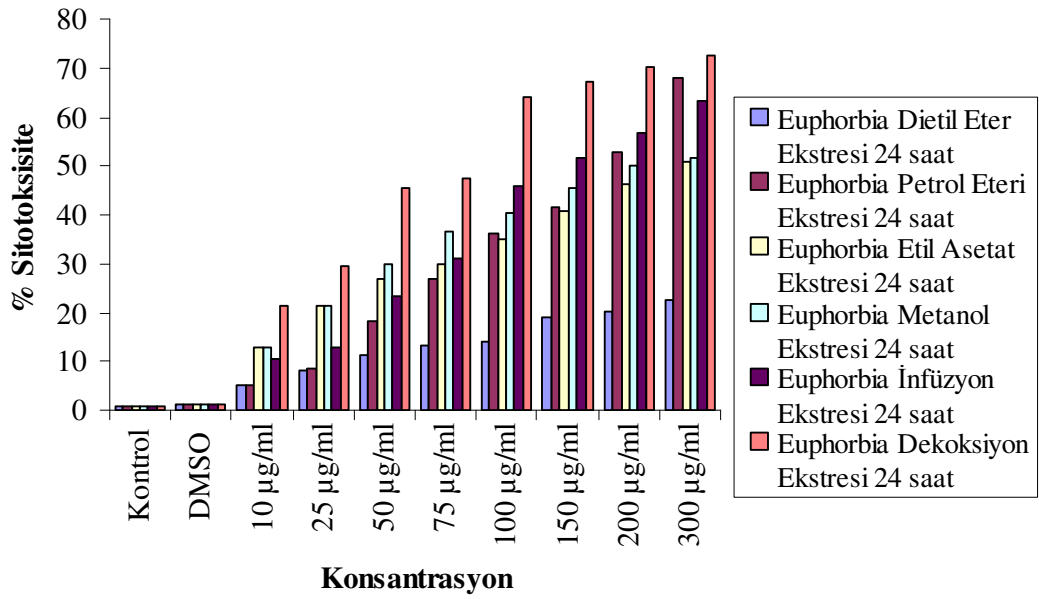
$\mu\text{g/ml}$ 'de bu etki % 72,66'ya ulaşmıştır. Uygulama süresi 72 saate çıkarıldığında ise dekoksasyon ekstresinin sitotoksik etkisi $50 \mu\text{g/ml}$ 'den itibaren başlamış (%55,00) ve konsantrasyon artışı ile sitotoksik etki artmıştır. En yüksek uygulama konsantrasyonu olan $300 \mu\text{g/ml}$ 'de ise *E. platyphyllos*' dan elde edilen bütün ekstratler içerisinde gözlenen en yüksek değer % 92,33' e ulaşmıştır (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.f). Yapılan istatistikî analizler sonucunda, farklı konsantrasyonlardaki dekoksasyon ekstresinin özellikle 72 saat süreyle MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda ortaya çıkan in vitro sitotoksik etkinin kontrol grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ seviyesinde önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür. Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında $50 \mu\text{g/ml}$ ekstre konsantrasyonu hariç tüm konsantrasyonlarda aradaki fark önemli bulunmuştur. Dekoksasyon ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında $80,36 \mu\text{g/ml}$, 72 saatlik ekstre uygulamasında $27,79 \mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; dekoksasyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

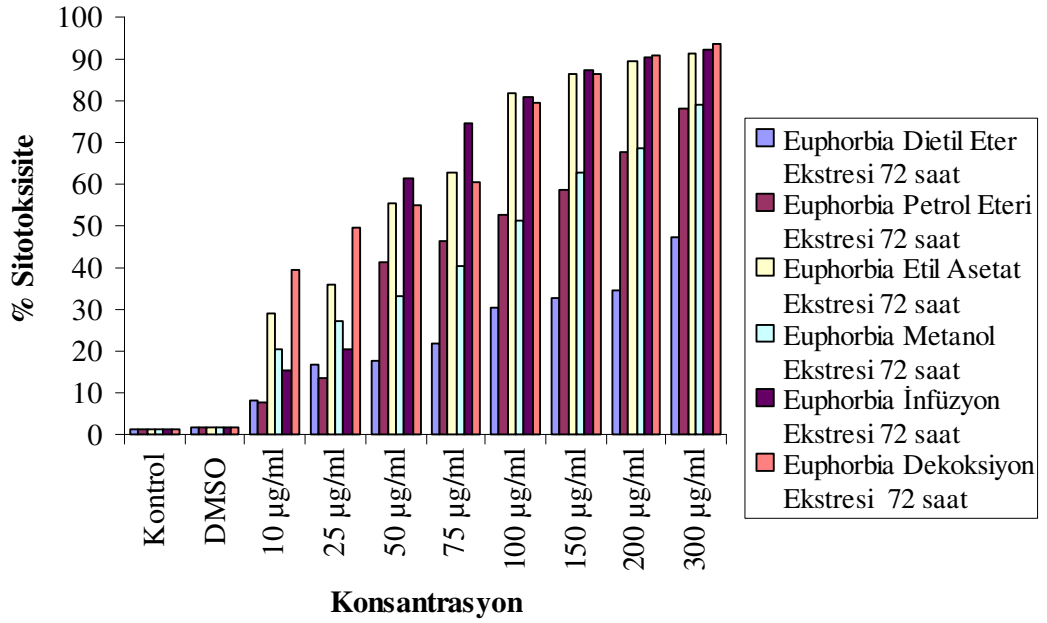


Şekil 4.5.f. *Euphorbia platyphyllos* L. dekoksasyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

E. platyphyllos'dan tam bitki kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi kendi aralarında ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; sulu ekstrelerin (dekoksasyon ve infüzyon), in vitro sitotoksik etkisinin gerek 24 ve gerekse 72 saatlik uygulamalarda diğer ekstrelere göre daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. (Şekil 4.5.g ve Şekil 4.5 h).



Şekil 4.5 g. *Euphorbia platyphyllos* L.'den elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması



Şekil 4.5 h. *Euphorbia platyphyllos* L.'den elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması

Bu bitkiden elde edilen ekstreler MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdikleri in vitro sitotoksik etki bakımından kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman sıralama; Dekoksasyon > İnfüzyon > Etil Asetat > Metanol > Petrol Eteri > Dietil Eter ekstresi şeklinde olmaktadır.

2-*Vitex agnus-castus* L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

V. agnus-castus tohumlarından farklı yöntemlerle elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) ekstrelerin (dietyl eter, petrol eteri, etil asetat, metanol, ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma)) 24 ve 72 saat süre ile insan meme metastatik karsinoma hücreleri (MCF-7 hücreleri) üzerine uygulanmaları sonucunda ortaya çıkan ve kontrol gruplarına göre karşılaştırılan % sitotoksik etkilere ait veriler ile hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC₅₀ değerleri; her bir ekstre için Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6 a-h'de yer almaktadır.

Çizelge 4.6. *Vitex agnus-castus* L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi ve CC₅₀ değerleri

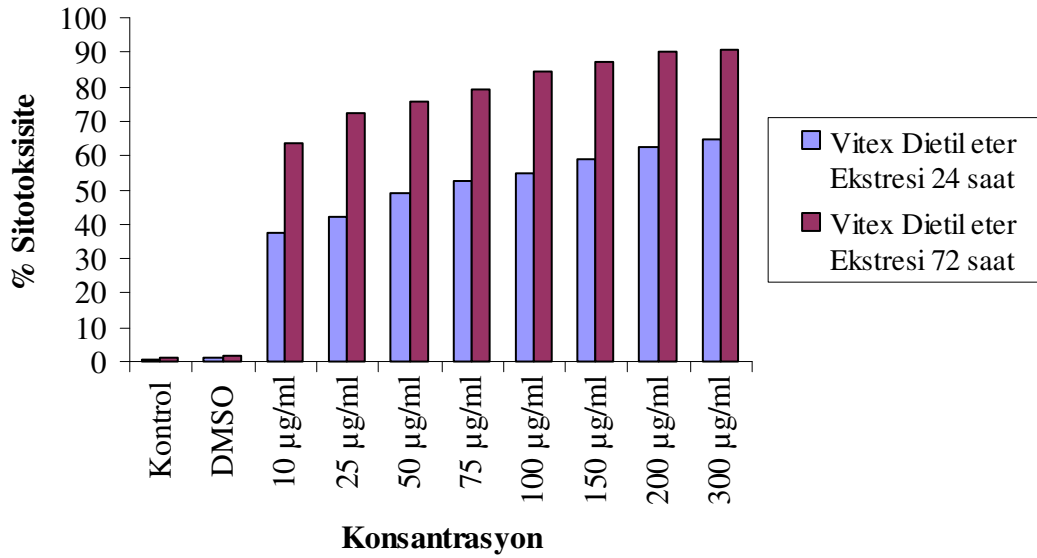
	Konsantrasyon	Toplam Hücre	Sitotoksosite (%)			
			24. Saat	CC ₅₀	72. Saat	CC ₅₀
Dietyl Eter	Kontrol	300	0,66±0,580	-----	1,33±0,577	-----
	Kontrol (DMSO)	300	1,00±1,000	-----	1,66±0,580	-----
	10 µg/ml	300	37,33±0,577*	55,58 µg/ml	63,67±0,577* ^{x t}	4,43 µg/ml
	25 µg/ml	300	42,00±0,000*		72,00±0,000* ^{x t}	
	50 µg/ml	300	49,33±0,577*		75,67±0,600* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	52,33±0,577* ^x		79,33±0,577* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	55,00±1,000* ^x		84,33±0,577* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	59,00±1,000* ^x		87,00±1,000* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	62,67±0,600* ^x		90,00±1,000* ^{x t}	
300 µg/ml	300	65,00±0,000* ^x	91,00±0,000* ^{x t}			
Petrol Eteri	10 µg/ml	300	18,33±0,577		137,50 µg/ml	
	25 µg/ml	300	27,00±0,000*	55,00±0,000* ^{x t}		
	50 µg/ml	300	31,67±0,600*	60,33±0,577* ^{x t}		
	75 µg/ml	300	35,66±0,580*	65,33±0,577* ^{x t}		
	100 µg/ml	300	41,67±0,600*	69,00±0,000* ^{x t}		
	150 µg/ml	300	54,00±1,000* ^x	72,33±0,577* ^{x t}		
	200 µg/ml	300	65,33±0,577* ^x	77,33±0,577* ^x		
	300 µg/ml	300	68,33±0,577* ^x	84,00±1,000* ^{x t}		
Etil Asetat	10 µg/ml	300	23,67±0,600*	57,81 µg/ml	35,67±0,600*	16,38 µg/ml
	25 µg/ml	300	36,67±0,600*		69,33±0,577* ^{x t}	
	50 µg/ml	300	45,00±0,000*		71,67±0,600* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	61,00±1,000* ^x		78,67±0,600* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	68,33±0,577* ^x		82,67±0,600* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	74,67±0,600* ^x		83,67±0,600* ^x	
	200 µg/ml	300	84,00±0,000* ^x		84,67±0,600* ^x	
	300 µg/ml	300	85,33±0,577* ^x		87,00±0,000* ^x	
Metanol	10 µg/ml	300	13,00±0,000	85,34 µg/ml	39,00±0,000* ^t	33,34 µg/ml
	25 µg/ml	300	21,67±0,600*		45,33±0,577* ^t	
	50 µg/ml	300	35,33±0,577*		59,33±0,577* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	46,00±1,000*		65,00±1,000* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	55,67±0,600* ^x		70,67±0,600* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	61,00±1,000* ^x		74,67±0,600* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	65,33±0,577* ^x		79,67±0,600* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	72,00±0,000* ^x		86,67±0,600* ^{x t}	
İnfüzyon (Sulu)	10 µg/ml	300	19,67±0,600	23,93 µg/ml	38,00±0,000* ^t	16,50 µg/ml
	25 µg/ml	300	52,33±0,577* ^x		65,67±0,600* ^{x t}	
	50 µg/ml	300	58,00±1,000* ^x		81,33±0,577* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	63,67±0,600* ^x		82,33±0,577* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	65,67±0,600* ^x		83,00±0,000* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	69,00±0,000* ^x		84,00±1,000* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	70,33±0,577* ^x		85,33±0,577* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	72,33±0,577* ^x		85,67±0,600* ^{x t}	
Dekoksiyon (Sulu)	10 µg/ml	300	20,00±0,000	24,83 µg/ml	48,33±0,577* ^t	12,42 µg/ml
	25 µg/ml	300	50,33±0,577* ^x		59,67±0,600* ^x	
	50 µg/ml	300	54,67±0,600* ^x		76,33±0,577* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	57,67±0,600* ^x		79,67±0,600* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	63,33±0,577* ^x		82,67±0,600* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	66,67±0,600* ^x		84,00±0,600* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	69,67±0,600* ^x		84,67±0,600* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	74,00±1,000* ^x		86,67±0,600* ^{x t}	

* $p<0,05$ ^x Sitotoksik etki $> \% 50$ ^t Uygulama süreleri arasındaki sitotoksik etki farkı $p<0,05$ seviyesinde önemli

a- Dietil Eter Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Vitex agnus-castus' den elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan dietil eter ekstresinin konsantrasyon artışı ile MCF-7 hücrelerinin canlılığını azaltma yönünde etki ettiği (sitotoksik etki) ve bu etkinin uygulama süresi 24 saatten 72 saate çıkarıldığında daha belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.5.a). Ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi 24 saatlik uygulamada bile 75 µg/ml'lik konsantrasyondan itibaren % 50'nin üzerine çıkmıştır (% 52,33). Uygulama süresi 72 saate çıkarıldığında ise; en düşük konsantrasyon olan 10 µg/ml de dahil bütün konsantrasyonlarda yüksek seviyede sitotoksik etki görülmüş ve sitotoksik etki, en yüksek konsantrasyon olan 300 µg/ml'de % 91,00 gibi oldukça yüksek bir seviyeye ulaşmıştır. Sitotoksik etki, denenen bütün konsantrasyonlarda kontrol gruplarına göre (sırası ile kontrol: % 0,66 ve DMSO kontrol: %1,00) istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) bakımından sitotoksikite değerleri arasındaki fark da bütün konsantrasyonlarda önemlidir. Dietil eter ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 55,58 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 4,43 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin oldukça yüksek olduğu ortaya çıkmıştır.



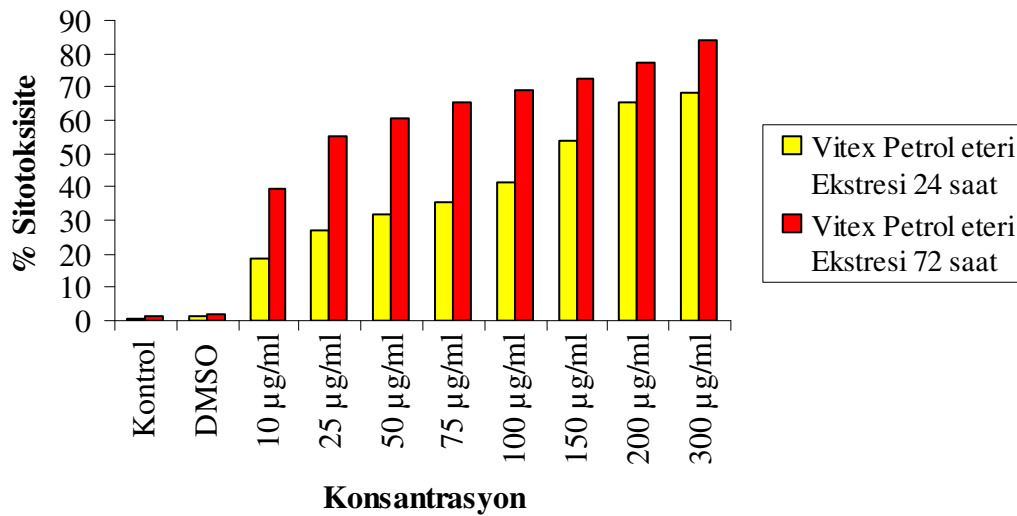
Şekil 4.6.a. *Vitex agnus-castus* L. dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

b-Petrol Eteri Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisine ilişkin elde edilen veriler incelendiğinde; petrol eteri ekstresi uygulamaları sonucunda ortaya çıkan in vitro sitotoksik etkinin yine hem konsantrasyon hem de uygulama süresinin artışına bağlı olarak arttığı Çizelge 4.6 ve Şekil 4.5.b'den izlenebilir. Petrol eteri ekstresi de MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede sitotoksik etki göstermiştir. Ekstrenin sitotoksik etkisi 150 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonların 24 saatlik uygulamasında % 50'nin üzerine çıkmıştır. 72 saatlik uygulamalarda ise ekstre 25 µg/ml'den itibaren MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede sitotoksik etki göstermiştir. Özellikle en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 µg/ml'lik ekstrenin 72 saatlik uygulamasında % 84,00 seviyesine ulaşmıştır. 10 µg/ml'lik ekstrenin 24 saatlik uygulaması hariç, diğer bütün konsantrasyon ve sürelerde ekstrenin sitotoksik etkisi kontrol gruplarına göre $p < 0,05$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) bakımından sitotoksosite değerleri arasındaki fark 200 µg/ml ekstre konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda istatistiki bakımdan önemlidir. Petrol eteri ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 137,50

$\mu\text{g/ml}$, 72 saatlik ekstre uygulamasında $21,09 \mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6)

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik etki yaptığı söylenebilir.



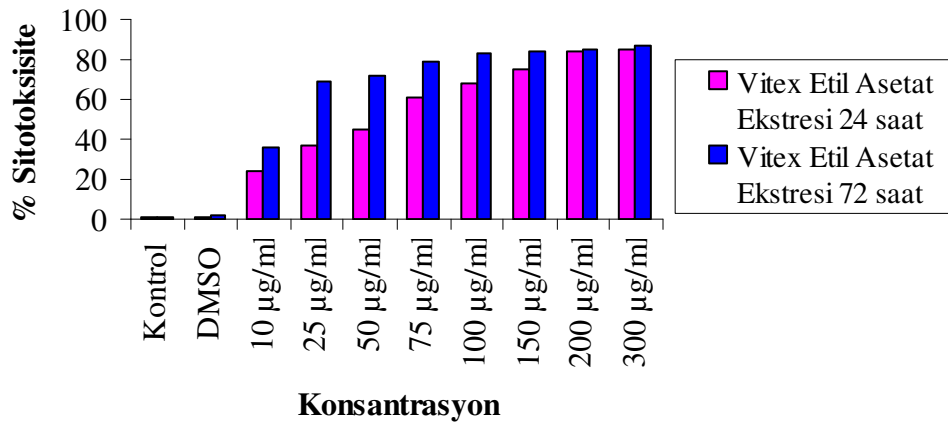
Şekil 4.6.b. *Vitex agnus-castus* L. petrol eteri ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

c-Etil asetat Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Etil asetat ekstresinin konsantrasyon artışı ile MCF-7 hücrelerinin canlılığını azaltma yönünde (sitotoksik etki) etki ettiği ve bu etkinin uygulama süresi 24 saatten 72 saate çıkarıldığında daha belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6.c). Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi etil asetat ekstresi de dietil eter ve petrol eteri ekstrilerine benzer şekilde MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede sitotoksik etki göstermiştir. Ekstrenin sitotoksik etkisi 24 saatlik uygulamalarda $75 \mu\text{g/ml}$ ve üzerindeki konsantrasyonlarda % 50'nin oldukça üzerine çıkmış ve en yüksek uygulama konsantrasyonu olan $300 \mu\text{g/ml}$ 'de sitotoksik etki % 85,33'e ulaşmıştır. Ekstrenin uygulama süresi 72 saate çıkarıldığında ise sitotoksik etki en düşük

konsantrasyondan (25 µg/ml) itibaren % 50'nin seviyesinin üzerine çıkmış ve en yüksek konsantrasyon olan 300 µg/ml'de MCF-7 hücreleri üzerinde % 87,00 seviyesinde sitotoksik etkiye neden olmuştur. Ekstrenin sitotoksik etkisi uygulama süresine bağlı olarak önemli derecede artış göstermekle birlikte, 200 ve 300 µg/ml'lik ekstrenin 24 ve 72 saatlik uygulamaları arasında belirgin bir farklılık ortaya çıkmamıştır (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6.c). Buna karşın; etil asetat ekstresi denenen bütün süre ve konsantrasyonlarda kontrol gruplarına göre önemli derecede yüksek sitotoksik etki göstermiştir (p<0,05). Etil asetat ekstresinin MCF-7 hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC₅₀ değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 57,81 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında ise; 16,38 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

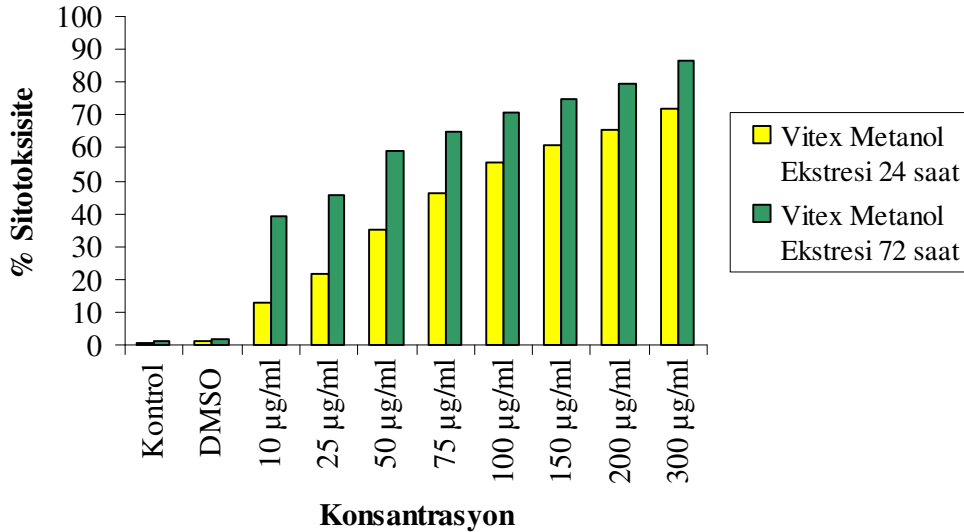


Şekil 4.6.c. *Vitex agnus-castus* L. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

d-Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Metanol ekstresinin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisine ilişkin veriler incelendiğinde, metanol ekstresinin de MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede sitotoksik etki gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6.d). Ekstrenin MCF-7 hücrelerine 24 saatlik uygulanması sonucunda,

özellikle 100 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda sitotoksik etki % 50'nin oldukça üzerine çıkmış ve konsantrasyon artışı ile birlikte sitotoksik etki de artmıştır. Uygulama süresi 72 saate çıkarıldığında ise sitotoksik etki 50 µg/ml konsantrasyondan itibaren % 50'nin üzerine çıkmış (%59,33) ve konsantrasyon artışı ile birlikte sitotoksik etki artışa geçmiş ve en yüksek sitotoksik etki 300 µg/ml'lik ekstrenin 72 saatlik uygulaması sonucunda elde edilmiştir (% 86,67). Yapılan istatistikî analizler sonucunda, 10 µg/ml konsantrasyonunun 24 saatlik uygulaması hariç denenen bütün süre ve konsantrasyonlarda metanol ekstresinin kontrol gruplarına göre önemli derecede sitotoksik etki gösterdiği ortaya çıkmıştır ($p < 0,05$) (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6.d). Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) bakımından sitotoksikite değerleri arasındaki fark 150 µg/ml konsantrasyon hariç uygulanan bütün konsantrasyonlarda önemlidir. Metanol ekstresinin MCF-7 hücrelerinin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 85,34 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 33,34 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).



Şekil 4.6.d. *Vitex agnus-castus* L. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

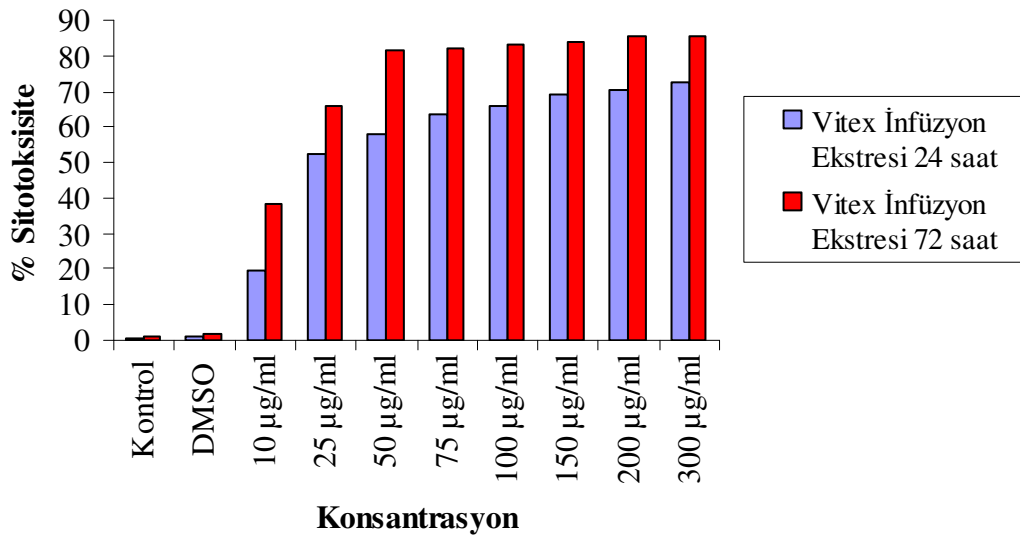
Metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerine farklı konsantrasyon ve sürelerde uygulanması sonucunda elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, metanol ekstresinin de MCF-7 hücreleri üzerinde in vitro sitotoksik etkisinin bulunduğu görülmektedir.

e- Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

1-İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

İnfüzyon ekstresinin konsantrasyon artışı ile MCF-7 hücrelerinin canlılığını azaltma yönünde (sitotoksik etki) etki ettiği ve bu etkinin uygulama süresi 24 saatten 72 saate çıkarıldığında daha belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6.e). Ekstrenin 24 ve 72 saatlik uygulamaları 25 µg/ml konsantrasyondan itibaren MCF-7 hücrelerinde % 50'nin oldukça üzerinde sitotoksik etki göstermiş ve bu etki her iki süre uygulamasında da konsantrasyon artışı ile birlikte artmıştır. Yapılan istatistiki analizler de 10 µg/ml ekstre konsantrasyonunun 24 saatlik uygulaması dışında kalan bütün konsantrasyon ve sürelerde sitotoksik etkinin, kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ($p<0,05$); uygulama süreleri (24 ve 72 saat) bakımından sitotoksikite değerleri arasındaki farkın da uygulanan bütün konsantrasyonlarda önemli olduğunu ortaya koymuştur. İnfüzyon ekstresinin MCF-7 hücrelerinin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 23,93 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 16,50 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

İnfüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerine farklı konsantrasyon ve sürelerde uygulanması sonucunda elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, infüzyon ekstresinin de MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin etil asetat ekstresine yakın olduğu söylenebilir.

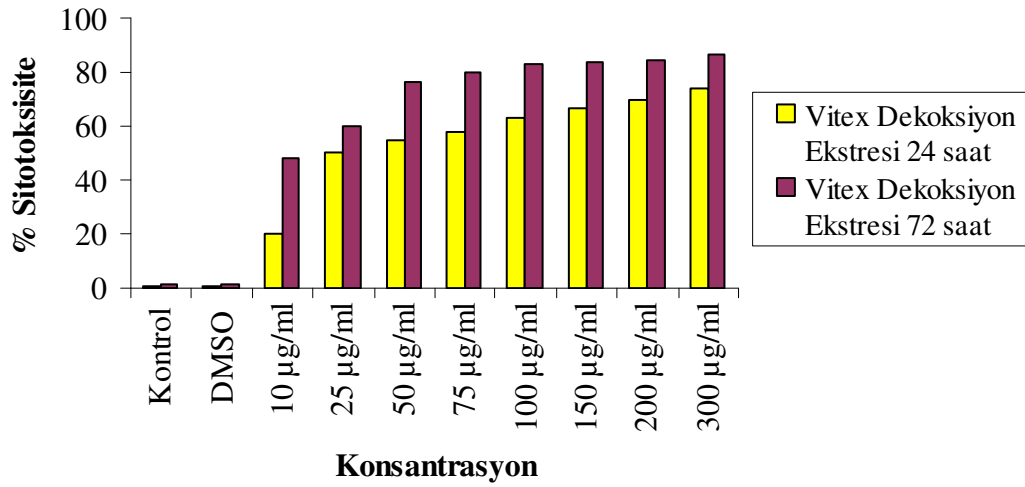


Şekil 4.6.e. *Vitex agnus-castus* L. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

2-Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

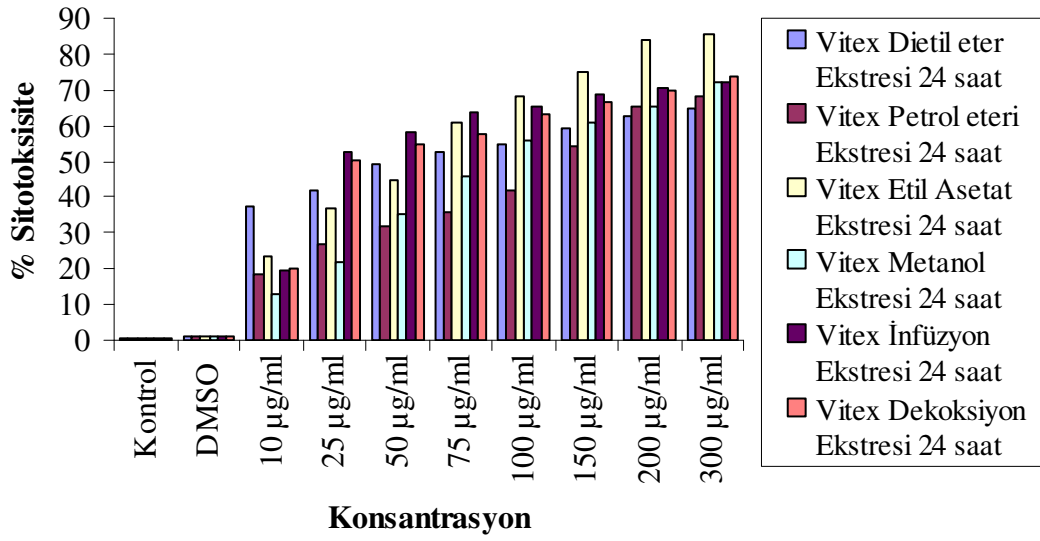
V. agnus-castus' dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan dekoksiyon ekstresi de infüzyon ekstresinde olduğu gibi, MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede in vitro sitotoksik etki göstermiştir. Ekstrenin 24 saatlik ve 72 saatlik uygulamaları infüzyon ekstresi uygulamalarında olduğu gibi 25 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlardan itibaren MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek sitotoksik etki göstermiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6.f). Yapılan istatistikî analizler 10 µg/ml ekstre konsantrasyonunun 24 saatlik uygulaması hariç, denenen bütün konsantrasyonlarda 24 ve 72 saatlik uygulama sürelerinde sitotoksik etkinin kontrol gruplarına göre önemli derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0,05$). Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) bakımından sitotoksikite değerleri arasındaki fark 25 µg/ml konsantrasyon hariç uygulanan bütün konsantrasyonlarda önemlidir. Dekoksiyon ekstresinin MCF-7 hücrelerinin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 24,83 µg/ml ve 72 saatlik ekstre uygulamasında ise 12,42 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; dekoksiyon ekstresinin de MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin yüksek olduğu söylenebilir.

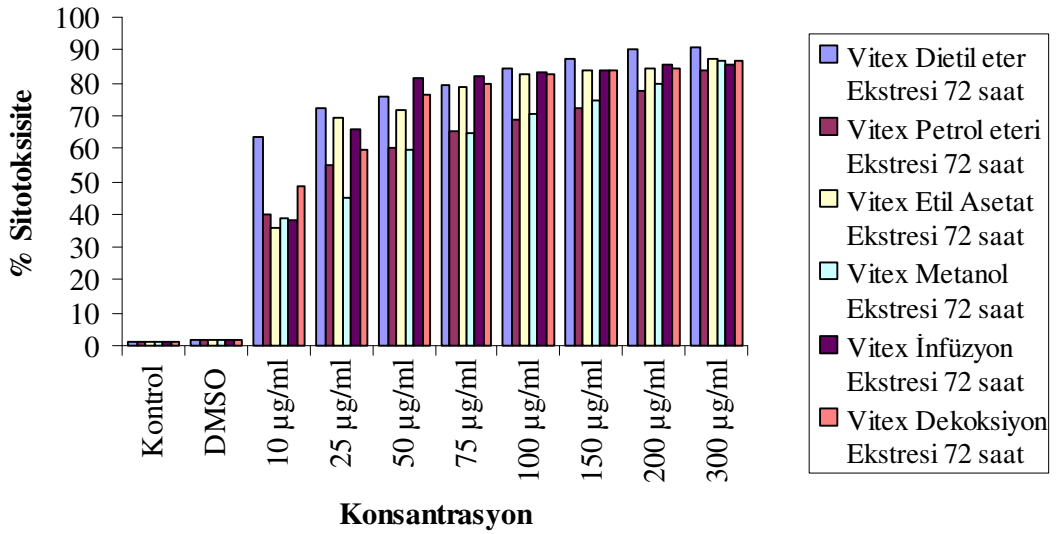


Şekil 4.6.f. *Vitex agnus-castus* L. dekoksiyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

V. agnus-castus tohumlarından elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlananarak uygulanan ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi kendi aralarında ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; gerek konsantrasyon ve gerekse uygulama süresine bağlı olarak bütün ekstreler kontrol gruplarına göre önemli derecede sitotoksik etki göstermesine rağmen, uygulama süresi açısından duruma bakıldığında 24 saatlik uygulamada en etkili ekstrenin etil asetat ekstresi (Çizelge 4.6), 72 saatlik uygulamada ise dietil eter ekstresi olduğu ortaya çıkmıştır (Şekil 4.6.g ve Şekil 4.6 h).



Şekil 4.6 g. *Vitex agnus-castus* L.'den elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması



Şekil 4.6 h. *Vitex agnus-castus* L.'den elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması

Bu bitkiden elde edilen ekstreler, MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdikleri in vitro sitotoksik etki bakımından kendi aralarında karşılaştırıldığında sıralama; Dietil Eter > Dekoksiyon > Etil asetat > İnfüzyon > Petrol eteri > Metanol ekstresi şeklinde olmaktadır.

3-*Dracunculus vulgaris* Schott. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

D. vulgaris' den kök yumrusu kullanılarak farklı yöntemlerle elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) ekstrelerin (etil asetat, metanol, ve su (infüzyon (demleme) ve dekoksiyon (kaynatma)) 24 ve 72 saat süre ile MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücreleri üzerine uygulanmaları sonucunda ortaya çıkan ve kontrol grupları ile karşılaştırılan % sitotoksik etkilere ait veriler ile hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC₅₀ değerleri, her bir ekstre için Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7 a-f'de yer almaktadır. *D. vulgaris* Schott.'tan dietil eter ve petrol eteri ekstreleri elde edilemediği için bu ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi de belirlenememiştir.

Çizelge 4.7. *Dracunculus vulgaris* Schott.'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi ve CC₅₀ değerleri

	Konsantrasyon	Toplam Hücre	Sitotoksosite (%)			
			24. Saat	CC ₅₀	72. Saat	CC ₅₀
Etil Asetat	Kontrol	300	0,66±0,580	-----	1,33±0,577	-----
	Kontrol (DMSO)	300	1,00±1,000	-----	1,66±0,580	-----
	10 µg/ml	300	30,00±0,000*	88,33 µg/ml	61,00±1,000* ^{x t}	4,84 µg/ml
	25 µg/ml	300	34,33±0,577*		67,67±0,600* ^{x t}	
	50 µg/ml	300	39,33±0,577*		70,00±1,000* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	48,67±0,600*		71,67±0,600* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	58,67±0,600* ^x		75,33±0,577* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	62,67±0,600* ^x		79,67±0,600* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	66,33±0,577* ^x		82,33±0,577* ^{x t}	
300 µg/ml	300	70,00±1,000* ^x	83,00±0,000* ^{x t}			
Metanol	10 µg/ml	300	55,00±0,000* ^x		6,45 µg/ml	
	25 µg/ml	300	61,33±0,577* ^x	69,33±0,577* ^x		
	50 µg/ml	300	64,00±1,000* ^x	74,67±0,600* ^x		
	75 µg/ml	300	65,67±0,600* ^x	77,67±0,600* ^x		
	100 µg/ml	300	67,33±0,577* ^x	84,67±0,600* ^{x t}		
	150 µg/ml	300	69,67±0,600* ^x	85,33±0,577* ^{x t}		
	200 µg/ml	300	72,00±1,000* ^x	86,00±0,000* ^{x t}		
	300 µg/ml	300	72,67±0,600* ^x	87,00±1,000* ^{x t}		
İnfüzyon (Sulu)	10 µg/ml	300	36,33±0,577*	116,20 µg/ml	55,00±0,000* ^{x t}	6,63 µg/ml
	25 µg/ml	300	45,33±0,577*		57,67±0,600* ^{x t}	
	50 µg/ml	300	45,67±0,600*		60,67±0,600* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	47,33±0,577*		62,33±0,577* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	49,67±0,600*		63,33±0,577* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	52,33±0,577* ^x		65,67±0,600* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	57,67±0,600* ^x		71,00±1,000* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	62,67±0,600* ^x		73,33±0,577* ^x	
Dekoksiyon (Sulu)	10 µg/ml	300	26,00±1,000*	135,73 µg/ml	52,00±0,000* ^{x t}	7,18 µg/ml
	25 µg/ml	300	32,67±0,600*		54,33±0,577* ^{x t}	
	50 µg/ml	300	39,00±0,000*		61,00±0,000* ^{x t}	
	75 µg/ml	300	44,33±0,577*		73,67±0,600* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	46,67±0,600*		76,33±0,577* ^{x t}	
	150 µg/ml	300	51,33±0,577* ^x		78,33±0,577* ^{x t}	
	200 µg/ml	300	66,33±0,577* ^x		80,00±1,000* ^{x t}	
	300 µg/ml	300	71,00±1,000* ^x		83,00±0,000* ^x	

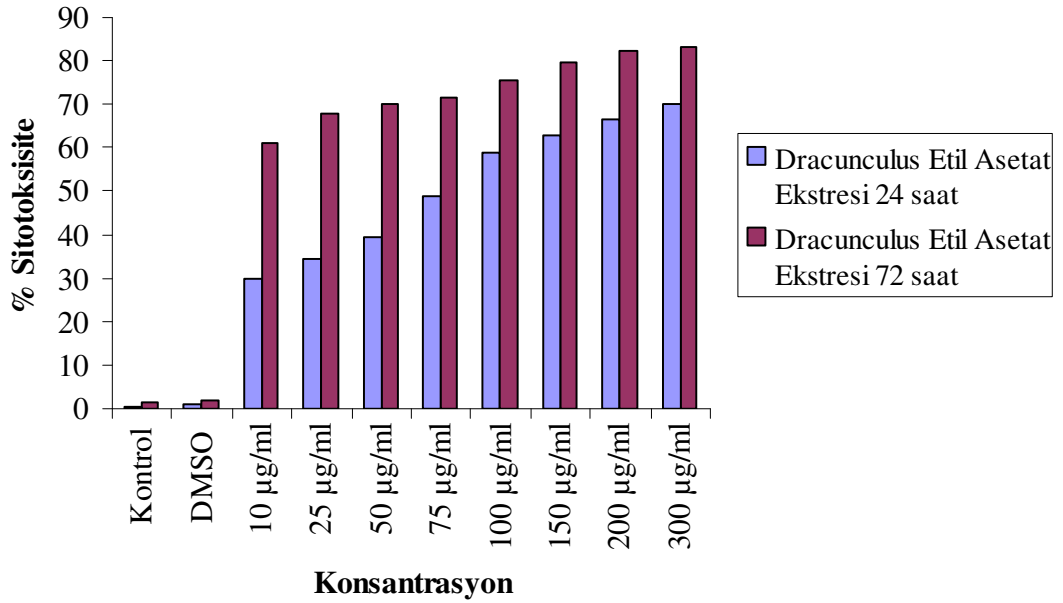
*p<0,05 ^x Sitotoksik etki >% 50 ^t Uygulama süreleri arasındaki sitotoksik etki farkı p<0,05 seviyesinde önemli

a- Etil Asetat Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

D. vulgris Schott'dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan etil asetat ekstresinin, konsantrasyon artışı ile MCF-7 hücrelerinin canlılığını azaltma yönünde etki ettiği (sitotoksik etki) ve bu etkinin uygulama süresi 24 saatten 72 saate

çıkarıldığında daha belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7.a). Ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi, 24 saatlik uygulama süresi sonunda yüksek konsantrasyonlar olan 100 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda % 50'nin üzerine çıkmıştır ve bu değerler kontrol gruplarına göre oldukça yüksektir ($p<0,05$). Uygulama süresi 72 saate çıkarıldığında ise en düşük konsantrasyon olan 10 µg/ml de dahil olmak üzere denenen bütün konsantrasyonlarda, etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde oldukça yüksek seviyede (% 50'nin oldukça üzerinde) sitotoksik etkiye neden olduğu görülmüştür. Ekstrenin sitotoksik etkisi hem konsantrasyon hem de uygulama süresi artışına bağlı olarak artmış ve sitotoksik etki, en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 µg/ml'de % 83,00'e ulaşmıştır (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7.a). Ekstre uygulamalarından elde edilen bu veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, ortaya çıkan bu yüksek sitotoksik etkinin istatistikî anlamda da önemli olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). İstatistikî analizler uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri farkınının da uygulanan tüm ekstre konsantrasyonlarında önemli olduğunu ortaya koymuştur. Etil asetat ekstresinin MCF-7 hücrelerinin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 88,33 µg/ml ve 72 saatlik ekstre uygulamasında ise; 4,84 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.7).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde oldukça yüksek seviyede in vitro sitotoksik etkisinin bulunduğu söylenebilir.

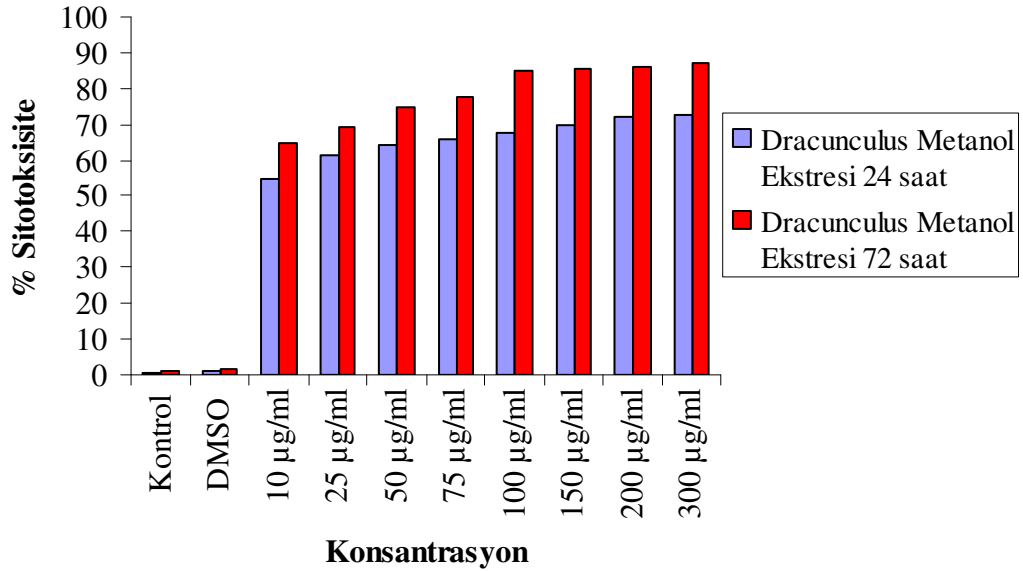


Şekil 4.7.a. *Dracunculus vulgaris* Schott. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

b- Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Metanol ekstresinin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisine ilişkin veriler incelendiğinde, metanol ekstresi MCF-7 hücreleri üzerinde hem 24 hem de 72 saatlik uygulamalarda en düşük konsantrasyon olan 10 µg/ml de dahil olmak üzere (% 55,00), bütün konsantrasyonlarda yüksek seviyede sitotoksik etki göstermiştir. Sitotoksik etki konsantrasyon artışına bağlı olarak artmış ve en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 µg/ml'nin 24 saatlik uygulamasında % 72,67; muamele süresi 72 saate çıkarıldığında ise 300 µg/ml'de % 87,00 seviyesine ulaşmıştır (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7.b). Yapılan istatistikî analizler de ekstrenin denenen bütün konsantrasyon ve sürelerde kontrol gruplarına göre önemli derecede yüksek sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur ($p < 0,05$). Ayrıca, uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri farkı da 100, 150, 200 ve 300 µg/ml'lik ekstre konsantrasyonlarında önemli bulunmuştur. Metanol ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 6,45 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 4,56 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.7).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde oldukça yüksek seviyede in vitro sitotoksik etkisinin bulunduğu söylenebilir.



Şekil 4.7.b. *Dracunculus vulgaris* Schott. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

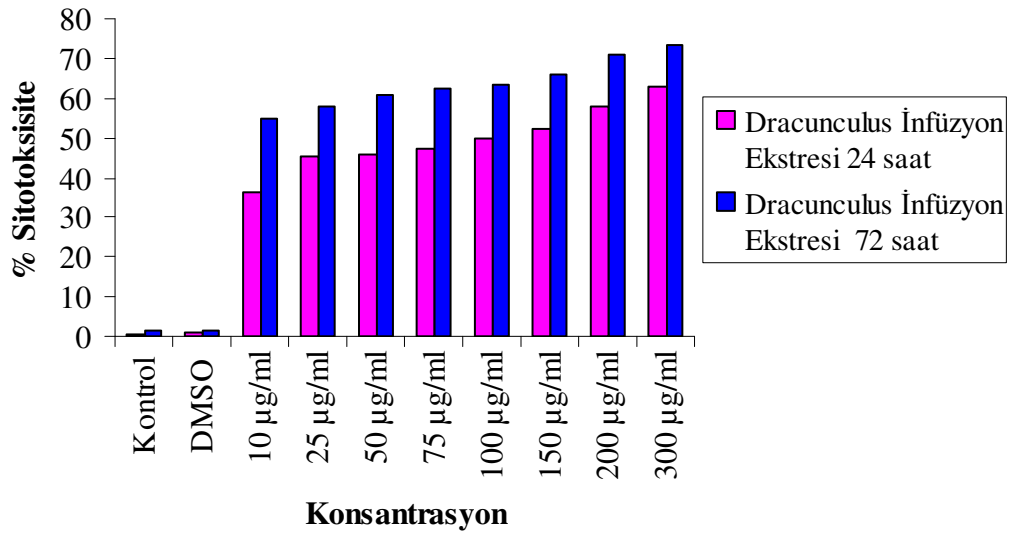
c- Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

İnfüzyon ekstresi özellikle 72 saatlik uygulama süresi sonunda MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede sitotoksik etki göstermiştir. Ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi, 24 saatlik uygulama süresi sonunda yüksek konsantrasyonlar olan 150 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda % 50'nin üzerine çıkmıştır ve 300 µg/ml'de % 62,67'ye ulaşmıştır. Bu değerler kontrol gruplarına göre oldukça yüksektir ($p < 0,05$). Ekstrenin 72 saatlik uygulaması sonucunda ise denenen bütün konsantrasyonlarda 10 µg/ml'den itibaren yüksek seviyede sitotoksik etki görülmüş; (% 55,00) bu etki yine konsantrasyon artışı ile birlikte artarak en yüksek

konsantrasyon olan 300 µg/ml'de % 73,33'e ulaşmıştır. (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7.c). İstatistikî analizler de infüzyon ekstresinin sitotoksik etkisinin denenen bütün süre ve konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ($p<0,05$) göstermiştir. Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri farkınının da 300 µg/ml hariç diğer tüm ekstre konsantrasyonlarında istatistiki bakımdan önemli olduğu görülmüştür. İnfüzyon ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 116,20 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 6,63 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.7).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde in vitro sitotoksik etkisinin bulunduğu söylenebilir.



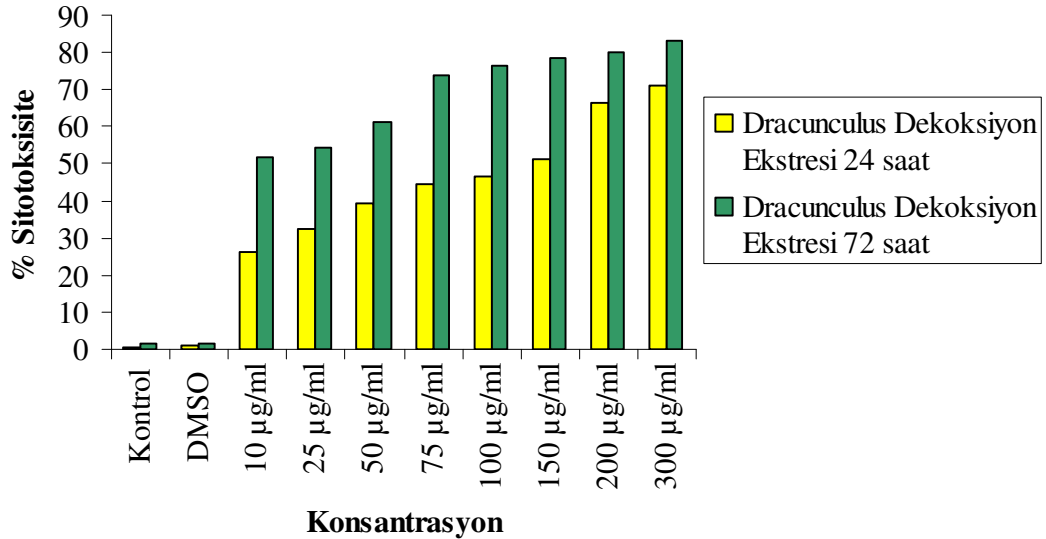
Şekil 4.7.c. *Dracunculus vulgaris* Schott. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

Dekoksiyon ekstresi de infüzyon ekstresi gibi MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede sitotoksik etki göstermiştir. Ekstre 24 saatlik uygulamalarda infüzyon ekstresine benzer şekilde 150 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda etkili olmuştur

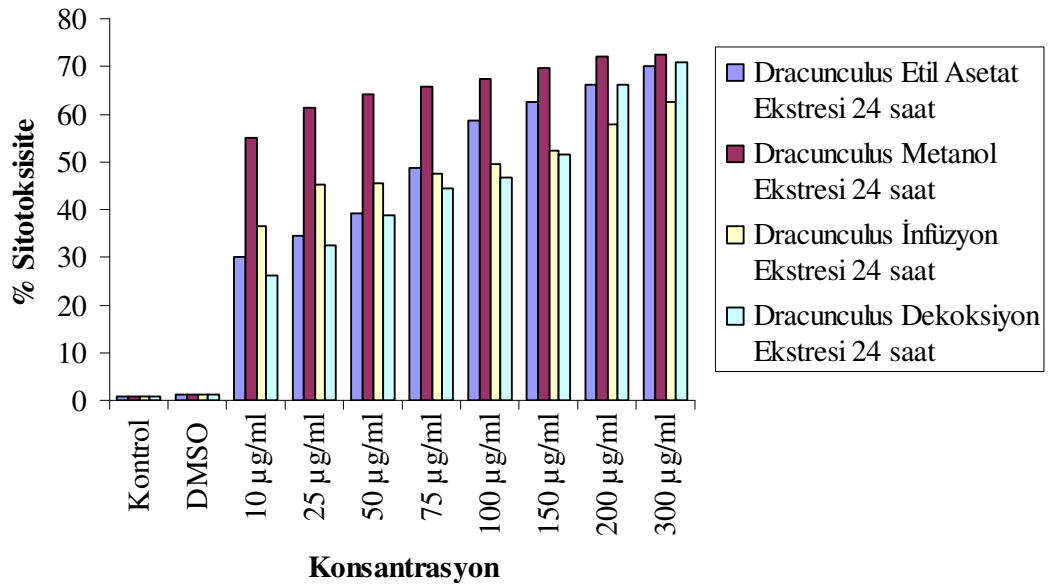
(% 50'nin üzerinde) ve konsantrasyon artışı ile birlikte sitotoksik etki de artarak % 71,00'e çıkmıştır. Ekstrenin 72 saatlik uygulamaları, bütün konsantrasyonlarda yüksek sitotoksik etki göstermiş ve bu etki yine konsantrasyon artışı ile birlikte artarak % 83,00 seviyesine ulaşmıştır. (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7.d). Yapılan istatistikî analizler sonucunda, ekstrenin bütün konsantrasyonlarının hem 24 hem de 72 saatlik uygulamalarda kontrol gruplarına göre önemli derecede yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında aradaki sitotoksik etki farkı infüzyon ekstresinde olduğu gibi 300 µg/ml'lik konsantrasyon hariç uygulanan tüm ekstre konsantrasyonlarında önemli olduğu bulunmuştur. Dekoksasyon ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC₅₀ değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 135,73 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 7,18 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.7).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; dekoksasyon ekstresinin de diğer ekstrelerde olduğu gibi MCF-7 hücreleri üzerinde in vitro sitotoksik etkide bulunduğu söylenebilir.

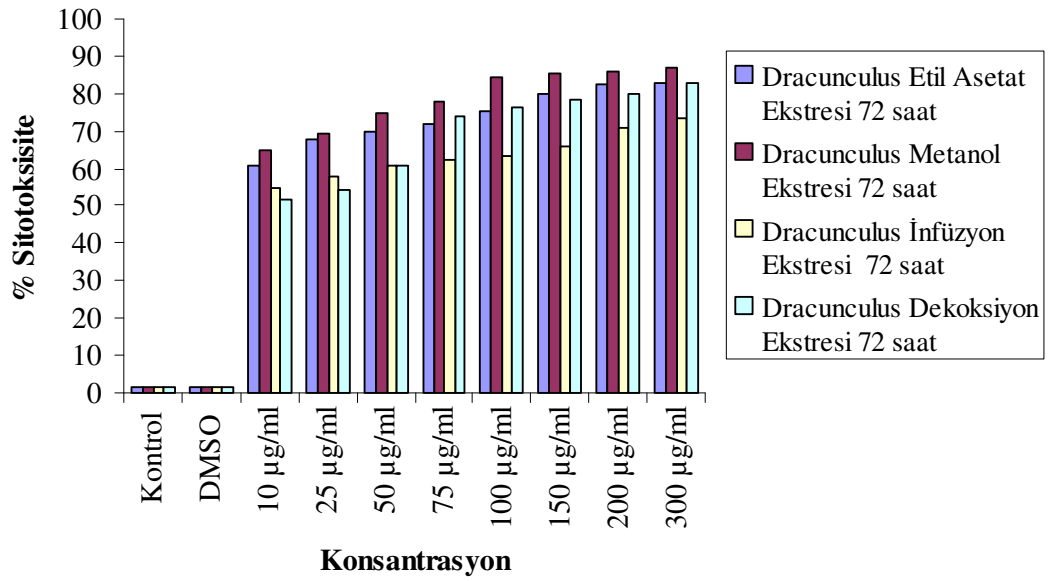


Şekil 4.7.c. *Dracunculus vulgaris* Schott. dekoksasyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

D. vulgaris bitkisi kök yumrularından elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi kendi aralarında ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, gerek konsantrasyon ve gerekse uygulama süresine bağlı olarak bütün ekstreler in vitro da kontrol gruplarına göre önemli derecede sitotoksik etki göstermesine rağmen, uygulama süresi açısından duruma bakıldığında 24 saatlik uygulamada en etkili ekstrenin metanol ekstresi (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7.e), 72 saatlik uygulamada ise etil asetat ekstresi olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.7 Şekil 4.7 f).



Şekil 4.7.e. *Dracunculus vulgaris* Schott.'dan elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması



Şekil 4.7.f. *Dracunculus vulgaris* Schott.'dan elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması

Bu bitkiden elde edilen ekstreler, MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdikleri in vitro sitotoksik etki bakımından kendi aralarında karşılaştırıldığında sıralama; Metanol > Etil asetat > Dekoksiyon > İnfüzyon ekstresi şeklinde olmaktadır.

4- *Asphodels aestivus* Brot. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi

Asphodelus aestivus bitkisinden kök yumruları kullanılarak farklı yöntemlerle elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 µg/ml) ekstrelerin (etil asetat, metanol, ve sulu (infüzyon (demleme) ve dekoksiyon (kaynatma)) 24 ve 72 saat süre ile insan meme metastatik karsinoma hücreleri (MCF-7) üzerine uygulanmaları sonucunda ortaya çıkan ve kontrol grupları ile karşılaştırılan % sitotoksik etkilere ait veriler ile hücrelerin %50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değerleri, her bir ekstre için Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8 a-g'de yer almaktadır. *A. aestivus*' dan petrol eteri ekstresi elde edilemediği için bu ekstre'nin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi denenememiştir.

Çizelge 4.8. *Asphodelus aestivus* Brot.'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi ve CC₅₀ değerleri

	Konsantrasyon	Toplam Hücre	Sitotoksosite (%)			
			24. Saat	CC ₅₀	72. Saat	CC ₅₀
Dietil Eter	Kontrol	300	0,66±0,580	-----	1,33±0,577	-----
	Kontrol (DMSO)	300	1,00±1,000	-----	1,66±0,580	-----
	10 µg/ml	300	12,33±0,577	-----	21,67±0,600*	188,83 µg/ml
	25 µg/ml	300	15,33±0,577		24,33±0,577*	
	50 µg/ml	300	21,33±0,577*		35,00±0,000* ^t	
	75 µg/ml	300	27,67±0,600*		39,67±0,600*	
	100 µg/ml	300	31,33±0,577*		42,33±0,577*	
	150 µg/ml	300	33,00±0,000*		46,67±0,600* ^t	
	200 µg/ml	300	39,33±0,577*		50,67±0,600* ^x	
300 µg/ml	300	49,00±0,000*	58,00±1,000* ^x			
Etil Asetat	10 µg/ml	300	15,67±0,600		-----	
	25 µg/ml	300	19,33±0,577	26,33±0,577*		
	50 µg/ml	300	22,67±0,600*	31,00±0,000*		
	75 µg/ml	300	28,33±0,577*	38,67±0,600*		
	100 µg/ml	300	34,00±0,000*	43,67±0,600*		
	150 µg/ml	300	36,33±0,577*	45,67±0,600*		
	200 µg/ml	300	39,00±1,000*	48,67±0,600*		
	300 µg/ml	300	40,67±0,600*	53,00±0,000* ^{x t}		
Metanol	10 µg/ml	300	21,33±0,577*	94,84 µg/ml	25,33±0,577*	82,06 µg/ml
	25 µg/ml	300	25,67±0,600*		27,33±0,577*	
	50 µg/ml	300	29,00±1,000*		41,00±1,000*	
	75 µg/ml	300	33,33±0,577*		45,67±0,600* ^t	
	100 µg/ml	300	54,33±0,577* ^x		61,00±1,000* ^x	
	150 µg/ml	300	58,67±0,600* ^x		67,67±0,600* ^x	
	200 µg/ml	300	61,67±0,600* ^x		71,00±0,000* ^x	
	300 µg/ml	300	69,33±0,577* ^x		75,33±0,577* ^x	
İnfüzyon (Sulu)	10 µg/ml	300	30,33±0,577*	185,92 µg/ml	32,33±0,577*	89,68 µg/ml
	25 µg/ml	300	33,67±0,600*		35,33±0,577*	
	50 µg/ml	300	36,00±0,000*		39,33±0,577*	
	75 µg/ml	300	38,33±0,577*		46,33±0,577*	
	100 µg/ml	300	41,33±0,577*		52,67±0,600* ^x	
	150 µg/ml	300	45,33±0,577*		57,00±0,000* ^x	
	200 µg/ml	300	51,67±0,600* ^x		63,67±0,600* ^x	
	300 µg/ml	300	55,00±1,000* ^x		70,67±0,600* ^{x t}	
Dekoksiyon (Sulu)	10 µg/ml	300	31,00±0,000*	112,26 µg/ml	41,00±0,000*	48,63 µg/ml
	25 µg/ml	300	35,33±0,577*		44,33±0,577*	
	50 µg/ml	300	39,67±0,600*		50,33±0,577* ^x	
	75 µg/ml	300	42,33±0,577*		54,67±0,600* ^{x t}	
	100 µg/ml	300	47,67±0,600*		59,00±0,000* ^x	
	150 µg/ml	300	57,33±0,577* ^x		61,67±0,600* ^x	
	200 µg/ml	300	63,33±0,577* ^x		69,00±1,000* ^x	
	300 µg/ml	300	66,67±0,600* ^x		76,00±1,000* ^x	

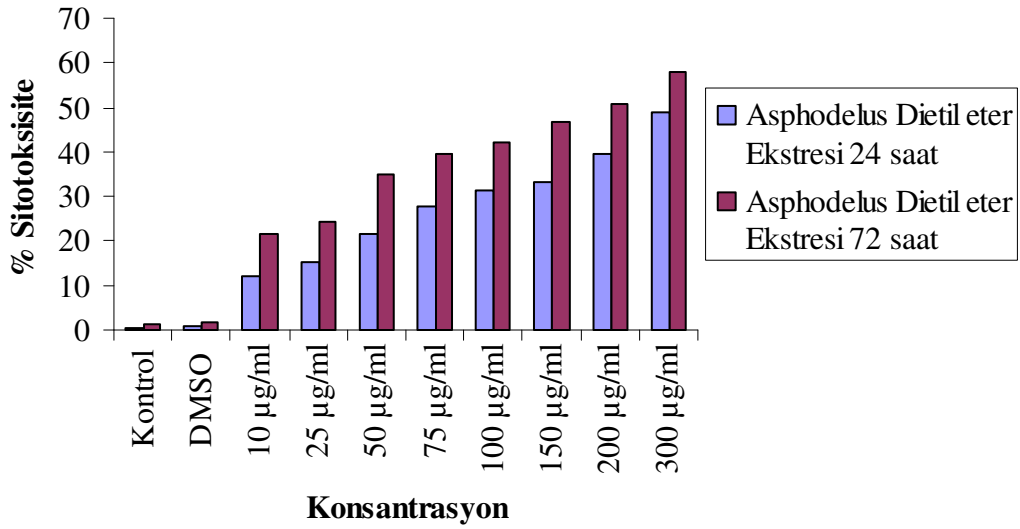
*p<0,05 ^x Sitotoksik etki >%50 ^t Uygulama süreleri arasındaki sitotoksik etki farkı p<0,05

seviyesinde önemli

a- Dietil Eter Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

A. aestivus'dan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan dietil eter ekstresinin konsantrasyon artışı ile MCF-7 hücrelerinin canlılığını azaltma yönünde etki ettiği (sitotoksik etki) ve bu etkinin uygulama süresi 24 saatten 72 saate çıkarıldığında daha belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8a). Elde edilen bu değerler kontrol gruplarına göre (sırası ile kontrol, % 0,66; DMSO kontrol, % 1,00) 24 saatlik uygulamada yüksek olmasına rağmen, sitotoksik etkinin %50'nin altında kalması bakımından dikkate değer değildir. En yüksek sitotoksik etki ekstrenin 72 saat süreyle 200 ve 300 µg/ml'lik uygulamalarında ortaya çıkmıştır (sırası ile % 50,67 ve % 58,00). Yapılan istatistikî analizler sonucunda, ekstrenin sitotoksik etkisinin 24 saatlik uygulamalarda 50 µg/ml'lik den itibaren, 72 saatlik uygulamalarda ise, 25 µg/ml'lik uygulamalardan itibaren, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ seviyesinde önemli olduğu görülmüştür. Uygulama süreleri (24 ve 72 saat) bakımından sitotoksik etki değerleri arasındaki farklılık ise yalnızca 50 ve 150 µg/ml'lik ekstre uygulamalarında önemli bulunmuştur (Çizelge 4.8). Dietil eter ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında hiçbir konsantrasyonda % 50 değerine ulaşamadığı için hesaplanamamıştır. 72 saatlik ekstre uygulamasında ise CC_{50} değeri 188,83 µg/ml olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde in vitro sitotoksik etkisinin ancak ekstrenin yüksek konsantrasyonlarının 72 saatlik uygulama süresi sonucunda ortaya çıktığı söylenebilir.

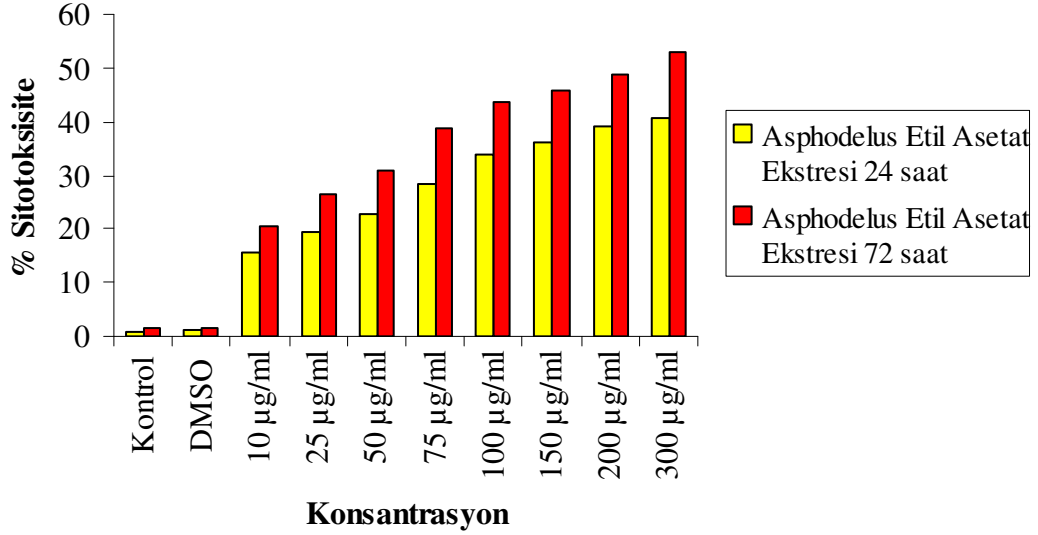


Şekil 4.8.a. *Asphodelus aestivus* Brot. dietil eter ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

b- Etil Asetat Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisine ilişkin elde edilen veriler incelendiğinde; etil asetat ekstresi uygulamaları sonucunda ortaya çıkan in vitro sitotoksik etkinin yine hem konsantrasyon hem de uygulama süresinin artmasına bağlı olarak arttığı Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8.b'den izlenebilir. Ancak 24 saatlik ekstre uygulamalarında kontrol gruplarına göre yüksek olan sitotoksik etki, denenen konsantrasyonların hiçbirinde % 50 seviyesine ulaşamamıştır. Sitotoksik etki 72 saatlik uygulamada da 300 µg/ml'lik ekstre uygulaması hariç (% 53.00), diğer konsantrasyonlarda % 50'nin üzerine çıkamamıştır. Yapılan istatistikî analizler sonucunda farklı konsantrasyonlardaki etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olsa da ($p < 0,05$), bu değerlerin % 50'nin altında kalması bakımından dikkate değer bir etki olduğu söylenemez. Yine uygulama süreleri (24 ve 72 saat) arasındaki sitotoksik etki değerleri de yalnızca 300 µg/ml'lik konsantrasyonda önemli derecede farklılık göstermiştir. Etil asetat ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında hiçbir

konsantrasyonda % 50 değerine ulaşamadığı için hesaplanamamıştır. 72 saatlik ekstre uygulamasında ise CC₅₀ değeri 215,29 µg/ml olarak hesaplanmıştır.



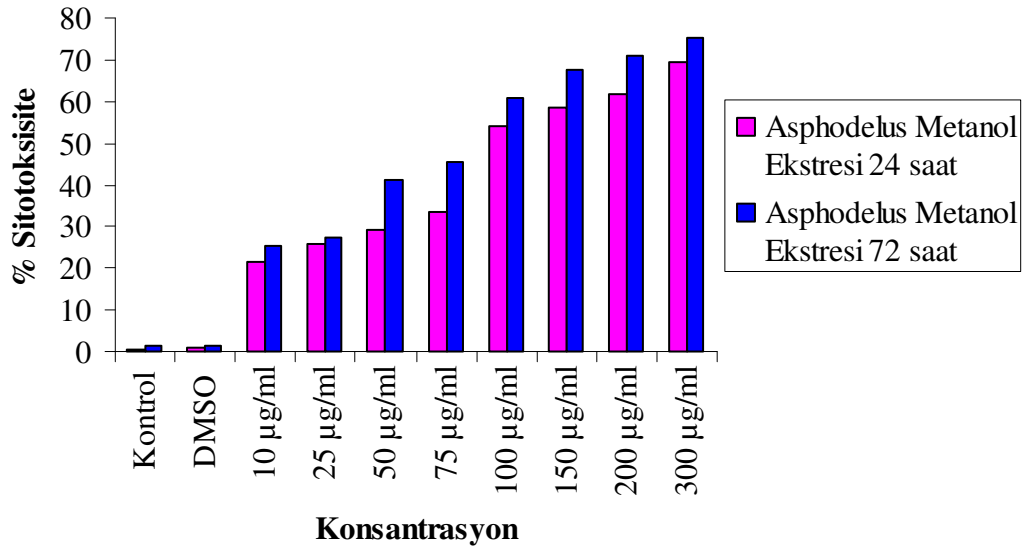
Şekil 4.8.b. *Asphodelus aestivus* Brot. etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; etil asetat ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin genel anlamda düşük olduğu ancak ekstrenin en yüksek konsantrasyonu olan 300 µg/ml'lik ekstrenin 72 saat süreyle MCF-7 hücrelerine uygulandığında, sitotoksik etkinin % 50'nin üzerine biraz çıktığı söylenebilir.

c- Metanol Ekstresinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

Bitkiden elde edilen metanol ekstresinin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisine ilişkin veriler incelendiğinde, metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde hem 24 hem de 72 saatlik uygulamalarda 100 µg/ml'lik uygulamalardan başlayarak, % 50'nin üzerinde sitotoksik etki gösterdiği Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8.c'den izlenebilir. Sitotoksik etki konsantrasyon artışına bağlı olarak artmış ve en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 µg/ml'nin 24 saatlik uygulamasında % 69,33'e; muamele süresi 72 saate çıkarıldığında ise 300 µg/ml'de % 75,33 değerine ulaşmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8.c). Yapılan istatistikî analizler

de ekstrenin denenen bütün konsantrasyon ve sürelerde kontrol gruplarına göre önemli derecede yüksek sitotoksik etki gösterdiğini ve uygulama süreleri arasındaki sitotoksik etki değerlerinin yalnızca 75 µg/ml'lik konsantrasyonda önemli derecede farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur ($p < 0,05$). Her iki uygulama süresinde de sitotoksik etki ancak 100 µg/ml'lik uygulamalarda % 50'nin üzerine çıkabilmiştir. Metanol ekstresinin hücrelerin %50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 94,84 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 82,06 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.8).



Şekil 4.8.c. *Asphodelus aestivus* Brot. metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

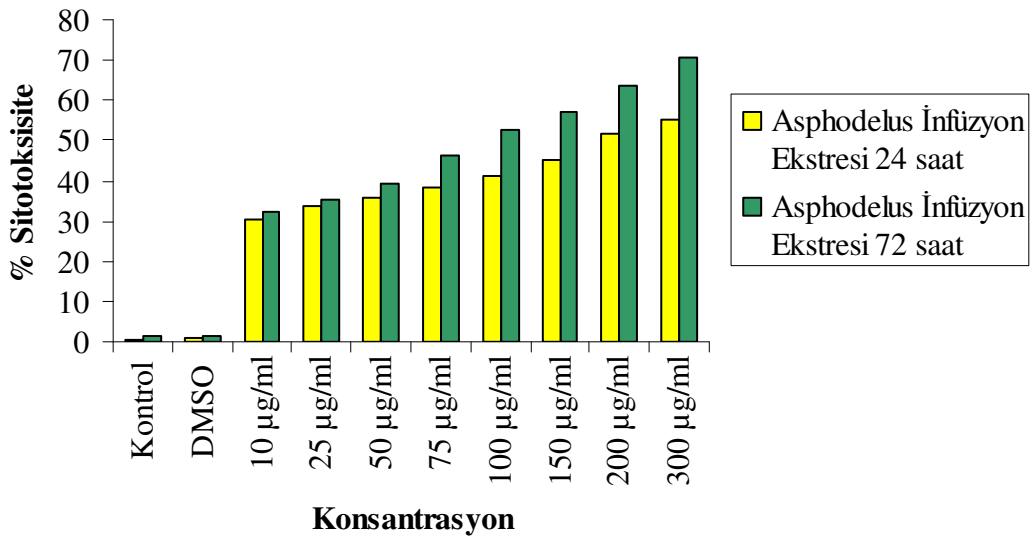
Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

d-Sulu Ekstrelerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisi

1- İnfüzyon (Demleme) Ekstresi

Bitkiden elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisine ilişkin veriler

incelendiğinde; özellikle 72 saatlik uygulama süresi sonunda infüzyon ekstresi MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek seviyede sitotoksik etki göstermiştir. Ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi 24 saatlik uygulanma süresinde yüksek konsantrasyonlar olan 200 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda % 50'nin üzerine çıkmış ve 300 µg/ml'de % 55,00'e ulaşmıştır. Bu değerler kontrol gruplarına göre oldukça yüksektir ($p < 0,05$). Ekstrenin 72 saatlik uygulaması sonucunda ise, sitotoksik etki 100 µg/ml'den itibaren (% 52,67) ortaya çıkmıştır. Sitotoksik etki yine konsantrasyon artışı ile birlikte artarak en yüksek konsantrasyon olan 300 µg/ml'de % 70,67'ye ulaşmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8.d). İstatistikî analizler de infüzyon ekstresinin sitotoksik etkisinin denenen bütün süre ve konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve uygulama süreleri arasındaki sitotoksik etki değerlerinin yalnızca 300 µg/ml'lik konsantrasyonda önemli derecede farklılık gösterdiğini ($p < 0,05$) ortaya koymuştur. İnfüzyon ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 185,92 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında 89,68 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.8).



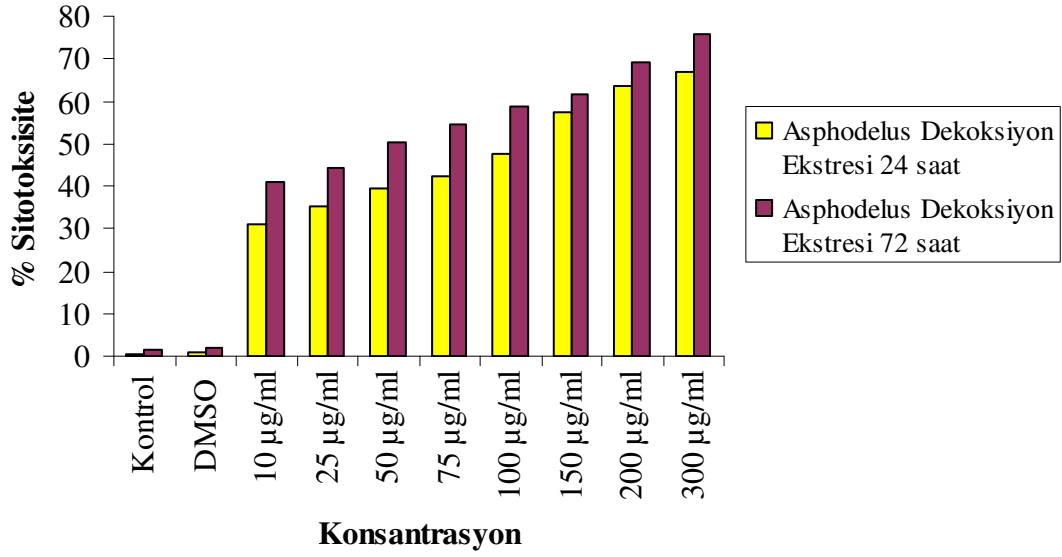
Şekil 4.8.d. *Asphodelus aestivus* Brot. infüzyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; infüzyon ekstresinin de metanol ekstresinde olduğu gibi MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

2- Dekoksiyon (Kaynatma) Ekstresi

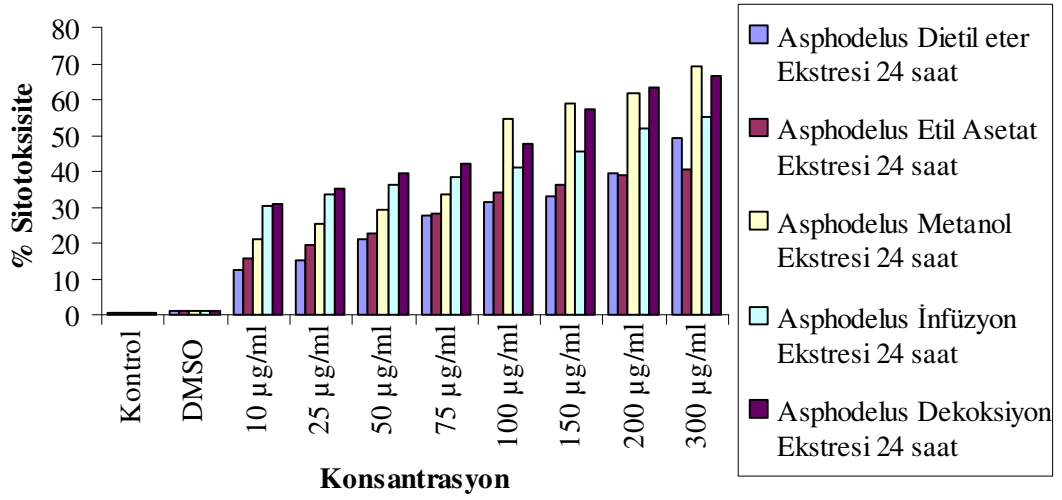
Farklı konsantrasyonlardaki dekoksiyon ekstresi de infüzyon ekstraktı gibi 24 saatlik uygulamalarda MCF-7 hücreleri üzerinde konsantrasyon artışı ile artan sitotoksik bir etki göstermiştir. 150 µg/ml'lik ekstre uygulamasından itibaren (% 57,33) diğer yüksek konsantrasyonlarda ekstrenin sitotoksik etkisi % 50'nin oldukça üzerine çıkmıştır (sırası ile 200 µg/ml'de % 63,33 ve 300 µg/ml'de % 66,67). 50 µg/ml'nin altındaki konsantrasyonlarda ise sitotoksik etki kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olmakla ($p < 0,05$) birlikte; bu uygulamalarda % 50'nin altında kalmıştır. Ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki 72 saatlik uygulamalarında ise, sitotoksik etki yine konsantrasyon artışına bağlı olarak artmış ve 24 saatlik uygulamanın aksine, 75 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda aktivite % 50'nin üzerine çıkarak 300 µg/ml konsantrasyonda % 76,00'ya ulaşmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8.e). 72 saatlik uygulamalarda da sitotoksik etki denenen bütün konsantrasyonlarda kontrol gruplarına göre önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). İstatistikî analizler, uygulama süreleri arasındaki sitotoksik etki değerleri farkının yalnızca 75 µg/ml konsantrasyonda önemli olduğunu ortaya koymuştur. Dekoksiyon ekstresinin hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değerini gösteren CC_{50} değeri 24 saatlik ekstre uygulamasında 112,26 µg/ml, 72 saatlik ekstre uygulamasında ise 48,63 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.8).

Elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; dekoksiyon ekstresinin de metanol ve infüzyon ekstresinde olduğu gibi MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.



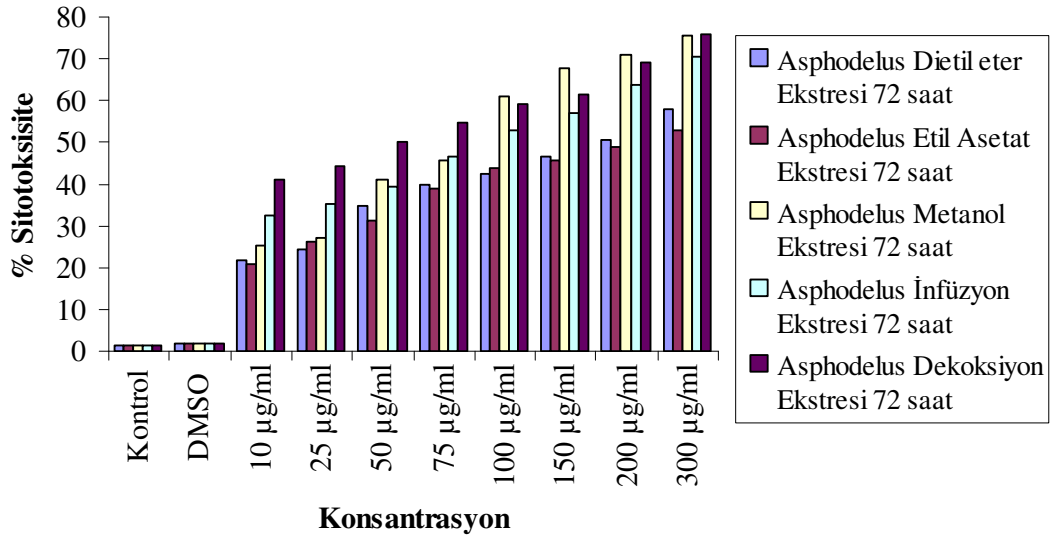
Şekil 4.8.e. *Asphodelus aestivus* Brot. dekoksiyon ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi

A. aestivus kök yumrularından elde edilerek ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan dietil eter, etil asetat, metanol, infüzyon ve dekoksiyon ekstrelerinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi kendi aralarında karşılaştırıldığında; ekstreler içerisinde 24 saatlik uygulamalarda en yüksek sitotoksik etkiyi gösteren ekstrenin metanol ekstresi olduğu (% 69,33) görülmektedir. (Çizelge 4,8 ve Şekil 4.8 f). Ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarında hemen hemen denenen bütün konsantrasyonlar kontrol gruplarına göre istatistikî açıdan önemli derecede yüksek sitotoksik etki göstermişlerdir ($p < 0,05$).



Şekil 4.8.f. *Asphodelus aestivus* Brot.'dan elde edilen ekstrelerin 24 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması

72 saatlik ekstre uygulamalarında ise yine metanol, infüzyon ve dekoksiyon ekstrlerinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi dietil eter ve etil asetat ekstrlerine göre daha belirgindir. Metanol ve dekoksiyon ekstrlerinin sitotoksik etkisi 100, 150, 200 ve 300 µg/ml'lik konsantrasyonlarda birbirine oldukça yakın seviyelerde olmakla birlikte, dekoksiyon ekstresinin sitotoksik etkisi bu konsantrasyonda diğer ekstrlere göre biraz daha fazladır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8.g). Ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarında denenen bütün konsantrasyonlar kontrol gruplarına göre istatistikî açıdan önemli derecede yüksek sitotoksik etki göstermişlerdir ($p < 0,05$).



Şekil 4.8.g. *Asphodelus aestivus* Brot.'dan elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarının in vitro sitotoksik etki bakımından karşılaştırılması

Bu bitkiden elde edilen ekstreler, MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdikleri in vitro sitotoksik etki bakımından kendi aralarında karşılaştırıldıkları zaman sıralama; Dekoksiyon > Metanol > İnfüzyon > Dietil Eter > Etil asetat ekstresi şeklinde olmaktadır.

Tez çalışması kapsamında MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi denenen 4 farklı bitki kendi arasında karşılaştırıldığında; en yüksek sitotoksik etkiyi *V. agnus castus*'dan elde edilen ekstrelerin gösterdiği ortaya çıkmıştır. İn vitro sitotoksik etki bakımından *V. agnus castus*'u sırası ile *E. platyphyllos*, *D. vulgaris* ve *A. aestivus* izlemiştir.

Bitkilerden elde edilen bütün ekstreler MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkileri bakımından karşılaştırıldığında en etkili ekstrelerin metanol ve dekoksiyon ekstreleri olduğu; bu ekstreleri sırası ile infüzyon, metanol, etil asetat, dietil eter ve petrol eteri ekstrelerinin izlediği görülmüştür.

C- SİTOTOKSİK ETKİSİ BELİRLENEN EKSTRELERİN MCF-7 HÜCRELERİNDE OLUŞTURDUĞU GENETİK HASARLAR

E. platyphyllos L., *V. agnus-castus* L., *D. vulgaris* Schott. ve *A. aestivus* Brot.'dan elde edilen ve MCF-7 hücreleri üzerinde yüksek derecede sitotoksik etki gösteren ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde neden olduğu genetik hasarları belirlemek amacı ile ekstrelerin seçilen konsantrasyonlarının (100, 150, 200 ve 300µg/ml) 72 saat süreyle MCF-7 hücrelerine uygulanmaları sonucunda MCF-7 hücrelerinin genetik materyalinde ortaya çıkan DNA hasarları, DNA'da oluşan hasar ve tamirleri belirlemek amacıyla son yıllarda oldukça sık kullanılan hızlı, kolay ve duyarlı bir yöntem olan Comet Yöntemi (Comet Assay; tek hücre jel elektroforezi) ile (Singh *et al.*, 1988) her bir bitki için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

1-*Euphorbia platyphyllos* L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri

E. platyphyllos dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksiyon) ekstrelerinin MCF-7 hücrelerinde neden olduğu DNA hasarlarına ilişkin farklı comet tiplerinin dağılımı, hasarlı hücre yüzdesi, arbitrary unit ve GHI değerleri, kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.9'da ve Comet yöntemiyle belirlenen DNA hasarlarına ait hasarsız DNA'dan (Tip 0), en hasarlı DNA (Tip 4)'ya kadar değişen DNA fluoresans mikroskop görüntüleri de Şekil 4.10 a-f'de yer almaktadır.

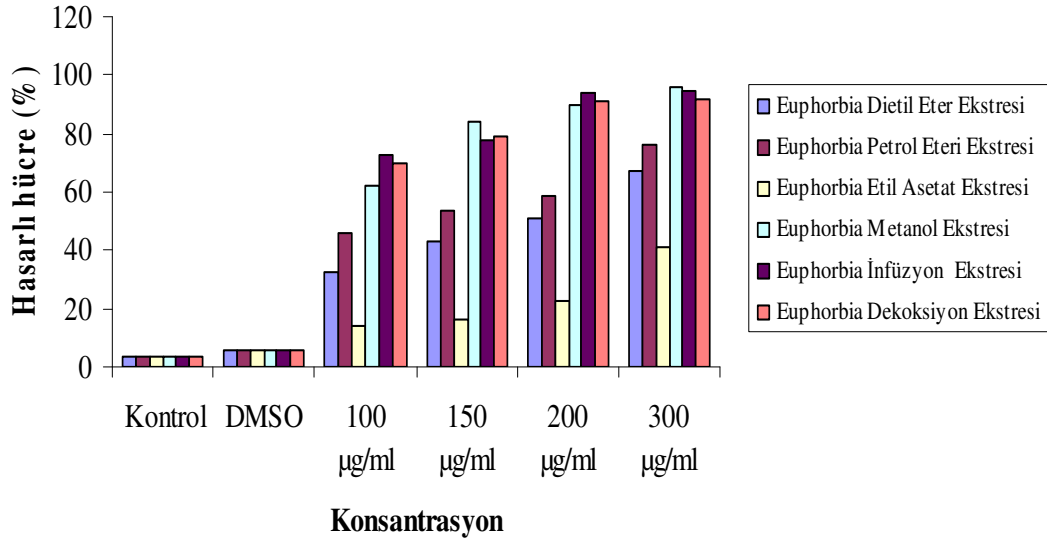
Çizelge 4. 9. *Euphorbia platyphyllos* L.'den elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri

Ekstre Tipi	Konsantrasyon	Toplam Hücre	DNA Hasar Tipleri (%)				Hasarlı Hücre (%) (Tip1+2+3+4) ± SD	Arbitrary Unit (au)	Genetik Hasar İndeksi (GHI)
			Tip 1	Tip 2	Tip 3	Tip 4			
Kontrol	0	300	1,00	1,33	---	1,00	3,33±0,012	30	0,10
DMSO	% 0,1'lik çözelti	300	1,33	0,33	1,67	2,00	5,33±0,010	46	0,15
Dietil eter	100 µg/ml	300	0,67	2,00	7,00	22,00	32,33±0,060*	341	1,14*
	150 µg/ml	300	0,00	2,67	8,67	32,66	43,33±0,021*	486	1,62*
	200 µg/ml	300	0,00	11,00	5,33	34,67	51,00±0,017*	530	1,77*
	300 µg/ml	300	5,67	9,00	14,67	38,00	67,33±0,012*	659	2,20*
Petrol eteri	100 µg/ml	300	3,67	7,00	11,00	24,00	45,67±0,025*	440	1,47*
	150 µg/ml	300	6,33	9,00	10,00	28,33	53,66±0,012*	503	1,68*
	200 µg/ml	300	6,67	8,00	10,00	33,67	58,33±0,040*	562	1,87*
	300 µg/ml	300	4,00	4,00	7,67	60,33	76,00±0,044*	829	2,76*
Etil asetat	100 µg/ml	300	3,33	2,33	3,00	5,67	14,33±0,006	119	0,40
	150 µg/ml	300	3,33	2,67	3,33	7,00	16,33±0,015	140	0,47
	200 µg/ml	300	3,67	3,33	5,33	10,00	22,33±0,021*	199	0,66*
	300 µg/ml	300	9,33	6,67	11,00	13,67	40,66±0,025*	331	1,10*
Metanol	100 µg/ml	300	19,67	13,33	10,33	19,00	62,33±0,025*	460	1,53*
	150 µg/ml	300	24,67	17,33	15,67	26,33	84,00±0,087*	635	2,12*
	200 µg/ml	300	13,67	10,66	15,00	50,00	89,33±0,006*	840	2,80*
	300 µg/ml	300	13,33	11,67	13,66	57,00	95,66±0,006*	917	3,06*
İnfüzyon	100 µg/ml	300	15,67	13,33	15,66	28,00	72,66±0,023*	604	2,01*
	150 µg/ml	300	15,00	11,33	12,33	39,00	77,66±0,015*	692	2,31*
	200 µg/ml	300	13,67	14,33	13,00	53,00	93,67±0,012*	880	2,93*
	300 µg/ml	300	9,66	11,67	12,33	60,66	94,33±0,021*	930	3,13*
Dekoksiyon	100 µg/ml	300	15,33	12,33	14,00	28,33	70,00±0,030*	623	2,08*
	150 µg/ml	300	15,00	14,00	12,67	37,67	79,33±0,011*	695	2,32*
	200 µg/ml	300	13,33	14,67	13,00	50,33	91,33±0,006*	849	2,83*
	300 µg/ml	300	10,33	11,00	12,00	58,00	92,00±0,010*	901	3,00*

*p<0.05

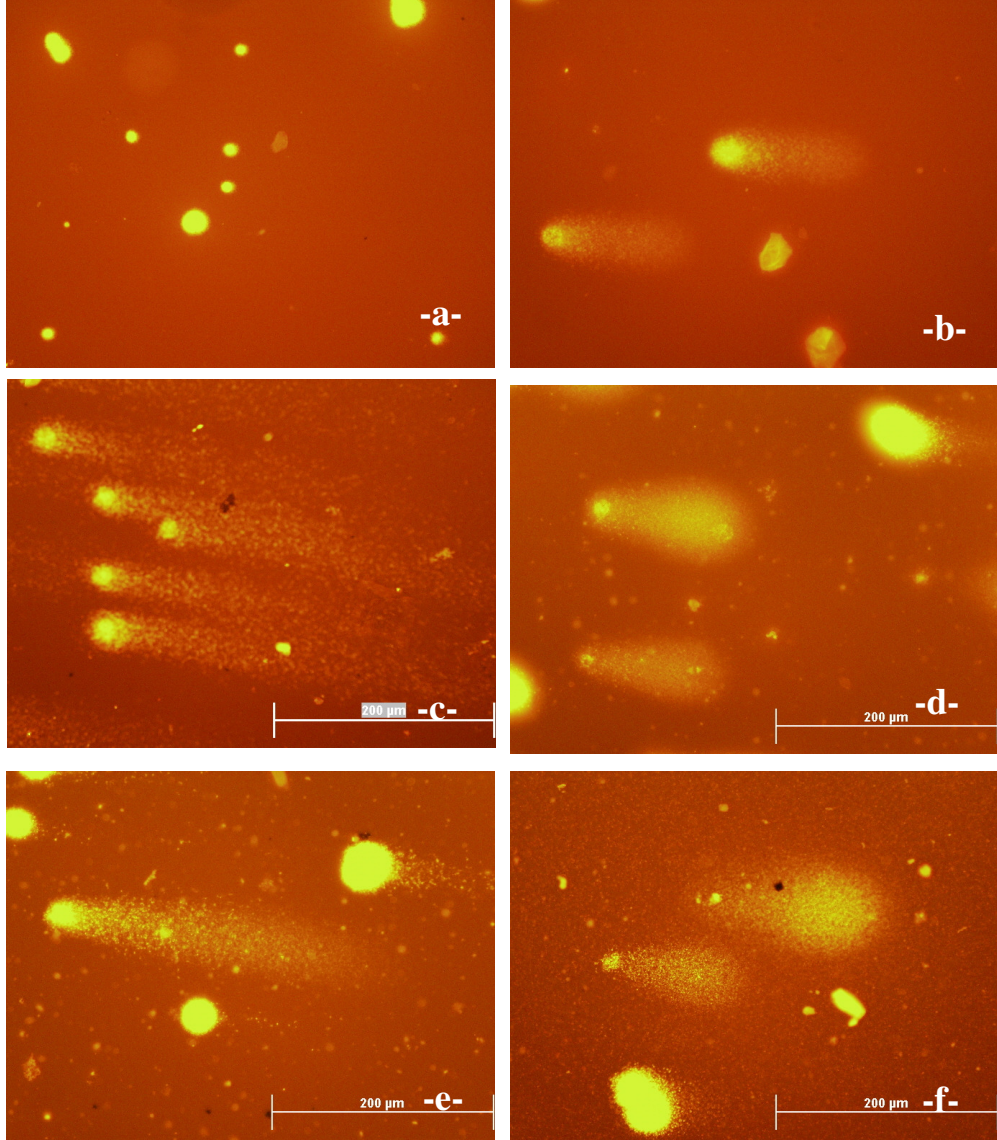
GHI: (Tip 1+ 2.Tip 2+ 3.Tip 3+ 4.Tip 4) / (Tip 0+ Tip 1+ Tip 2+ Tip 3+ Tip 4) (Pitarque *et al.*, 1999)

E. platyphyllos'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerine 72 saat süreyle uygulanması sonucunda ekstrelerin hücrelerde negatif (% 3,33) ve pozitif kontrol (% 5,33) gruplarına göre önemli derecede DNA hasarına neden olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdiği DNA hasarları özellikle yüksek uygulama konsantrasyonları olan 200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik ekstre uygulamalarında çok daha belirgin olmuştur (Çizelge 4.9). Özellikle metanol ekstresi ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstreler denenen bütün konsantrasyonlarda MCF-7 hücrelerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak % 50'nin üzerinde DNA hasarı oluşturmuşlardır. Hücreler üzerindeki benzer etkiyi dietil eter ekstresi 200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$ 'de, petrol eteri ekstresi ise 150, 200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonlarda yapmıştır. Konsantrasyon artışı ile birlikte hücrelerin büyük bir kısmının DNA'sı oldukça hasar görmüş ve genel olarak bakıldığında DNA hasar tipinin, Tip 4'de yoğunluk kazandığı ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.9). Denenen ekstreler arasında etil asetat ekstresi yine en yüksek uygulama konsantrasyonları olan 200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik uygulamalarda kontrol gruplarına göre önemli derecede DNA hasarı (Tip 3 ve Tip 4) meydana getirmesine rağmen, MCF-7 hücrelerinde meydana getirdiği DNA hasarı % 50'nin altında kalmıştır (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9). Denenen ekstreler MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarı bakımından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında sıralama; İnfüzyon \geq Metanol > Dekoksasyon > Petrol eteri > Dietil eter > Etil asetat şeklinde olmaktadır.



Şekil 4.9. *Euphorbia platyphyllos* L.'den elde edilen ekstre uygulamalarından sonra gözlenen hasarlı hücre değerleri (%)

Ekstre uygulamaları sonucunda elde edilen arbitrary unit (au) ve au kullanılarak hesaplanan genetik hasar indeksi (GHI) değerleri de özellikle 150, 200 ve 300 µg/ml'lik uygulamalarda ekstre konsantrasyonu artışına bağlı olarak meydana gelen DNA hasarı, özellikle de Tip 4 hasarın artışı ile doğru orantılı olarak artmıştır ($p < 0,05$). Elde edilen bu veriler hasarlı hücre %'sine ilişkin elde edilen verileri doğrular niteliktedir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9). au ve GHI değeri ne kadar büyükse, DNA hasarı seviyesi de o kadar yüksektir (Pitarque *et al.*, 1999). Buna göre denemeden elde edilen toplam hasarlı hücre yüzdesi ile buna paralel bir şekilde artan au ve GHI değerleri, *E. platyphyllos*'dan farklı yöntemlerle elde edilen ekstraların MCF-7 hücreleri üzerinde önemli derecede DNA hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 4.10. *Euphorbia platyphyllos* L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler: **a**-Normal (hasarsız) hücreler (kontrol); **b**-Tip 3 DNA hasarı; 300 µg/ml dietil eter ekstresi; **c**- Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml petrol eteri ekstresi); **d**- Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml metanol ekstresi; **e**- Tip 1 ve Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml infüzyon ekstresi; **f**- Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml dekoksiyon ekstresi (M.B.: 40X).

2-*Vitex agnus-castus* L. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri

V. agnus-castus dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksiyon) ekstrelerinin MCF-7 hücrelerinde neden olduğu DNA hasarlarına ilişkin farklı comet tiplerinin dağılımı, hasarlı hücre yüzdesi, arbitrary unit ve GHI değerleri, kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.10'da ve Comet yöntemiyle belirlenen DNA hasarlarına ait hasarsız DNA'dan (Tip 0), en hasarlı DNA (Tip 4)'ya kadar değişen DNA fluoresans mikroskop görüntüleri de Şekil 4.12 a-g'de yer almaktadır.

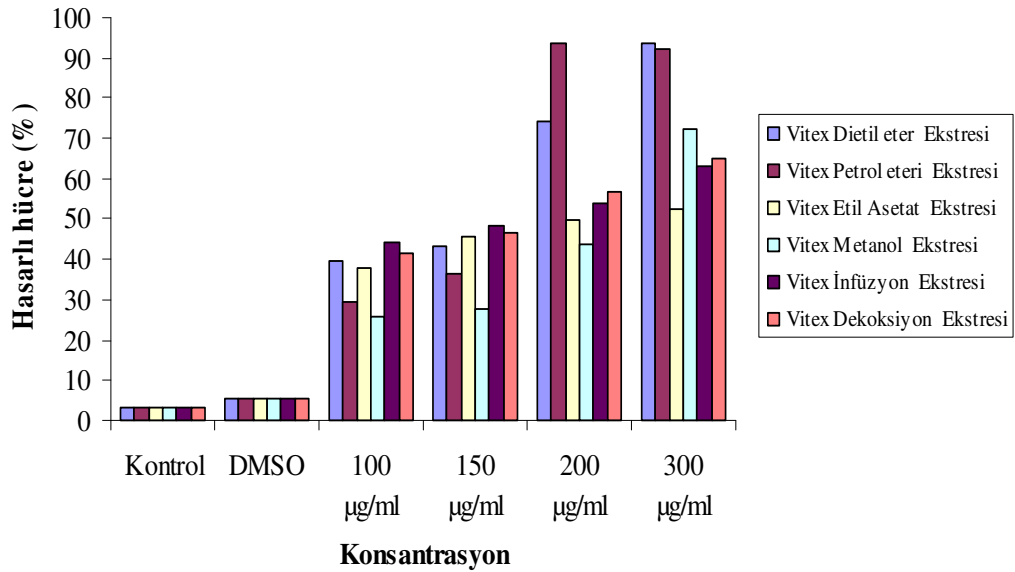
Çizelge 4. 10. *Vitex agnus-castus* L.'den elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri

Ekstre Tipi	Konsantrasyon	Toplam Hücre	DNA Hasar Tipleri (%)				Hasarlı Hücre (%) (Tip1+2+3+4) ± SD	Arbitrary Unit (au)	Genetik Hasar İndeksi (GHI)
			Tip 1	Tip 2	Tip 3	Tip 4			
Kontrol	0	300	1,00	1,33	---	1,00	3,33±0,012	30	0,10
DMSO	% 0,1'lik çözelti	300	1,33	0,33	1,67	2,00	5,33±0,010	46	0,15
Dietil eter	100 µg/ml	300	6,67	5,66	10,33	17,00	39,66±0,012*	351	1,17*
	150 µg/ml	300	6,00	7,00	11,67	18,66	43,33±0,012*	389	1,30*
	200 µg/ml	300	8,67	12,66	19,33	33,67	74,33±0,035*	680	2,27*
	300 µg/ml	300	12,67	14,00	23,33	43,67	93,67±0,031*	854	2,85*
Petrol eteri	100 µg/ml	300	4,33	6,00	9,67	9,67	29,67±0,015*	252	0,84*
	150 µg/ml	300	5,33	6,67	9,67	13,00	36,33±0,032*	312	1,04*
	200 µg/ml	300	7,00	9,00	13,00	61,33	90,33±0,031*	928	3,09*
	300 µg/ml	300	4,33	8,33	13,00	66,67	92,33±0,006*	980	3,27*
Etil asetat	100 µg/ml	300	2,67	5,67	8,00	21,33	37,66±0,015*	370	1,23*
	150 µg/ml	300	4,66	6,67	8,33	26,00	45,66±0,021*	441	1,47*
	200 µg/ml	300	3,67	7,33	9,00	29,00	50,00±0,030*	487	1,62*
	300 µg/ml	300	5,33	7,67	8,66	30,67	52,33±0,015*	504	1,68*
Metanol	100 µg/ml	300	7,33	4,67	12,00	1,66	25,66±0,006*	178	0,59*
	150 µg/ml	300	5,67	6,00	12,33	3,66	27,66±0,006*	208	0,69*
	200 µg/ml	300	3,67	8,33	14,67	17,33	44,00±0,010*	401	1,34*
	300 µg/ml	300	5,67	11,00	22,00	33,67	72,33±0,021*	685	2,28*
İnfüzyon	100 µg/ml	300	3,67	5,66	11,00	24,00	44,33±0,015*	426	1,42*
	150 µg/ml	300	3,33	5,33	12,67	27,00	48,33±0,015*	480	1,60*
	200 µg/ml	300	5,33	6,33	12,67	29,67	54,00±0,010*	524	1,75*
	300 µg/ml	300	5,67	7,67	14,66	35,00	63,00±0,020*	615	2,05*
Dekoksiyon	100 µg/ml	300	2,67	6,33	10,67	22,00	41,66±0,021*	406	1,35*
	150 µg/ml	300	2,33	7,33	12,33	24,33	46,33±0,023*	454	1,51*
	200 µg/ml	300	4,66	7,67	14,00	30,33	56,66±0,011*	550	1,83*
	300 µg/ml	300	6,33	8,33	15,33	35,00	65,00±0,017*	627	2,09*

p<0.05

GHI: (Tip 1+ 2.Tip 2+ 3.Tip 3+ 4.Tip 4) / (Tip 0+ Tip 1+ Tip 2+ Tip 3+ Tip 4) (Pitarque *et al.*, 1999)

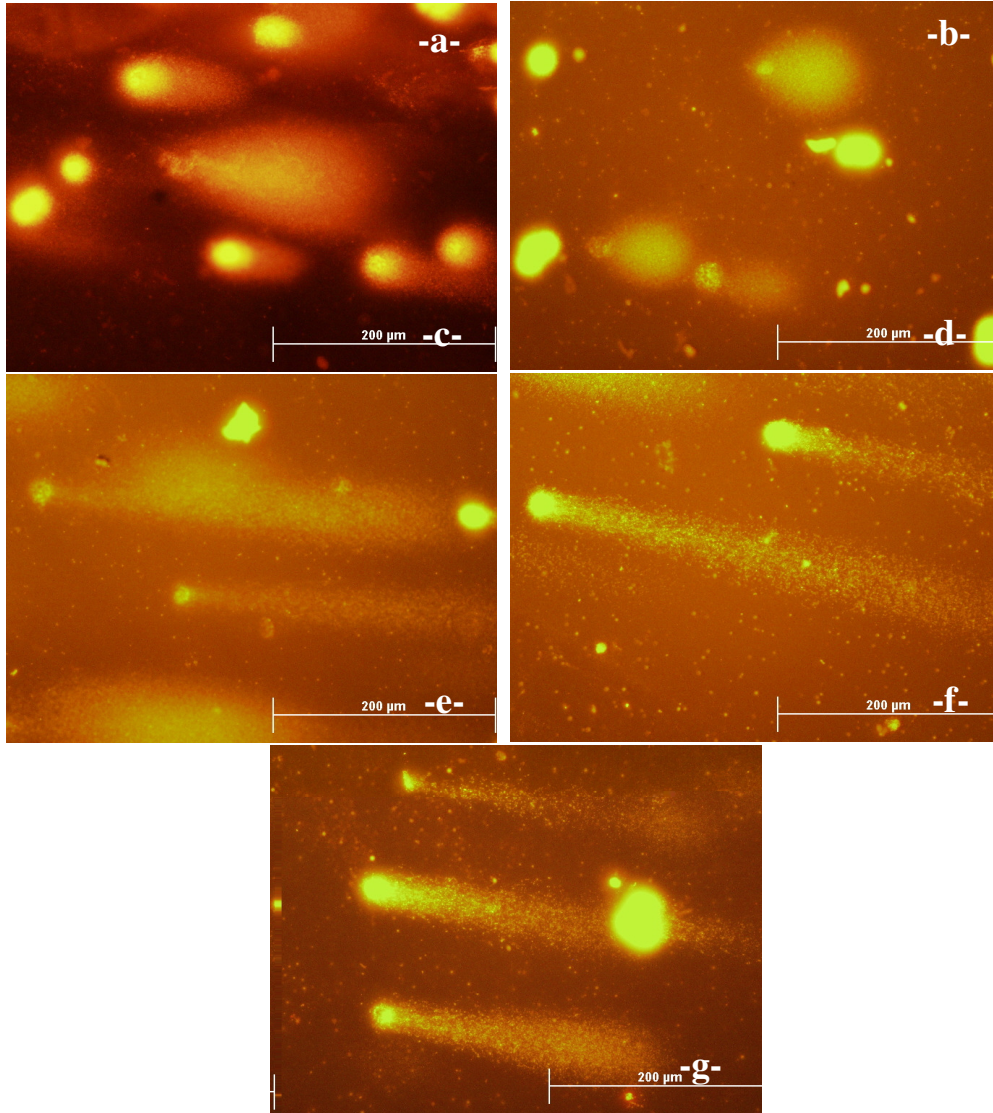
V. agnus-castus' dan elde edilen ekstrelerin 72 saatlik uygulamaları MCF-7 hücrelerinde negatif (% 3,33) ve pozitif kontrol (% 5,33) gruplarına göre önemli derecede DNA hasarına yol açmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.11). Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdiği DNA hasarları konsantrasyon artışı ile birlikte artmış ve özellikle 200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik ekstre uygulamalarında hasar % 50'nin üzerine çıkarak daha belirgin olmuştur. Metanol ekstresinin en yüksek konsantrasyon olan 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyonların uygulanması sonucunda DNA hasarı oranı % 50'nin altında kalmıştır (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.11). İstatistiki analizler ekstre konsantrasyonları ile DNA hasarları arasındaki ilişkinin istatistiki anlamda önemli olduğunu göstermiştir ($p<0,05$). Konsantrasyon artışı ile hücrelerin büyük bir kısmında DNA oldukça hasar görmüş ve en fazla görülen DNA hasar tipi de Tip 3 ve Tip 4 olmuştur (Çizelge 4.10).



Şekil 4.11. *Vitex agnus-castus* L.'den elde edilen ekstre uygulamalarından sonra gözlenen hasarlı hücre değerleri (%)

V. agnus-castus' dan elde edilen ekstreler MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarı bakımından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında; en fazla etkiyi petrol eteri ekstresinin gösterdiği ve bu ekstreyi sırası ile dietil eter, dekoksasyon, infüzyon, etil asetat ve metanol ekstrelerinin izlediği görülmüştür. Metanol ekstresi ise yine

bütün konsantrasyonlarda kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, hücrelerde DNA hasarı meydana getirmesine rağmen MCF-7 hücreleri üzerindeki genotoksik etkisi diğer ekstrele göre daha düşük olmuştur (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.11). Ekstre uygulamaları sonucunda elde edilen au ve GHI kullanılarak hesaplanan GHI değerleri de özellikle 150, 200 ve 300 µg/ml'lik uygulamalarda ekstre konsantrasyonu artışına paralel olarak meydana gelen DNA hasarı, özellikle de Tip 3 ve Tip 4 hasarın artışı ile doğru orantılı olarak artmıştır ($p < 0,05$). au ve GHI değerinin yüksek olması DNA hasarı seviyesinin de yüksek olması anlamına geldiği için (Pitarque *et al.*, 1999) elde edilen bu veriler hasarlı hücre %'sine ilişkin elde edilen verileri doğrular niteliktedir (Çizelge 4.10). Buna göre denemeden elde edilen toplam hasarlı hücre yüzdesi ile buna paralel bir şekilde artan au ve GHI değerleri, *V. agnus-castus*'dan farklı yöntemlerle elde edilen ekstrelerin ve özellikle de petrol eteri ve dietil eter ekstrelerinin MCF-7 hücreleri üzerinde önemli derecede DNA hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 4.12. *Vitex agnus-castus* L.'den elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler. **a-** Normal (hasarsız) hücreler (kontrol); **b-** Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml dietil eter ekstresi; **c-** Tip 2, Tip 3, Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml petrol eteri ekstresi ; **d-** Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml etil asetat ekstresi; **e-** Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml metanol ekstresi; **f-** Tip 3 DNA hasarı; 300 µg/ml infüzyon ekstresi; **g-** Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml deoksijon ekstresi (M.B.: 40X).

3-*Dracunculus vulgaris* Schott. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri

D. vulgaris etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstrelerinin MCF-7 hücrelerinde neden olduğu DNA hasarlarına ilişkin farklı comet tiplerinin dağılımı, hasarlı hücre yüzdesi, arbitrary unit ve GHI değerleri, kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.11'de ve Comet yöntemiyle belirlenen DNA hasarlarına ait hasarsız DNA'dan (Tip 0), en hasarlı DNA (Tip 4)'ya kadar değişen DNA floresans mikroskop görüntüleri de Şekil 4.14 a-e'de yer almaktadır.

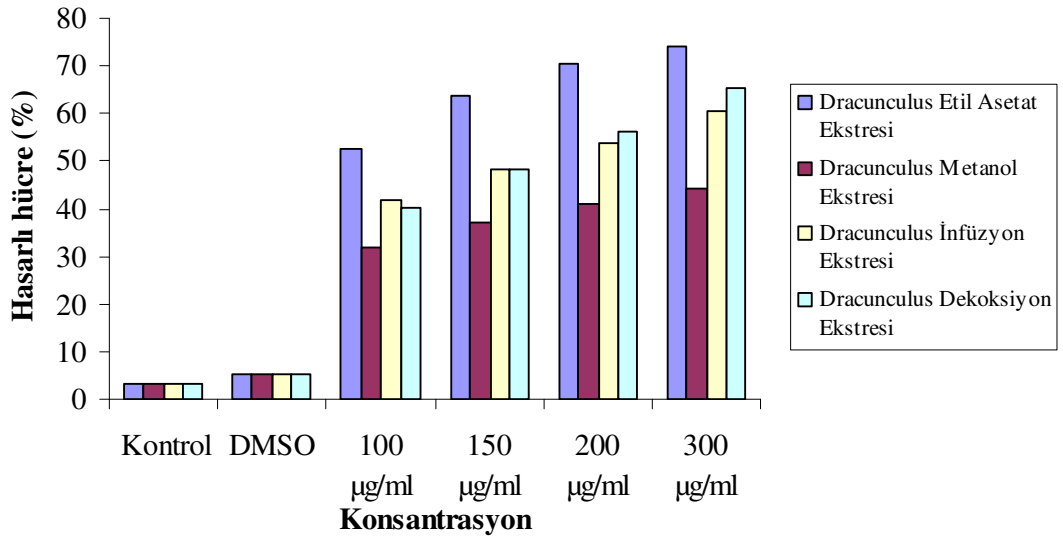
Çizelge 4. 11. *Dracunculus vulgaris* Schott.'dan elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri

Ekstre Tipi	Konsantrasyon	Toplam Hücre	DNA Hasar Tipleri (%)				Hasarlı Hücre (%) (Tip1+2+3+4) ± SD	Arbitrary Unit (au)	Genetik Hasar İndeksi (GHI)
			Tip 1	Tip 2	Tip 3	Tip 4			
Kontrol	0	300	1,00	1,33	---	1,00	3,33±0,012	30	0,10
DMSO	% 0,1'lik çözelti	300	1,33	0,33	1,67	2,00	5,33±0,010	46	0,15
Etil asetat	100 µg/ml	300	11,00	17,33	14,33	10,00	52,66±0,025*	386	1,29*
	150 µg/ml	300	12,00	17,33	18,67	15,66	63,66±0,040*	496	1,65*
	200 µg/ml	300	9,33	20,67	20,33	20,00	70,33±0,015*	575	1,92*
	300 µg/ml	300	7,67	19,33	22,67	24,33	74,00±0,010*	635	2,12*
Metanol	100 µg/ml	300	5,67	8,66	9,67	7,66	31,66±0,012*	225	0,75*
	150 µg/ml	300	7,33	9,00	11,00	9,67	37,00±0,020*	291	0,97*
	200 µg/ml	300	5,33	10,00	12,33	13,33	41,00±0,020*	347	1,16*
	300 µg/ml	300	4,33	10,67	13,67	15,66	44,33±0,021*	388	1,29*
İnfüzyon	100 µg/ml	300	9,00	10,33	9,67	12,66	41,66±0,006*	328	1,09*
	150 µg/ml	300	11,00	11,00	12,00	14,00	48,00±0,010*	378	1,26*
	200 µg/ml	300	11,00	10,33	12,67	19,66	53,66±0,015*	445	1,48*
	300 µg/ml	300	8,33	10,67	14,66	27,00	60,66±0,032*	545	1,82*
Dekoksasyon	100 µg/ml	300	8,67	9,33	10,00	12,33	40,33±0,015*	320	1,07*
	150 µg/ml	300	11,00	10,67	12,00	14,00	48,00±0,010*	373	1,24*
	200 µg/ml	300	11,33	11,00	13,33	20,33	56,00±0,010*	464	1,55*
	300 µg/ml	300	9,00	11,67	15,33	29,33	65,33±0,021*	587	1,96*

*p<0.05

GHI: (Tip 1+ 2.Tip 2+ 3.Tip 3+ 4.Tip 4) / (Tip 0+ Tip 1+ Tip 2+ Tip 3+ Tip 4) (Pitarque *et al.*, 1999)

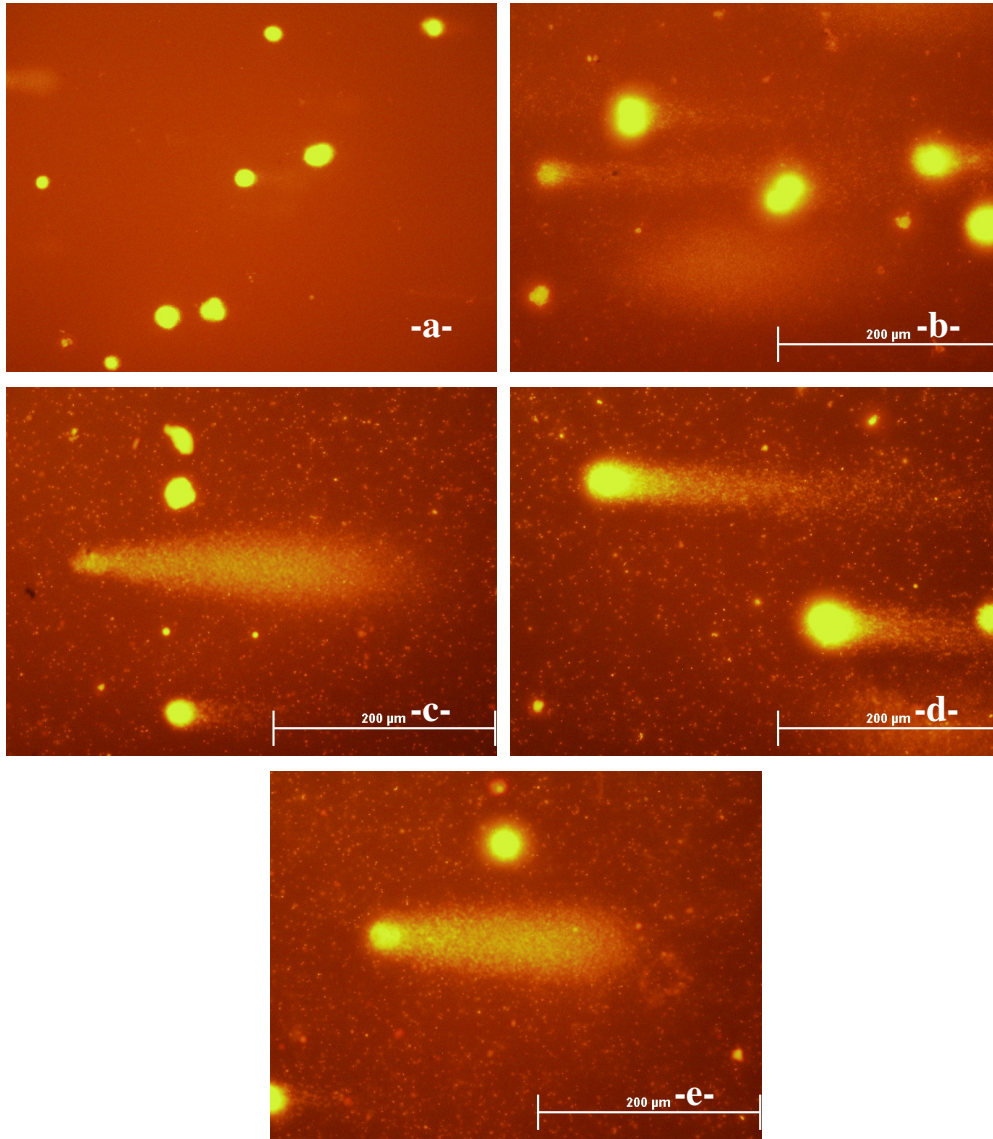
D. vulgaris' den elde edilen ekstreler de 72 saatlik uygulama sonucunda negatif (% 3,33) ve pozitif kontrol (% 5,33) grupları ile karşılaştırıldığında MCF-7 hücrelerinde DNA hasarına neden olmuştur ($p<0,05$). Denenen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdiği DNA hasarları konsantrasyon artışına bağlı olarak artmış; etil asetat ekstresinin bütün konsantrasyonları, infüzyon ve dekoksasyon ekstrelerinin ise 200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonları MCF-7 hücrelerinde % 50'den fazla DNA hasarı meydana getirmiştir. Metanol ekstresinin bütün konsantrasyonlarında ise meydana gelen DNA hasarı kontrol gruplarına göre istatistikî olarak önemli ($p<0,05$) olmasına rağmen, oluşan DNA hasarı % 50'nin altında kalmıştır (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.13). MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipi etil asetat ve metanol ekstrelerinde Tip 2, Tip 3 ve Tip 4'de birbirine yakın oranlarda dağılım gösterirken, sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstrelerde hasar, Tip 4' de daha fazla yoğunlaşmıştır (Çizelge 4.11).



Şekil 4.13. *Dracunculus vulgaris* Schott.'dan elde edilen ekstre uygulamalarından sonra MCF-7 hücrelerinde meydana gelen hasarlı hücre değerleri (%)

D. vulgaris' den elde edilen ekstreler MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarı bakımından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında sıralama Etil asetat > Dekoksasyon > İnfüzyon > Metanol şeklinde olmaktadır.

Ekstre uygulamaları sonucunda elde edilen au ve GHI değerleri de özellikle 150, 200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik uygulamalarda ekstre konsantrasyonu artışına paralel artış gösteren DNA hasarı, özellikle de Tip 3 ve Tip 4 hasarlar ile doğru orantılı olarak artmış ($p<0,05$) ve elde edilen bu veriler hasarlı hücre %'sine ilişkin elde edilen verileri doğrular nitelikte olmuştur (izelge 4.11 ve şekil 4.13). au ve GHI değeri ne kadar büyükse, DNA hasarı seviyesi de o kadar yüksektir (Pitarque *et al.*, 1999). Buna göre denemeden elde edilen toplam hasarlı hücre yüzdesi ile buna paralel bir şekilde artan au ve GHI' ye ilişkin bulgular, *D. vulgaris*' den farklı yöntemlerle elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerinde kontrol gruplarına göre önemli derecede DNA hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 4.14. *Dracunculus vulgaris* Schott.'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler. **a-** Normal (hasarsız) hücreler (kontrol); **b-** Tip 1 ve Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml etil asetat ekstresi; **c-** Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml metanol ekstresi; **d-** Tip 2 ve Tip 3 DNA hasarı; 300 µg/ml infüzyon ekstresi; **e-** Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml deoksijen ekstresi (M.B.: 40X).

4-*Asphodelus aestivus* Brot. Bitkisinden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Hücrelerinin Genetik Materyali Üzerindeki Etkileri

A. aestivus dietil eter, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstrelerinin MCF-7 hücrelerinde neden olduğu DNA hasarlarına ilişkin farklı comet tiplerinin dağılımı, hasarlı hücre yüzdesi, arbitrary unit ve GHI değerleri, kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.12’de ve Comet yöntemiyle belirlenen DNA hasarlarına ait hasarsız DNA’dan (Tip 0), en hasarlı DNA (Tip 4)’ya kadar değişen DNA fluoresans mikroskop görüntüleri de Şekil 4.16 a-f’de yer almaktadır.

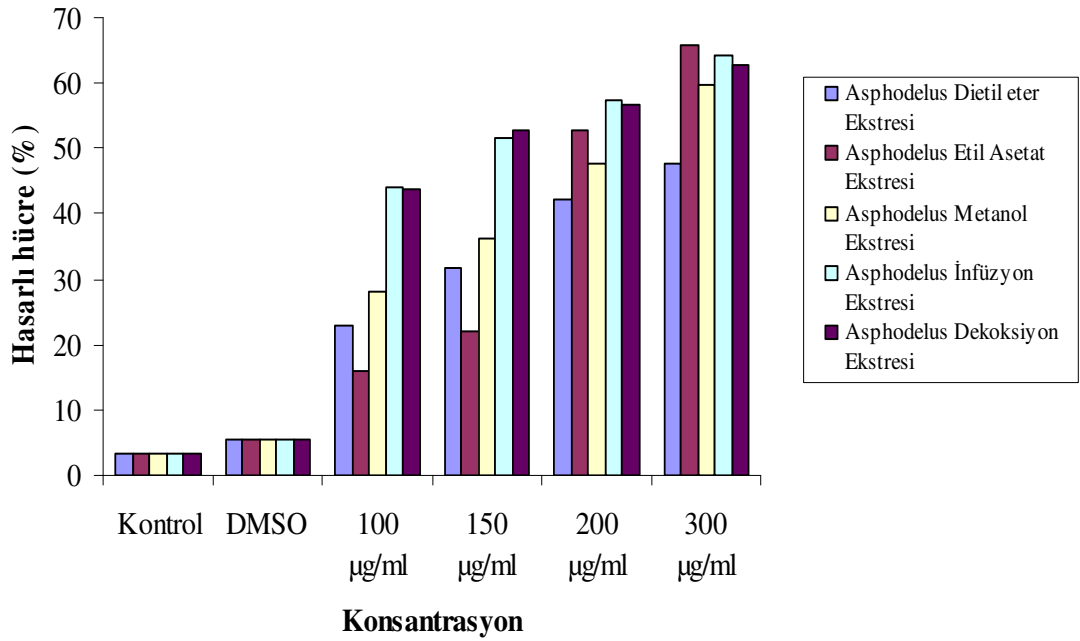
Çizelge 4. 12. *Asphodelus aestivus* Brot.'dan elde edilen ekstre uygulamaları sonucunda MCF-7 hücrelerinde gözlenen DNA hasar tipleri ile arbitrary unit ve genetik hasar indeksi değerleri

Ekstre Tipi	Konsantrasyon	Toplam Hücre	DNA Hasar Tipleri (%)				Hasarlı Hücre (%) (Tip1+2+3+4) ± SD	Arbitrary Unit (au)	Genetik Hasar İndeksi (GHI)
			Tip 1	Tip 2	Tip 3	Tip 4			
Kontrol	0	300	1,00	1,33	---	1,00	3,33±0,012	30	0,10
DMSO	% 0,1'lik çözelti	300	1,33	0,33	1,67	2,00	5,33±0,010	46	0,15
Dietil eter	100 µg/ml	300	5,33	4,67	5,00	8,00	23,00±0,000*	185	0,62*
	150 µg/ml	300	5,33	6,33	8,67	11,33	31,66±0,021*	268	0,89*
	200 µg/ml	300	7,33	7,67	11,00	16,33	42,33±0,023*	363	1,21*
	300 µg/ml	300	6,33	8,00	13,00	20,33	47,66±0,025*	428	1,43*
Etil asetat	100 µg/ml	300	4,67	3,67	3,33	4,33	16,00±0,017	118	0,39
	150 µg/ml	300	7,00	6,33	3,67	5,00	22,00±0,036*	152	0,51*
	200 µg/ml	300	3,67	8,33	16,33	24,33	52,66±0,015*	500	1,67*
	300 µg/ml	300	3,00	3,66	20,67	38,33	65,66±0,025*	677	2,26*
Metanol	100 µg/ml	300	8,00	8,67	6,00	9,33	28,00±0,046*	242	0,81*
	150 µg/ml	300	7,33	9,33	9,00	10,67	36,33±0,021*	287	0,96*
	200 µg/ml	300	9,33	10,00	11,00	17,33	47,66±0,032*	395	1,32*
	300 µg/ml	300	11,33	9,67	13,66	25,00	59,66±0,025*	515	1,72*
İnfüzyon	100 µg/ml	300	8,67	9,00	11,00	15,33	44,00±0,006*	363	1,21*
	150 µg/ml	300	13,00	10,67	11,33	16,66	51,66±0,012*	405	1,35*
	200 µg/ml	300	15,67	11,67	12,66	17,33	57,33±0,006*	439	1,46*
	300 µg/ml	300	16,67	13,00	15,33	19,33	64,33±0,012*	498	1,66*
Dekoksiyon	100 µg/ml	300	8,33	9,33	11,33	14,67	43,66±0,015*	359	1,20*
	150 µg/ml	300	12,33	11,00	12,33	17,00	52,66±0,031*	418	1,39*
	200 µg/ml	300	15,00	11,00	12,33	18,00	56,33±0,006*	438	1,46*
	300 µg/ml	300	17,33	11,67	13,00	20,66	62,66±0,012*	487	1,62*

*p<0.05

GHI: (Tip 1+ 2.Tip 2+ 3.Tip 3+ 4.Tip 4) / (Tip 0+ Tip 1+ Tip 2+ Tip 3+ Tip 4) (Pitarque *et al.*, 1999)

A. aestivus' dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerine 72 saat süreyle uygulanması sonucunda diğer bitkilerden elde edilen ekstrelerden elde edilen sonuçlara benzer şekilde, negatif (% 3,33) ve pozitif kontrol (% 5,33) gruplarına göre DNA hasarına neden olmuştur ($p < 0,05$). Denenen ekstreler içinde dietil eter ekstresi uygulaması ve metanol ekstresinin en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik uygulaması hariç, DNA hasarı % 50'nin altında kalmıştır. Diğer ekstre uygulamalarında ise, yüksek uygulama konsantrasyonları (200 ve 300 $\mu\text{g/ml}$) ile MCF-7 hücrelerinde oluşan DNA hasarları % 50'nin üzerine çıkarak daha belirgin hale gelmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.15). Konsantrasyon artışı ile artan DNA hasarı genel olarak bakıldığında da en fazla Tip 3 ve Tip 4 şeklindeki hasarlarda yoğunlaşmıştır (Çizelge 4.12).

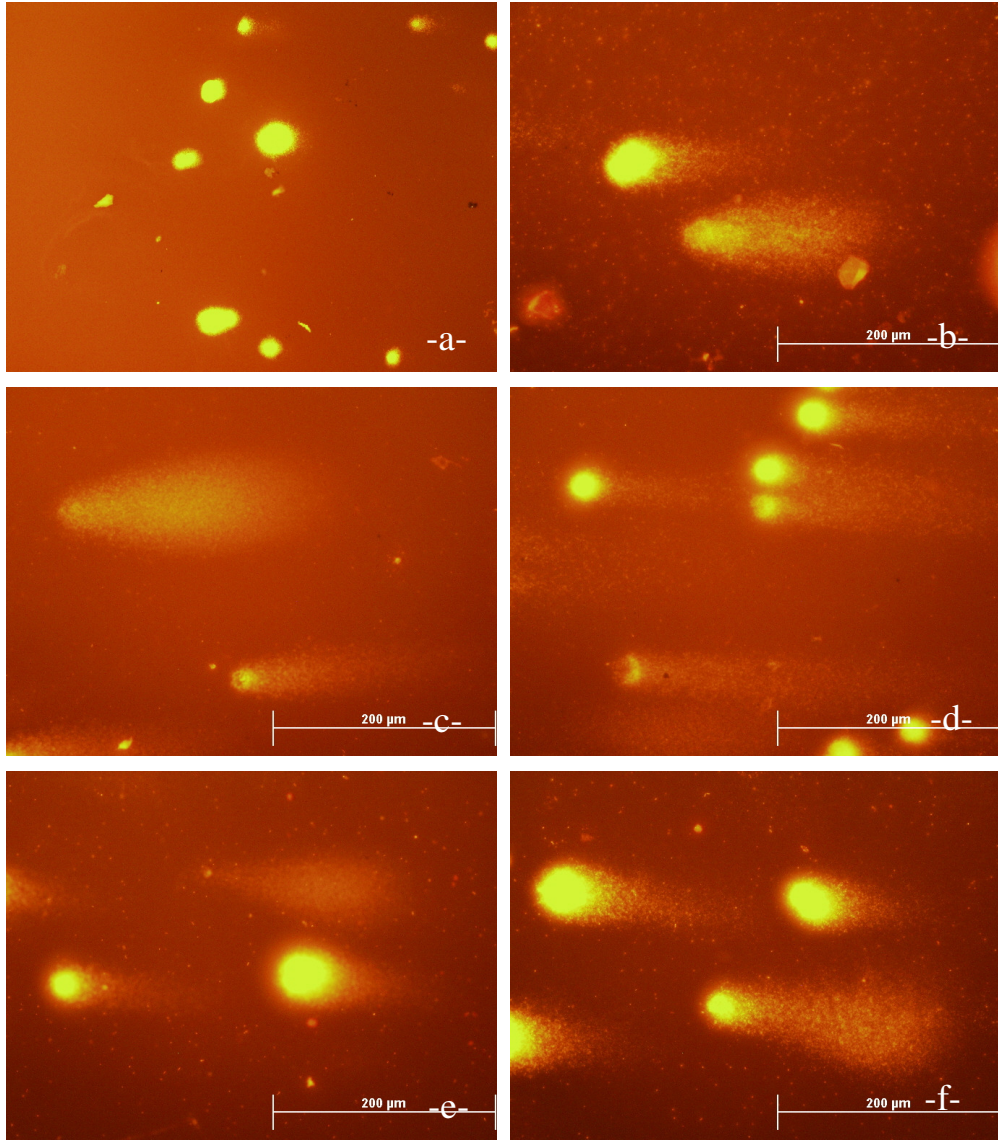


Şekil 4.15. *Asphodelus aestivus* Brot.' dan elde edilen ekstre uygulamalarından sonra MCF-7 hücrelerinde meydana gelen hasarlı hücre değerleri (%)

A. aestivus' dan elde edilen ekstreler MCF-7 hücrelerinde oluşturdukları DNA hasarı bakımından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında en etkiliden daha az etkiliye

doğru ; İnfüzyon >Dekoksiyon > Etil asetat > Metanol > Dietil Eter şeklinde sıralanmaktadır.

Ekstre uygulamaları sonucunda elde edilen au ve GHI değerleri de özellikle 150 µg/ml'lik uygulamalardan itibaren konsantrasyon artışına paralel olarak meydana gelen DNA hasarı, özellikle de Tip 3 ve Tip 4 DNA hasarının artışı ile doğru orantılı olarak artmıştır (p<0,05). au ve GHI değerinin yüksek olması DNA hasarı seviyesinin de yüksek olması anlamına geldiği için (Pitarque *et al.*, 1999) elde edilen bu veriler, hasarlı hücre %'sine ilişkin elde edilen verileri doğrular niteliktedir (Çizelge 4.15). Denemeden elde edilen toplam hasarlı hücre yüzdesi ile buna paralel bir şekilde artan au ve GHI değerlerine ilişkin veriler, *A. aestivus*' dan farklı yöntemlerle elde edilen ekstrelerin de MCF-7 hücreleri üzerinde DNA hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 4.16. *Asphodelus aestivus* Brot.'dan elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarlarına ilişkin örnekler. **a-** Normal (hasarsız) hücreler (kontrol); **b-** Tip 2 ve Tip 4DNA hasarı; 300 µg/ml dietil eter ekstresi; **c-** Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml etil asetat ekstresi; **d-** Tip 3 ve Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml metanol ekstresi; **e-** Tip 2 ve Tip 4 DNA hasarı; 300 µg/ml infüzyon ekstresi; **f-** Tip 2 ve Tip 3 DNA hasarı; 300 µg/ml dekoksiyon ekstresi (M.B.: 40X).

Tez çalışması kapsamında MCF-7 hücrelerinin genetik materyali (DNA) üzerindeki etkisi denen 4 farklı bitki kendi arasında karşılaştırıldığında; en yüksek etkiyi *E. platyphyllos*' dan elde edilen ekstrelerin gösterdiği ortaya çıkmıştır. *E. platyphyllos*'u sırası ile *V. agnus-castus*, *D. vulgaris* ve *A. aestivus* izlemiştir.

Bitkilerden elde edilen bütün ekstreler MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri hasarlar bakımından karşılaştırıldığında, en etkili ekstrenin sulu (infüzyon ve dekoksiyon) ekstreler olduğu; bu ekstreleri sırası ile metanol, etil asetat, dietil eter ve petrol eteri ekstrelerinin izlediği görülmüştür.

V- TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Aydın Yöresi'nde halk tarafından çeşitli amaçlarla kullanılan 4 farklı tıbbi bitki türünün (*Euphorbia platyphyllos* L., *Vitex agnus-castus* L., *Dracunculus vulgaris* Schott., *Asphodelus aestivus* Brot.) farklı kısımlarından elde edilen dietil eter, petrol eteri, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstralarının farklı konsantrasyonlarının antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ölçülerek ve ayrıca MCF-7 insan meme metastatik karsinoma hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi Trypan Blue Exclusion Yöntemi ile ve farklı ekstraların MCF-7 hücrelerinin genetik materyali üzerindeki genotoksik etkisi de Alkali comet yöntemi (Comet Assay, tek hücre jel elektroforezi) ile araştırılmıştır.

Bitkisel ekstraların DPPH radikal süpürücü aktivitesini etkileyen en önemli faktörlerden biri, ekstre içerisinde DPPH radikali ile reaksiyona girerek bu radikale proton (hidrojen atomu) verme yeteneğine sahip olan bileşiklerin bulunmasıdır. Ancak, Heinonen ve ark. (1998) bitkisel ekstralarda bulunan aktif bileşenlerin kompozisyonu ve yapısının doğal antioksidanların etkinliğini belirlemede önemli faktörler olduğunu, bu nedenle bir ekstrenin antioksidan etkisinin yalnızca fenolik içeriğe dayanılarak açıklanamayacağını, aynı zamanda bu bileşiklerin yapılarının ve kimyasal özelliklerinin de belirlenmesi gerektiğini bildirmiştir

Bitkisel ekstraların DPPH radikal süpürücü aktivitesini etkileyen en önemli faktörlerden, ikincisi ise, kullanılan çözücünün polaritesidir. Dielektrik sabiti, çözücü polaritesini yaklaşık olarak veren bir niceliktir ve çözücünün zıt yükleri birbirinden ayırma yeteneğinin bir ölçüsüdür (Jensen, 2009). Tez çalışması kapsamında kullanılan bitkilerden ekstraların elde edilmesinde kullanılan çözücülerin dielektrik sabitlerine bakıldığında etil asetat (6,0), metanol (32,6) ve suyun (80,0) polar çözücüler olduğu; buna karşın dietil eter (4,191) ve petrol eterinin(2,22) ise; apolar (polar olmayan) çözücüler olduğu görülmektedir. Etil asetat polar bir çözücü olmasına rağmen, etil asetatın polaritesi metanole, metanolün polaritesi de suya göre daha düşüktür. Bu çözücülerin normal koşullarda (25°C'de ve 1 atmosfer basınçta) polarite indeksleri etil asetat için 4,4; metanol için 5,1 ve su için 10,2'dir. Dolayısıyla

metanol orta derecedeki polar bileşikleri çözebilirken, su yüksek seviyede polar bileşikleri çözebilmektedir. Çözücü ve çözünenin birbiri içinde homojen olarak karışması ile çözünme olayı gerçekleşir. Çözünme, moleküller arasındaki çekim kuvvetine dayanır. Bir çözücünün bir maddeyi çözebilmesi için; çözücü ile çözünen molekülleri arasındaki çekim kuvvetlerinin, çözücü ve çözünenin kendi molekülleri arasındaki çekim kuvvetinden daha büyük olması gerekir. Genellikle çözünme olayı, çözücü ile çözünenin benzer yapıda olmaları ile gerçekleşir. Bu durum benzer benzeri çözer şeklinde ifade edilebilir. Dolayısıyla polar çözücüler polar maddeleri, polar olmayan çözücüler de polar olmayan maddeleri daha iyi çözer (Jensen, 2009). Bu bilgiden yola çıkarak, denenen bitkilerden elde edilen dietil eter ve petrol eteri ekstralarının apolar bileşikleri; etil asetat, metanol ve sulu ekstraların ise polar bileşikleri içerdiği düşünülmektedir. Su, yüksek kaynama noktasına, yüksek dielektrik sabitine ve polariteye sahip olması nedeni ile özel bir çözücüdür. Suyun normal koşullarda oldukça yüksek olan dielektrik sabiti ve polaritesi, yüksek sıcaklık ve basınçta oldukça düşmektedir ve ekstraksiyon işleminde etanol, aseton, metanol gibi davranabilmektedir. Bu sayede su oda sıcaklığında polaritesi yüksek olan bileşenleri çözebilirken, sıcaklık ve basınç arttığında orta polar-düşük polar bileşenlerin ekstraksiyonu için organik çözücüler yerine kullanılabilir (Çam ve Hışıl, 2006). Denemede kullanılan bitkilerden sulu ekstraların iki farklı şekilde elde edildiği göz önüne alınırsa, infüzyon (demleme) yöntemi ile elde edilen ekstraların orta polar-düşük polar bileşikleri içerdiği; buna karşın dekoksasyon (kaynatma) yöntemi ile elde edilen ekstraların hem yüksek, hem de orta ve düşük polar bileşikleri içerdiği söylenebilir. Bitkilerden farklı yöntemlerle elde edilen ekstraların çözücü özelliklerine göre farklı bileşikler içermesi, ekstraların DPPH üzerinden serbest radikali süpürücü aktivitelerinin birbirinden farklı olmasına ve polar çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraların, polar olmayan çözücüler kullanılarak elde edilen ekstralardan çok daha yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite göstermesine neden olabilmektedir (Miliauskas *et al.*, 2004; Vundać *et al.*, 2007).

Halk arasında sütleğen olarak bilinen haricen siğillerin yok edilmesinde, egzama hastalıklarında bitkinin özsuyu kaşınan yerlere sürülerek ve romatizmal hastalıklarda

ağrı kesici olarak kullanılan (Baytop, 1999; Anonim, 2006) *E. platyphyllos*'dan tam bitki kullanılarak elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan dietil eter ve petrol eteri ekstralarının DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin rutine göre oldukça düşük olduğu, etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstralarının serbest radikal süpürücü aktivitelerinin ise oldukça yüksek olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1.g). Özellikle bazı ekstraların bazı konsantrasyonlarının (etil asetat, 10 ve 300 µg/ml hariç; metanol, 25, 100, 150 ve 300 µg/ml ve infüzyon, 50 µg/ml) DPPH radikal süpürücü aktivitesinin standart antioksidan olarak kullanılan rutinden (sırası ile % 89,38 ve %89,90) bile yüksek olduğu bulunmuştur Yapılan içerik analizleri sonucunda farklı *Euphorbia* türlerinin quercetin, jatrophone diterpen, jatrophone polyester, tigliane diterpen, cycloartane-tipi triterpen ve 13 adet triterpen içerdiği ortaya konmuştur (Hohmann *et al.*, 2003; Haba *et al.*, 2007; Chaabi *et al.*, 2007; Lu *et al.*,2008). Denememizde kullanılan söz konusu ekstraların yüksek seviyede DPPH serbest radikal süpürücü aktivite göstermesi, bitkinin içerdiği biyoaktif bileşikler, özellikle de terpenlerin oldukça kuvvetli antioksidan aktivite göstermesi nedeni ile ortaya çıkmış olabilir. Sonuçlarımız farklı bitkilerin ekstraları kullanılarak yapılan antioksidan çalışmalarından elde edilen sonuçlara benzerlik göstermektedir (Tominaga *et al.*, 2005; Miliaouskas *et al.*, 2004; Vundać *et al.*, 2007; Jayaprakasha *et al.*, 2008).

E. platyphyllos'dan tam bitki kullanılarak elde edilen ekstraların 24 ve 72 saat süre ile MCF-7 hücreleri üzerine uygulandığında ortaya çıkan in vitro sitotoksik etki, ekstraların kendi aralarında ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; gerek konsantrasyon gerekse uygulama süresine bağlı olarak sulu ekstraların (dekoksasyon ve infüzyon) in vitro sitotoksik etkisinin, diğer ekstralara göre daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5.h). Bu bitkiden elde edilen ekstralar, MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdikleri in vitro sitotoksik etki bakımından kendi aralarında karşılaştırıldığında sıralama; Dekoksasyon > İnfüzyon > Etil Asetat > Metanol > Petrol Eteri > Dietil Eter ekstresi şeklinde olmuştur. *E. platyphyllos*'dan elde edilen ekstraların sitotoksik etkisinin, petrol eteri ekstresi hariç, DPPH serbest radikal süpürücü aktiviteleriyle paralellik gösterdiği görülmektedir. Dietil eter ekstresi uygulanan bütün konsantrasyonlarda MCF-7 hücrelerinin canlılığını kontrol

gruplarına göre azaltmış olsa da, bu etki, bitkiden elde edilen diğer ekstrelelere göre oldukça düşük olmuştur (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.5). Bu durum, bitkiden elde edilen dietil eter ekstresi içerisinde bulunan bileşiklerin serbest radikal süpürücü ve sitotoksik etki bakımından kayda değer bir etkinliğinin bulunmadığını göstermektedir. Bitkiden elde edilen petrol eteri ekstresi ise düşük DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi göstermesine karşın, MCF-7 hücreleri üzerinde oldukça yüksek sitotoksik etki göstermiştir. Etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstralarının ise hem DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesinin hem de konsantrasyon ve uygulama süresi artışına bağlı olarak MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisinin yüksek seviyede olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.5). Bu etkinin etil asetat, metanol ve sulu ekstraların içeriğinde bulunan ve serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip polar yapıdaki fenolik bileşiklerin, aynı zamanda MCF-7 hücreleri üzerinde de sitotoksik etkiye yol açması ile ortaya çıktığı söylenebilir. Tıbbi bitkilerden elde edilen ekstraların içinde bulunan fenolik bileşikler, bitkinin antioksidan aktivitesini büyük ölçüde etkilemesine rağmen, fenolik bileşiklerin hepsi her zaman antioksidan aktivite göstermeyebilirler (Djeridane *et al.*, 2007). Bununla birlikte, flavonoidler gibi fenolik bileşiklerin çeşitli kanser hücre dizinleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği ve apoptozise yol açtığı da bilinmektedir (Hadi *et al.*, 2000; Mukhtar *et al.*, 1988). *Euphorbia*'nın farklı türleri ile daha önce yapılan çalışmalar, özellikle etanol ve sulu ekstraların çeşitli kanser hücre dizinlerinde hücre canlılığını doza bağlı olarak azalttığı (sitotoksik etki) fakat bu etkinin farklı türlerde farklı seviyelerde olduğu (Whelan and Ryan, 2003) bildirilmiştir. Ayrıca, *E. tirucalli* L.'nin kurutulmuş toprak üstü kısmından elde edilen etanol:su (9:1v/v) ekstresinin 125, 250 ve 500 mg/kg'lık konsantrasyonlarının 5 gün süreyle Ehrlich ascites tümörlü erkek Balb/c farelerine gavaj yoluyla uygulanmasının, tümör büyümesini azaltarak farelerin yaşam süresini ekstre uygulaması yapılmayan hasta farelere göre uzattığı ortaya konmuştur (Valadares *et al.*, 2006). Madagaskar'da halk arasında kronik bronşit, astım gibi solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılan ve buraya özgü endemik bir tür olan *E. stenoclada*'dan elde edilen etanol ekstresinin insan bronş düz kas hücreleri (HSMC) üzerindeki anti-proliferatif etkisinin araştırıldığı çalışma sonucunda, ekstrenin hücrelerin çoğalmasını inhibe ettiği ve bu etkinin ekstrenin içeriğinde

bulunan quercetin nedeni ile ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Chaabi *et al.*, 2007). Baloch ve ark (2008) *E. cornigera* köklerinden izole ettikleri 9 adet yeni ve 2 adet bilinen kimyasal bileşiğin insan KB (insan nasofarinks karsinoma) hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesini Trypan Blue Exclusion ve MTT assay kullanarak araştırmışlardır. Sonuçta izole edilen bileşiklerin KB hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğunu ve sitotoksik etki derecesinin bileşiğin yapısı ve lipofilik özelliğiyle ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. *E. esula* etanol ekstresinden izole edilen 17 adet ingenane türevi diterpenoid ve 4 adet cycloartane triterpenoid bileşiğin insan HeLa servikal kanser hücre dizini üzerindeki sitotoksik etkisinin MTT assay ile araştırıldığı çalışma sonucunda, başlangıçtaki ham ekstre orta derecede sitotoksik etkiye sahip olmasına karşın; bileşiklerden bazıları tek tek denendiğinde sitotoksik etkinin daha zayıf olduğu ortaya konmuştur (Lu *et al.*,2008).

E. platyphyllos'dan tam bitki kullanılarak elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerinde oluşturduğu sitotoksik etkiden başka, bu bitkiden elde edilen bütün ekstrelerin MCF-7 hücrelerine 72 saat süreyle uygulandıktan sonra hücrelerde önemli derecede DNA hasarına neden olduğunu da ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.9). Özellikle metanol ekstresi ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstreler denenilen bütün konsantrasyonlarda MCF-7 hücrelerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak % 50'nin üzerinde DNA hasarı oluşturmuşlardır. Hücreler üzerindeki benzer etkiyi dietil eter ekstresi 200 ve 300 µg/ml'de, petrol eteri ekstresi ise 150, 200 ve 300 µg/ml'lik konsantrasyonlarda yapmıştır. Konsantrasyon artışı ile birlikte hücrelerin büyük bir kısmının DNA'sı oldukça hasar görmüş ve genel olarak bakıldığında DNA hasar tipinin, Tip 4'de yoğunluk kazandığı ortaya çıkmıştır. Etil asetat ekstresi ise 72 saatlik uygulamalarda 24 saatlik uygulamadan daha yüksek seviyede sitotoksik etki göstermesine rağmen, DNA hasarı oluşturucu etkisi (genotoksik etki) sitotoksik etkisinden daha düşük seviyede olmuştur. Bitkiden elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde DNA hasarı oluşturucu etkisi ile sitotoksik etkileri arasında benzerlik de bulunmuştur (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.9). Ortaya çıkan bu durum, MCF-7 hücrelerine uygulanan ekstrelerin içinde bulunan terpenler, quercetin gibi biyoaktif bileşikler gibi bileşiklerin bir kısmının hücrelerde doğrudan DNA'yı etkilemeden farklı mekanizmalarla hücrede sitotoksik etki göstermesi, ekstrelerde bulunan bazı

bileşiklerin ise doğrudan DNA'yı etkileyen ajanlar olması ile açıklanabilir. Ancak denememizde söz konusu bitkiden elde edilen ham ekstraler kullanıldığı ve ekstrelerin kimyasal içerik analizi yapılamadığı için MCF-7 hücrelerinde meydana gelen in vitro sitotoksik ve genotoksik etkiye yol açan etken madde veya maddelerin hangisi olduğuna dair kesin bir şey söylemek mümkün değildir.

Halk arasında hayıt, beşparmak otu gibi adlarla bilinen *V. agnus-castus* tohumlarından elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin IC₅₀ değerleri de göz önüne alınarak antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında, rutinin serbest radikali süpürücü aktivitesine yakın bir etki gösteren ekstre olmadığı, dietil eter, petrol eteri ve etil asetat ekstralarının serbest radikal süpürücü aktivitesinin bulunmadığı, sadece metanol ekstresinin ortamdaki serbest radikali süpürücü aktivitesinin denenen diğer ekstrelere ve rutine göre daha yüksek olduğu olmuştur (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2.g). *V. agnus-castus* ile yapılan içerik analizleri *Vitex* türlerinde flavonoidler, iridoidler, agnusidler, aucubin, cineol, casticin, viticin (Li, 2002), uçucu yağ ve rezin (Baytop, 1999) içerdiğini ortaya koymuştur. Hirobe ve ark. (1997) da *V. agnus-castus* meyvelerinden elde ettikleri metanol ekstresinde sekiz adet flavonoid bulunduğunu bildirmişlerdir. Dolayısı ile *V. agnus-castus*'dan elde edilen metanol ekstresinden elde edilen yüksek DPPH serbest radikal süpürücü aktivitenin metanol ekstresi içerisinde bulunan flavonoidlerden kaynaklanmış olabileceği söylenebilir. Flavonoidlerin biyolojik ve farmakolojik aktivitesi antioksidan (AO) ve prooksidan davranışlarına bağlıdır (Auroma *et al.*, 1993). Flavonoidler serbest radikallere karşı AO olarak davranırlar, ama bir geçiş metali varlığında prooksidan aktivite gösterirler. Bu flavonoidlerin antioksidan aktivitesi ve bakırın indüklediği prooksidan aktiviteleri kendi yapılarına bağlıdır (Cao *et al.*, 1997; Moran *et al.*, 1997). Flavonoidler ve diğer bitki fenolik bileşiklerin serbest radikal temizleme ve antioksidan aktivitesi bulunmaktadır. Bu özellik serbest radikallerin absorbe edilmesinde ve nötrlenmesinde, tekil ve üçlü oksijenin yakalanmasında veya peroksitlerin ayrıştırılmasında önemli rol oynamaktadır (Panovska *et al.*, 2005). Yine bu özellik sayesinde fenolik bileşikler; indirgeyici ajan, hidrojen verici, tekil oksijen yakalayıcı ve metal şelatörü olarak görev yapmaktadırlar (Ivanova *et al.*, 2005). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin nedeni, redoks özelliğidir (Rice-Evans

et al.,1997; Morel *et al.*,1994) ve bu özellik bileşiklerin kimyasal yapılarıyla ilişkilidir. Örneğin; quercetin, myricetin ve kaemperol gibi aglikonlar çok sayıda – OH grubu içerirler ve glikozidleri olan rutin, myricitin ve astragalinden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptirler. Özellikle polifenolik fitokimyasalların antioksidan kapasiteye sahip oldukları (Nagakawa and Yokozawa, 2002; Miliauskas *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; Capecka *et al.*, 2005; Steenkamp *et al.*, 2005; Ljubuncic *et al.*, 2005; Chung *et al.*, 2006; Uçar *et al.*, 2006) gösterilmiştir. Yine polifenollerin, monofenollerden daha yüksek serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Sanchez-Moreno *et al.*,1998). Ancak denememizde söz konusu bitkinin tohumundan elde edilen ham ekstralar kullanıldığı ve ekstraların kimyasal içerik analizi yapılamadığı için bu antioksidan etkinin hangi etken madde veya maddelerden kaynaklandığına dair kesin bir şey söylemek mümkün değildir.

V. agnus-castus tohumlarından elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan dietil eter, petrol eteri ve etil asetat ekstralarının DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi oldukça düşük olmasına karşın; 24 ve 72 saatlik ekstre uygulamaları sonucunda, ekstraların gerek konsantrasyon ve gerekse uygulama süresine bağlı olarak MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi yüksek olmuştur (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.6). Ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkisi kendi aralarında ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; en etkili ekstrenin 24 saatlik uygulamada etil asetat (Çizelge 4.6), 72 saatlik uygulamada ise dietil eter ekstresi olmuştur. Ortaya çıkan bu durum, bu ekstralarda bulunan ve farklı mekanizmalarla hücrede sitotoksik etkiye yol açan bileşiklerden kaynaklanmış olabilir. Ancak denememizde söz konusu bitkinin tohumundan elde edilen ham ekstralar kullanıldığı ve ekstraların kimyasal içerik analizi yapılamadığı için bu ekstraların MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin hangi etken madde veya maddelerden kaynaklandığına dair kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Daha önce yapılan çalışmalarda *V. agnus-castus* meyvelerinden elde edilen metanol ekstresinin sekiz adet flavonoid içerdiğini ve bunların yedi tanesinin fare lenfatik lösemi P338 hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu (Hirobe *et al.*, 1997) bildirilmiştir. Ayrıca, bu bitkinin meyvelerinden elde edilen etanol ekstresinin V-79 Çin Hamsteri akciğer karsinoma hücre dizini üzerinde antitümör aktivitesinin yüksek olduğu

(Hirobe *et al.*, 1994) ve yine aynı ekstrenin farklı kanserli dokulardan köken alan altı adet insan hücre dizini üzerinde sitotoksik ve apoptotik etki gösterdiği ortaya konmuştur (Ohyama *et al.*, 2003; 2005). *V. trifolia*'nın dal ve yapraklarından elde edilen hekzan ve diklorometan ekstralarının biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı çalışma sonucunda, ekstraların insan serviks karsinoma (SQC-1 UISO), ovaryum kanseri (OVCAR-5), kolon karsinoma (HCT-15 COLADCAR) ve insan nasofarinks karsinoma (KB) hücreleri üzerinde yüksek seviyede toksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Hernández *et al.*, 1999). *V. agnus-castus* meyvelerinden elde edilen metanol ve etanol ekstralarının HCF, MCF-7 ve SKOV-3 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin XTT-boya indirgeme testi ile araştırıldığı çalışma sonucunda, ekstraların 72 saat süreyle kanser hücreleri üzerine uygulandığında normal hücrelere göre kanser hücreleri üzerinde çok daha fazla sitotoksik etki gösterdiği ve sitotoksik etkinin hücrenin büyüme hızı ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Hirobe and Kunio, 2000). Yine hayıt meyvelerinden elde edilen etanol ekstresinin farklı kanserli dokulardan köken alan altı adet insan hücre dizini üzerinde (HCF, MCF-7, SKG-3a, SKOV-3, KATO-III, COLO 201 ve Lu-134-A-H) sitotoksik etki gösterdiği; ekstre uygulamasının SKOV-3, KATO-III, COLO 201 ve Lu-134-A-H hücrelerinde DNA fragmentasyonuna neden olduğu ve bunun da hücrelerin apoptozise uğrayarak öldüğünün bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Ohyama *et al.*, 2003). Söz konusu çalışmanın devamında hayıt meyve ekstresinin KATO-III hücrelerinde neden olduğu apoptozisin moleküler mekanizması araştırılmış ve sonuçta, ekstrenin neden olduğu hücre içi oksidatif stres ve mitokondriyal membran hasarının KATO-III hücrelerinde apoptozise yol açtığı ortaya konmuştur (Ohyama *et al.*, 2005). Weisskopf ve ark. (2005) hayıt meyve ekstresinin üç farklı prostat epitel hücre dizininde (BPH-1, LNCaP, PC-3) hücre büyümesini inhibe ettiğini ve apoptozise neden olduğunu bildirmişlerdir. Imai ve ark. (2009) *V. agnus-castus* etanol ekstresinde bulunan flavonoidlerin insan kolon kanser (COLO 201) hücrelerinde apoptozise yol açarak sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Denememizden elde ettiğimiz bulgular da söz konusu literatür bilgilerine uygunluk göstermektedir.

V. agnus-castus'dan elde edilen bütün ekstralar MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdikleri sitotoksik etkiden başka, hücreler üzerinde önemli derecede DNA

hasarlarına da neden olmuştur (Çizelge 4.10). MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarı bakımından ekstraler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında özellikle dietil eter ve petrol eteri ekstralerinin MCF-7 hücrelerinde meydana getirdiği DNA hasarı seviyesinin etil asetat, infüzyon ve dekoksasyon ekstrelerine göre çok daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Metanol ekstresi de yine denenen bütün konsantrasyonlarda kontrol gruplarına göre önemli derecede DNA hasarı meydana getirmiş, ancak MCF-7 hücreleri üzerindeki genotoksik etkisi diğer ekstrelere göre daha düşük olmuştur (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.11). Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki DNA hasarı oluşturucu etkisi; dietil eter ekstresi hariç diğer ekstrelerde sitotoksik etkiye göre biraz daha düşük seviyede olmuştur (Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.10). Ortaya çıkan bu durumun nedeni, bu ekstrelerde bulunan fenolikler gibi antioksidan aktiviteye sahip olmayan fakat sitotoksik etkiye sahip olan bileşiklerin DNA'yı etkilemeden, farklı mekanizmalarla hücrede sitotoksik etki göstermiş olması olabilir. Farklı fenolik bileşiklerin bitkilerin metabolik aktivitelerinde hızlandırıcı veya düşürücü etki gösterdikleri (Aybeke ve ark., 2000) bilinmektedir. Bitkilerde çok sayıda ve farklı sınıflara ait bileşikler bulunmakta ve henüz çok fazla aydınlatılmamış olsa da bunların her birinin kendine özgü etki mekanizmaları olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar sebze, meyve ve tıbbi bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerin başlangıç, ilerleme ve gelişme aşamalarındaki moleküler olayları etkileyerek kanser oluşumunu ve/veya gelişimini engelleyebildiğini ortaya koymuştur (Cai *et al.*, 2004). Bunun yanı sıra fenolik bileşikler ve bunların türevleri de gerek insan ve hayvan, gerekse bitkilerde sitotoksik ve genotoksik hasarlara sebep olmaktadır (De Marco *et al.*, 1986; Williams, 1989; Migliore *et al.*, 1990). Fenolik bileşiklerin bu etkisinin kardeş kromatid değişiminde artışa neden olan DNA polimerazı inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, ekstrelerin içerik analizleri yapılamadığı için literatür bilgisine dayanılarak; sitotoksik ve genotoksik etkinin bitkiden elde edilen ekstrelerin içeriğinde bulunan flavonoidler nedeniyle ortaya çıktığı söylenebilir. Flavonoidlerin DNA molekülü ile interkalasyon yaptığı (Havsteen, 1983) ve bazı flavonoidlerin prooksidan etkiye sahip olduğu için mutajenik etkisi bulunduğu gösterilmiştir (De

Carvalho *et al.*, 2003). Her ne kadar flavonoidlerin yüksek konsantrasyonlarda DNA hasarına yol açtığı bilinse de, ham ekstrelerde bulunan bazı başka bileşikler de DNA hasarını tetiklemiş olabilir.

Halk arasında kök yumruları ve yaprakları lapa halinde haricen hemoroide karşı ve çıbanların tedavisinde kullanılan ve yılanı yastığı, yılan bıçağı gibi adlarla bilinen *Dracunculus vulgaris* bitkisinin kökünün süt içinde bekletilmesi ile hazırlanan içeceğin akrep sokmalarına karşı bir yıl bağışıklık sağladığı da bilinmektedir (Baytop, 1999; Anonim, 2006). *D. vulgaris*'dan elde edilebilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan etil asetat, metanol infüzyon ve dekoksasyon ekstrelerinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesi kendi aralarında ve standart bir antioksidan olan rutin ile karşılaştırıldığında; sadece dekoksasyon ekstresi diğerlerine göre serbest radikali süpürücü aktivite bakımından düşük de olsa antioksidan aktiviteye sahip olmasına rağmen, denenen ekstrelerin hiçbirinin kayda değer bir serbest radikal süpürücü aktivite göstermediği söylenebilir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3.d). Denemelerde kullanılan diğer iki bitkinin aksine, *D. vulgaris*'dan dietil eter ve petrol eteri ekstreleri elde edilemediği için, bu ekstrelerin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesi hesaplanamamıştır. *D. vulgaris* kök yumrularından dietil eter ve petrol eteri ekstrelerin elde edilmesi için kullanılan çözücülerin dielektrik sabitlerine bakıldığında; bu çözücülerin polar olmayan (apolar) çözücüler (dietil eter 4,191; petrol eteri 2-2.2) olduğu dolayısı ile bu bitkiden dietil eter ve petrol eteri ekstrelerinin elde edilememiş olmasının nedeninin bitkinin kök yumrularında dietil eter ve petrol eterinin çözdüğü apolar bileşikler içermemesi olduğu düşünülmektedir. Yapılan içerik analizleri sonucunda farklı *Dracunculus* türlerinin yapraklarının ve kök yumrularının zıncı, müsilaj, nişasta, saponin ve konisin alkaloidi (Baytop, 1999), estragole, phelandrine, methyl cavicol, iodine, rutin, tanin, flavonoid ve coumarin içerdiği (Li, 2002) bildirilmiştir. Ancak, denemede *Dracunculus* bitkisinin ham ekstreleri kullanıldığı ve bitkiden elde edilen ekstrelerin içerik analizleri yapılamadığı için, bu bitkiden elde edilen ekstrelerin hiçbirinin kayda değer bir serbest radikal süpürücü aktivite göstermemesinin nedeni hakkında kesin bir yorumda bulunmak mümkün olmamıştır.

Bu bitkiden elde edilen etil asetat, metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstrelerin 24 ve 72 saat süreyle uygulamalarının MCF-7 hücrelerine uygulanması sonucunda ortaya çıkan in vitro sitotoksik etkilere ilişkin veriler incelendiğinde; denenen ekstrelerin hepsinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin, serbest radikal süpürücü aktivitesine nazaran yüksek olduğu ve sitotoksik etkinin konsantrasyon ve süre artışıyla birlikte arttığı ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.7). *D. vulgaris*'den dietil eter ve petrol eteri ekstresinin sitotoksik etkisi incelenememiştir.

D. vulgaris'dan elde edilen bütün ekstrelerin sitotoksik etkisinin yanı sıra MCF-7 hücrelerine 72 saat süreyle uygulandıktan sonra hücrelerde önemli derecede DNA hasarına neden olduğu ve DNA hasarındaki bu artışın konsantrasyon artışıyla birlikte arttığı görülmüştür (Çizelge 4.11). Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde DNA hasarı oluşturuca etkisi; metanol ekstresi hariç diğer ekstrelerde sitotoksik etkiye paralel göstermiştir (Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.11). Metanol ekstresi ise MCF-7 hücrelerinde neden olduğu yüksek seviyede sitotoksik etkiye nazaran daha düşük seviyede DNA hasarı oluşturuca etki göstermiştir. *D. vulgaris*'dan dietil eter ve petrol eteri ekstreleri elde edilemediği için, bu ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki genotoksik etkisi incelenememiştir. Denemeden elde edilen sonuçlar *D. vulgaris*'dan elde edilen ekstrelerin içeriğinde bulunan bileşiklerin serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olmamasına rağmen, sitotoksik ve genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Denememizde söz konusu bitkinin kök yumrusundan elde edilen ham ekstreler kullanıldığı ve ekstrelerin kimyasal içerik analizi yapılamadığı için MCF-7 hücrelerinde meydana gelen in vitro sitotoksik ve genotoksik etkiye yol açan etken madde veya maddelerin hangisi olduğuna dair kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Ancak daha önce yapılan analizlerde bitkinin tohum yağında başta palmitik asit olmak üzere oleik asit, cis-vaccenic asit, stearik asit, arachidic asit gibi toplam 21 çeşit yağ asidi içerdiği belirlenmiştir (Sağlık *et al.*, 2002). Wu ve ark. (2006), palmitik asit, oleik asit, stearik asit gibi yağ asitlerinin, plazma membranlarında hasara yol açarak fitoplanktonlar üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. *D. vulgaris* Schott. ile aynı familyadan olan *Arum palaestinum* (Araceae) yaprak sulu

ekstresinin n-bütanolde çözünen fraksiyonundan izole edilen aktif bir alkaloid olan piperazirum'un A549 (büyük akciğer kanseri), SKOV-3, SK-MEL-2 (melanoma) ve HCT-15 (kolon kanseri) hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi SRB (Sulforhodamine B colorimetric) assay ile araştırılmış ve sonuçta piperazirum'un bütün kanser hücre dizinleri üzerinde önemli derecede sitotoksik etki gösterdiği ortaya konmuştur (El-Desouky *et al.*, 2007). Aynı bitki ile yapılan diğer bir çalışmada ise diklorometan ve metanolün eşit oranda karıştırılması (1:1 v/v) ile elde edilen ekstrenin fare fibrosarcoma L929sA hücreleri ile insan meme kanser hücre dizinleri (MDA-MB231 ve MCF-7) üzerinde sitotoksik etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (Kaileh *et al.*, 2007). Bizim denememizden elde ettiğimiz denenen ekstrelerin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilere dair veriler, literatür bilgilerine uygunluk gösterir niteliktedir.

Halk arasında kök yumruları kınayla karıştırılarak hemoroid tedavisinde, kök özsuğu burundan çekilerek burun kanamalarının durdurulmasında ve iltihaplı yaraları kurutmada kullanılan (Baytop, 1999; Anonim, 2006) ve çiriş otu, hıdırellez kamçısı gibi adlarla bilinen *A. aestivus* bitkisinin kök yumrularından elde edilebilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesi ekstrelerin kendi aralarında ve standart bir antioksidan olan rutin ile karşılaştırıldığında; etil asetat ve dietil eter ekstresi diğerlerine göre serbest radikal süpürücü aktivite bakımından biraz daha yüksek etkiye sahip olmuştur. Ancak standart antioksidan olarak kullanılan rutin'in aktivitesi de dikkate alındığında denenen ekstrelerin kayda değer bir serbest radikal süpürücü aktivite göstermediği görülmüştür (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4.f). Yine de uygulanan farklı ekstreler serbest radikali süpürücü aktiviteleri bakımından kendi içinde sıralandığında sıralama; Dietil Eter > Etil asetat > Metanol > İnfüzyon > Dekoksiyon ekstresi şeklinde olmaktadır. *A. aestivus* Brot. bitkisinin kök yumrularından petrol eteri ekstresi elde edilemediği için, bu ekstrenin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivitesi hesaplanamamıştır. *A. aestivus* kök yumrularından petrol eteri ekstresinin elde edilmesi için kullanılan çözücülerin dielektrik sabitlerine bakıldığında; bu çözücünün apolar çözücü (petrol eteri 2-2.2) olduğu görülmektedir. Dolayısı ile bu bitkiden petrol eteri ekstresinin elde edilememiş olmasının nedeninin, bitkinin kök

yumrularında petrol eterinin çözdüğü apolar bileşikleri içermemesi olduğu düşünülmektedir. Daha önce yapılan içerik analizleri ile de farklı *Asphodelus* türlerinin müsilaj, glukoz ve fruktozdan oluşan bir oligosakkarit içerdiğini ortaya konmuştur (Baytop, 1999). Ancak denemede *Asphodelus* bitkisinin de ham ekstreleri kullanıldığı ve bitkiden elde edilen ekstrelerin içerik analizleri yapılmadığı için, bu bitkiden elde edilen ekstrelerin hiçbirinin kayda değer bir serbest radikal süpürücü aktivite göstermemesinin nedeni hakkında kesin bir yorumda bulunmak mümkün olmamıştır.

A. aestivus Brot.'dan kök yumruları kullanılarak elde edilen ekstrelerinin 24 ve 72 saat süre ile MCF-7 hücreleri üzerine uygulandığında ortaya çıkan in vitro sitotoksik etkilere ilişkin veriler incelendiğinde; dietil eter ve etil asetat ekstrelerinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin 24 saatlik uygulamalarda diğer ekstrelere göre daha zayıf olduğu; söz konusu ekstrelerin 72 saatlik uygulamalarında ise sitotoksik etkinin, konsantrasyon artışıyla birlikte % 50'nin üzerine çıktığı görülmektedir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8.a-b). Sitotoksik etkisi denenen dietil eter ve etil asetat ekstrelerinin DPPH süpürücü aktivitesi de sitotoksik etkiye benzer olmuştur (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4.a-b). Sitotoksik etkisi denenen metanol ve sulu (infüzyon ve dekoksasyon) ekstreleri ise gösterdikleri düşük DPPH radikal süpürücü aktivitenin aksine hem 24 hem de 72 saatlik uygulamalarda MCF-7 hücreleri üzerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak yüksek bir sitotoksik etki göstermişlerdir (Çizelge 4.4. ve Çizelge 4.8.).

Asphodelus türleri ile daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde; çeşitli *Asphodelus* türlerinden elde edilen ekstrelerin farklı insan ve hayvan kanser hücre dizinleri üzerinde düşük sitotoksik etkiye sahip olduğu (Bedoya *et al.*, 2001; Ljubuncic *et al.*, 2005) ve çeşitli bakteri ve maya suşları üzerinde ise antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmektedir Oskay ve ark. (2007). Aralarında *A. ramosus*'un da yer aldığı 15 adet tıbbi bitki türünün etanol ve sulu ekstrelerinin Anti-HIV aktivitesinin ve insan lenfatik MT-2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin MTT assay ile araştırıldığı bir çalışma sonucunda; araştırılan bitkilerin hepsinden elde edilen etanol ekstrelerinin insan lenfatik MT-2 hücreleri üzerinde değişen oranlarda sitotoksik etki gösterdiği, bitkilerin çoğundan elde edilen sulu ekstrelerin MT-2

hücreleri üzerinde sitotoksik etkisinin bulunmadığı, *A. ramosus*'un ise hem etanol hem de sulu ekstresinin lenfatik MT-2 hücreleri üzerinde diğer bitkilerle karşılaştırıldığında düşük sayılabilecek seviyede sitotoksik etki gösterdiği ve anti-HIV aktivitesinin de yok denecek kadar zayıf olduğu bildirilmiştir (Bedoya *et al.*, 2001). Gürbüz ve ark.(2002) *A. aestivus* kök, *Cichorium intybus* kök, *Equisetum palustre* tam bitki, *Viscum album* spp. *Album* tam bitki ve *Laurus nobilis* meyvelerinden elde edilen dekoksasyon ve metanol ekstralarının in vivo mide koruyucu aktivitesini Sprague-Dawley ratlarının midelerinde etanolle oluşturulmuş ülser modelinde araştırmışlar ve sonuçta araştırılan bütün bitkilerden elde edilen ekstraların önemli derecede mide koruyucu etkiye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. İsrail'de Arapların tıbbi bitki olarak kullandıkları ve aralarında *A. microcarpus* Salzm. and *Viv*'in de bulunduğu 8 adet bitkiden elde edilen sulu ekstraların antioksidan aktivitesi Sprague-Dawley ratlarının karaciğer homojenatlarında Fe^{+2} 'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunu baskılama kapasitesi ölçülerek, sitotoksik etkisi ise rat pheochromocytoma PC12 (böbrek üstü bezi medulla kromafin tümör) ve HepG2 (insan hepatoblastoma) hücrelerinde MTT assay kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçta, çalışılan bitkilerden elde edilen sulu ekstraların tamamının Fe^{+2} 'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunu baskıladığı ve hiçbirinin sitotoksik etki göstermediği ortaya konmuştur (Ljubuncic *et al.*, 2005).

A. aestivus'dan elde edilen ekstraların MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin yanı sıra hücrelerin genetik materyali üzerinde de 72 saat süreyle uygulandıktan sonra önemli derecede DNA hasarına neden oldukları ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.12). *A. aestivus*'dan elde edilen ekstralar MCF-7 hücrelerinde meydana getirdikleri DNA hasarı bakımından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında; özellikle etil asetat, infüzyon ve dekoksasyon ekstralarının MCF-7 hücrelerinde meydana getirdiği DNA hasarı seviyesinin metanol ve dietil eter ekstralarına göre çok daha yüksek olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca, bitkiden elde edilen ekstraların MCF-7 hücrelerinde DNA hasarı oluşturucu etkisi; dietil eter, metanol, infüzyon ve dekoksasyon ekstralarında sitotoksik etkiye göre biraz düşük, etil asetat ekstresi uygulamasında ise sitotoksik etkiye göre biraz yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.9). Ortaya çıkan bu durumun nedeni, etil asetat ekstresinde bulunan

bileşiklerin bir kısmının sitotoksik etkiye neden olmaksızın doğrudan DNA'yı etkilemesi diğer ekstrelerde bulunan bileşiklerden bir kısmının DNA'yı etkilemeden farklı bir mekanizmayla hücrelerde genotoksik etkiye neden olması olabilir. *A.aestivus*'dan petrol eteri ekstresi elde edilemediği için, bu ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkisi de incelenememiştir.

Hücrelerde DNA hasarı meydana gelmesi sonuçta hücre döngüsünün durmasına veya hücre ölümü gibi durumların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Liao ve ark. (2009), çoğalan hücrelerde meydana gelen DNA hasarının, hücre döngüsünün DNA tamirine ya da apoptotik hücre ölümüne izin verecek şekilde gecikmesine yol açan mekanizmayı aktive ettiğini bildirmiştir. Söz konusu araştırmacılar, yaptıkları çalışmada nükleosid analogu olan 5-aza-deoxycytidine (5-aza-CdR)'nin A549 insan akciğer kanseri hücrelerinde DNA hasarı oluşturarak hücre çoğalmasını inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Bu bilgiler, sitotoksikite ile DNA hasarı arasında bir ilişki olduğunu doğrulamaktadır. DNA ile reaksiyona giren ajan ile DNA arasındaki doğrudan etkileşim, primer DNA hasarına yol açabilen çeşitli yollardan biridir. Comet assay ile ölçülebilen DNA zincir kırıkları ve alkaliye duyarlı bölgeler, sitotoksikite gibi dolaylı olaylar sonucunda da ortaya çıkabilmektedir (Galloway *et al.*, 1998; Galloway, 2000). Alkali comet yönteminde göç eden DNA tek zincirlidir ve bu nedenle tek zincirli kırığa dönüşebilen herhangi bir lezyonun daha hassas olarak ölçülebilmesini sağlar. Comet yöntemi hem doğrudan DNA hasarını hem de DNA'da tek zincir kırılmalarına neden olan süreçleri belirleme yeteneğindedir. Diğer yöntemlerde negatif sonuç veren birçok örnek bu yöntemde pozitif sonuç vermektedir. (Taylor *et al.*, 2003). Bunun nedeni alkali comet yönteminin hassasiyeti olabilir. Diğer taraftan artan DNA göçü, DNA nedenli olmayan veya apoptozis sırasında ortaya çıkan hücre ölümüyle de ilişkilidir (Tice, 1995). Bu nedenle, comet yönteminde DNA hasarına yol açarak pozitif sonuçlar veren bitkisel ekstratlar genotoksik etkiyi yansıtmaktadır diye bir kural yoktur (Verschaeve and Van Staden, 2008). Ayrıca, kanser hücrelerinde DNA hasarının meydana gelmesi, kanserin yok edilmesi için kabul görmüş bir tedavi stratejisidir (Liao *et al.*, 2009) ve günümüzde kanser tedavisinde kullanılan birçok ilaç, aynı zamanda mutajendir (Verschaeve and Van Staden, 2008).

Tez çalışması kapsamında kullanılan bitkilerin farklı kısımlarından elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin gösterdikleri antioksidan aktiviteye göre bitkiler kendi aralarında karşılaştırıldığında; en yüksek antioksidan aktivite *E. platyphyllos*'dan elde edilen ekstreler ile ortaya çıkarken, *E. platyphyllos*'u sırası ile *V. agnus castus*, *A. aestivus* ve *D. vulgaris* izlemiştir. MCF-7 hücrelerinde DNA hasarına yol açmak suretiyle ortaya çıkan in vitro sitotoksik etki en fazla *V. agnus castus*'dan elde edilen ekstreler ile elde edilirken *V. agnus castus*'u sırası ile *E. platyphyllos*, *D. vulgaris* ve *A. aestivus* takip etmiştir. MCF-7 hücrelerinin genetik materyali üzerindeki genotoksik etki ise en fazla *E. platyphyllos*'dan elde edilen ekstreler ile ortaya çıkarken, genotoksik etki bakımından diğer bitkiler sırası ile *V. agnus-castus*, *D. vulgaris* ve *A. aestivus* olmuştur.

Bu çalışmada bitkilerden elde edilen ham ekstreler kullanılmıştır, çünkü tıbbi bitkilerin halk arasındaki kullanımı genellikle bu şekildedir. Bununla birlikte, ham ekstrelerle çalışmak, aynı zamanda biyoaktif bileşiklerin kompleks karışımları ile çalışmak demektir. Bu tür karışımlardaki bileşiklerin bazıları sitotoksik ve/veya genotoksik iken, diğerleri hücre koruyucu ve/veya antijenotoksik olabilir. Bulgularımız, çalışmada kullanılan ekstrelerin antioksidan aktivitenin yanı sıra sitotoksik ve genotoksik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Tez kapsamında kullanılan bitkilerin antioksidan aktiviteleri ve MCF-7 hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksik etkisi ile hücrelerin genetik materyali üzerindeki etkisi ilk kez bu çalışma kapsamında ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Özellikle denenen bitkilerden *E. platyphyllos* ve *V. agnus castus* bitkilerinden elde edilen ekstrelerin yüksek sitotoksik etki göstermesi, özellikle kadınlar arasında yaygın olarak görülen ve gittikçe erkekleri de tehdit etmeye başlayan meme kanseri tedavisinde kullanılabilecek yeni bitkisel kökenli bileşiklerin araştırılmasına ışık tutabilecek ve anti-kanser özellik taşıyan bitkilerin belirlenebilmesine katkıda bulunacak olması nedeni ile önem taşımaktadır. Çalışmada bitkilerden elde edilen ham ekstreler kullanıldığı için, ekstrelerin içeriğinde bulunan etken madde ve bileşiklerin ayrıntılı kimyasal içerik analizleri yapılarak, bu bileşiklerin etki mekanizmalarının belirlenebilmesi için farklı testler ve sistemler kullanılarak daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır. Pek çok alanda genotoksik etkiyi tanımlamada kullanılmaya başlamış

olan tek hücre jel elektroforez yöntemi genotoksik etki yanında antigenotoksik etkiyi ortaya çıkarmak için kullanılmaya başlanmış ve bir mutajen ile DNA harabiyetine uğratılan hücreler doğal maddeler ile muamele edilerek koruyucu özellikleri araştırılabilmektedir. Ancak sonuçların yorumlanması bazı durumlarda güç olmaktadır. Zira deneyde görülen güçlü etkiler mutlaka genotoksik bir tehlikenin varlığına işaret etmemektedir. Bu nedenle elde edilen veriler bir başka deney ile mutlaka karşılaştırılmalıdır. Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar denenen dört farklı bitkiden elde edilen ekstrelerin MCF-7 hücrelerinde in vitro uygulamalarda sitotoksik etki gösterdiğini ayrıca DNA'da zincir kırıklarına neden olduklarını ve bu nedenle de genotoksik etki gösterdiklerini ortaya koymuştur. Daha ileri çalışmalarla bitkilerden elde edilen etkili ekstreler içerisinde bulunan etken madde/maddeler veya bileşikler belirlenerek kanser hücreleri içerisinde hangi mekanizmalarla ve hangi düzeylerde etkinlik gösterdikleri ve etkinin organizma seviyesinde de olup olmadığının anlaşılabilmesi için çeşitli canlılar kullanılarak in vivo araştırmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Al-Dabbas, M.M., Al-Ismail, K., Kitahara, K., Chishaki, N., Hashinaga, F., Suganuma, T. and Tadera, K. 2007. The effects of different inorganic salts, buffer systems and desalting of *Varthemia* crude water extract on DPPH radical scavenging activity. **Food Chemistry**, **104**: 734-739.

Anonim, 2005. Sözlü görüşme, Aydın.

Anonim, 2006. Sözlü görüşme, Aydın.

Aslantürk, Ö.S. 2003. Llikopenin kromozom hasarlarını değiştirici etkilerinin araştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Aydın.

Auroma, O.I. and Murcia, A. 1993. Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. **J. Agric. Food Chem.**, **41**:1880-8526

Avcı, G., Kupeli, E., Eryavuz, A., Yesilada, E. and Kucukkurt, I. 2006. Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, **107**: 418-423.

Aybeke, M., Olgun, G., Sıdal, U., ve Kolankaya, D. 2000. Zeytinyağı fabrikası atık suyunun buğday (*Triticum aestivum* L.) kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme ve total protein miktarı üzerine etkisi. **Türk J. Biol.**, **24**:127-140.

Bahçeci, Z. 1999. Moleküler biyoloji. **Öğrenci Kitabevi Yayınları, Kırşehir.**

Baloch, I.B., Baloch, M.K. and Saqib, Q.N. 2008. Anti-tumor 12-deoxyphorbol esters from *Euphorbia ornigera*. **European Journal of Medicinal Chemistry, 43:** 274-281.

Balunas, M.J. and Kinghorn, A.D. 2005. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences, 78:** 431-441.

Başer, K.H.C., 2002. Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. **Pure Appl. Chem., 74(4):** 527-545.

Baytop, T. 1999. Türkiye’de bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün). **Nobel Tıp Yayınevi, İstanbul.**

Bedoya, L.M., Sanchez-Palomino, S., Abad, M.J., Bermejo, P. and Alcamí, J. 2001. Anti-HIV activity of medicinal plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology, 77:** 113-116.

Benli, M. ve Yiğit, N. 2005. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 3(7):** 9-13. Erişim: [<http://www.mikrobiyoloji.org/dergi.htm>]

Betancur-Galvis, L.A., Morales, G.E., Forero, J.E. and Roldan, J. 2002. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the *Euphorbia* genus. **Mem. Inst.Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 97(4):** 541-546.

Bhattacharya, A., Kumar, M., Ghosal, S. and Bhattacharya, S.K. 2000. Effect of bioactive tannoid principles of *Emblica officinalis* on iron-induced hepatic toxicity in rats. **Phytomedicine**, **7**: 173-175.

Bonet, B., Otero, P., Viana, M. and Herrera, E. 1996. Antioxidant and prooxidant effects of vitamin C and flavonoids on LDL oxidation. Abstracts of papers, **VIII Biennial Meeting International Society for Free Radical Research**, pp:75, University of Barcelona, Spain.

Bors, W., Michel, C. and Stettmaier, K. 2001. Structure-activity relationships governing antioxidant capacities of plant polyphenols. **Methods in Enzymology**, **335**: 166-180.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, **28**: 25-30.

Brian W.R. 2002. Isolation and structure elucidation of cytotoxic natural products from Suriname and Madagascar. Master thesis, **Virginia Polytechnic Institute and State University**. Erişim: [<http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-11182002-213441/unrestricted/Chapter1.pdf>]

Burdall, S.E., Hnby, A.M., Lansdown, M.R.J. and Speirs, V. 2003. Breast cancer cell lines: friend or foe? **Breast Cancer Research**, **5**: 89-95.

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, **74**: 2157-2184.

Cao, G., Sofic, E. and Prior, R.L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure- activity relationships. **Free Radical Biology and Medicine**, **22(5)**:749-60.

Capeccka, E., Mareczek, A. and Leja, M. 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. **Food Chemistry**, **93**: 223-226.

Chaabi, M., Freund-Michel, V., Frossard, N., Randriantsoa, A., Andriantsitohaina, R. and Lobstein, A. 2007. Anti-proliferative effect of *Euphorbia stenoclada* in human airway smooth muscle cells in culture. **Journal of Ethnopharmacology**, **109**: 134-139.

Cheng, Y.L., Lee, S.C., Lin, S.Z., Chang, W.L., Chen, Y.L., Tsai, N.M., Liu, Y.C., Tzao, C., Yu, D.S. and Harn, H.J. 2004. Anti-proliferative activity of *Bupleurum scrozonrifolium* in A549 human lung cancer cells in vitro and in vivo. **Cancer Letters**, **222**: 183-193.

Chicca, A., Adinolfi, B., Martinotti, E., Fogli, S., Breschi, M.C., Pellati, F., Benvenuti, S. and Nieri, P. 2007. Cytotoxic effects of *Echinacea* root hexanic extracts on human cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, **110**: 148-153.

Chung, K.T., Lu, Z. and Chou, M.W. 1998. Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. **Food and Chemical Toxicology**, **36**: 1053-160.

Chung, Y.C., Chien, C.T., Teng, K.Y. and Chou, S.T. 2006. Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb and *zucc.* **Food Chemistry**, **97**: 418-425.

Collins, A.R., Ai-guo, M. and Duthie, S.J. 1995. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells. **Mutat Res** **336**: 69-77.

Collins A.R., Dobson V.L., Duinska. M., Kennedy. G. and Štětina, R. 1997. The comet assay: what can it really tell us?. **Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, **375 (2)**, 183-193.

Collins, A. and Horvathova. E. 2001. Oxidative DNA damage, antioxidants and DNA repair: Applications of the comet assay. **Biochem. Soc. Trans.**, **29 (2)**:337-41.

Cordell, G.A. 1995. Changing strategies in natural products chemistry. **Phytochemistry**, **40**: 1585-1612.

Couladis, M., Tzakou, O., Verykokidou, E. and Harvala, C. 2003. Screening of some Grek aromatic plants for antioxidant activity. **Phytotherapy Research**, **17**: 194-195.

Cragg, G.M., Boyd, M.R., Cardellina, II. H.J., Newman, D.J., Snader, K.M. and McCloud, T.G. 1994. Ethnobotany and drug discovery: the experience of the US

National Cancer Institute. **In Ethnobotany and the Search for New Drugs. Ciba Foundation Symposium**, (eds. Chadwick, DJ, Marsh, J) pp 178-196. Chichester, UK: Wiley and Sons.

Cragg, G.M., Newman, D.J. and Snader, K.M. 1997. Natural products in drug discovery and development. **J. Nat. Prod.**, **60**: 52-60.

Çam, M. ve Hışıl, Y. 2006. Basınçlı solvent ekstraksiyonu ve uygulamaları. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, **3**: 79-86.

Erişim: [www.teknolojikarastirmalar.org]

Çelik, E. ve Çelik, G.Y. 2007. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. **Orlab Online Mikrobiyoloji Dergisi**, **5(2)**: 1-6.

Erişim: [<http://www.mikrobiyoloji.org/dergi.htm>]

Çırak, C. ve Kevseroğlu, K. 2004. Kantaron bitkisinin eski çağlardan günümüze kullanım şekilleri ile modern tıptaki yeri ve önemi. **OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, **19**: 74-84.

Çimen, M.B.Y. 1999. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. **T Klin Tıp Bilimleri**, **19**: 296-304.

Dahanukar, S.A., Kulkarni, R.A. and Rege, N.N. 2000. Pharmacology of medicinal plants and natural products. **Indian Journal of Pharmacology**, **32**: 81-118.

De Carvalho, M.C., Barca, F.N., Aqnez-Lima, L.F. and de Medeiros, S.R. 2003. Evaluation of mutagenic activity in an extract of Pepper tree stem bark (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Environmental and Molecular Mutagenesis**, **42**: 185-191.

De Marco, A., Romanelli, M., Stazzi, M.A., and Vitagliano, E. 1986. Induction of micronucleated cells in *Vicia faba* and *Allium cepa* root tips treated with NTA. **Mutat. Res.**, **171**:145-148.

De Oliveira, A., Ribeiro-Pinto, L.F. and Paumgartten, F.J.R. 1997. In vitro inhibition CYP2B1 monooxygenase by β -myrecene and other monoterpenoid compounds. **Toxicology Letters**, **92(1)**:39-46.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J.F. and Stocker, P. 2006. Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. **Eur. Food Res. Technol.**, **224**: 801-809.

Di Gianni, L.M., Garber, J.E. and Winer, E.P. 2002. Complementary and alternative medicine use among women with breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, **20(18)**: 34-38.

Doğan, H. ve Zaman, H. 1997. Serbest oksijen radikalleri (Bitirme ödevi). **Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü**.

Draper, L. 2006. Breast cancer: trends, risks, treatments, and effects. **AAOHN J.**, **54**: 452–453.

Eisenbrand, G., Pool-Zobel, B., Baker, V., Balls, M., Blaauboer, B.J., Boobis, A., Carere, A., Kevekordes, S., Lhuguenot, J.C., Pieters, R. and Kleiner, J. 2002. Methods on in vitro toxicology. **Food. Chem. Toxicol.**, **40**: 193-236.

El-Desouky, S.K., Ryu, S.Y. and Kim, Y.K. 2007. Piperazirum, a novel bioactive alkaloid from *Arum palaestinum* Boiss. **Tetrahedron Letters**, **48**: 4015-4017.

Erbaş, M. 2006. Yeni Bir Gıda Grubu Olarak Fonksiyonel Gıdalar. **Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildirileri**, (24-26 Mayıs 2006), 791-794s, Bolu.

Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I.P., Troganis, A. and Boskou, D. 2002. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage and summer savory. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **46**: 4107-4112.

Evandri, M.G., Battinelli, L., Daniele, C., Mastrangelo, S., Bolle, P. and Mazzanti, G., 2005. The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. **Food Chem. Toxicol.**, **43(9)**:1381-1387.

Fornelli, F., Minervini, F. And Logrieco, A. 2004. Cytotoxicity of fungal metabolites to lepidopteran (*Spodoptera frugiperda*) cell line (SF-9). **Journal of Invertebrate Pathology**, **85**: 74-79.

Gali-Muhtasib, H.U., Younes, I.H., Karchesy, J.J. and El-Sabban, M.E. 2001. Plant tannins inhibit the induction of aberrant crypt foci and colonic tumors by 1,2-dimethylhydrazine in mice. **Nutrition Cancer**, **39**: 108-116.

Galloway, S.M., Miller, J.E., Armstrong, M.J., Bean, C.L., Skopek, T.R. and Nichols, W.W. 1998. DNA synthesis inhibition as an indirect mechanism of chromosome aberrations: comparison of DNA-reactive and non-DNA-reactive clastogens. **Mutation Research**, **400**: 169-186.

Galloway, S.M. 2000. Cytotoxicity and chromosome aberrations in vitro: Experience in industry and the case for an upper limit of toxicity in the aberration assay. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, **35**: 191-201.

Goffin, E., Proença da Cunha, A., Ziemons, E., Tits, M., Angenoti L. and Frederich, M. 2003. Quantification of tagitinin C in *Tithonia diversifolia* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Phytochemical Analysis**, **14**: 378-380.

Gomes-Carneiro, M.R., Viana, M.E., Felzenszwalb, I., and Paumgarten, F.J. 2005. Evaluation of beta-myrecene, alpha-terpinene and (+)- and (-)-alpha-pinene in the Salmonella/microsome assay. **Food and Chem. Toxicol.**, **43(2)**:247-52.

Güney, O., Canbilen, A., Konak, A. and Acar, O. 2003. The effects of folic acid in the prevention of neural tube development defects caused by phenytoin in early chick embryos. **Spine**, **28(5)**: 442-445.

Gürbüz, İ., Üstün, O., Yeşilada, E., Sezik, E. and Akyürek, N. 2002. In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions. **Journal of Ethnopharmacology**, **83**: 241-244.

Gürdöl, F. 2002. Kimyasal Karsinogenez. **Klinik Biyokimya ve Kanser Sempozyumu Bildiri Kitabı**, pp. 32-33.

Haba, H., Lavaud, C., Harkat, H., Magid, A.A., Marcourt, L. and Benkhaled, M. 2007. Diterpenoids and triterpenoids from *Euphorbia guyoniana*. **Phytochemistry**, **68**: 1255-1260.

Hadi,S.M., Asad,S.F., Singh,S. and Ahmad,A. 2000. Putative mechanism for anti-cancer and apoptosis-inducing properties of plant derived polyphenolic compounds. **IUBMB Life**, **50**: 167-171.

Hartwell, J.L. 1982. Plants used against cancer. **Lawrence, MA: Quarterman**, pp, 438.

Havsteen, B., 1983. Commentary: flavonoids, a class of natural proucts of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology**, **32**: 1141-1148.

Henderson, J.W. and Donatelle, R.J. 2004. Complementary and alternative medicine use by women after completion of allopathic treatment for breast cancer. **Alternative Therapies in Health And Medicine**, **10(1)**:52-7.

Heinonen, M., Lehtonen, P.J. and Hopla, A. 1998. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquor. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **48**: 25-31.

Hernández, M.M., Heraso, C., Villareal, M.L., Vargas-Arispuro,I. and Aranda, E. 1999. Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L. (Verbenaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, **67**: 37-44.

Hirobe, C., Palevitch, D., Takeya, K. and Itokawa, H. 1994. Screening test for antitumor activity of crude drugs (IV) studies on cytotoxic activity of Israeli medicinal plants. **Natural Medicines**, **48**: 168-170.

Hirobe, C., Qiao, Z.S., Takeya, K. and Itokawa, H. 1997. Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus-castus*. **Phytochemistry**, **46**: 521-524.

Hirobe, C. and Kunio, O. 2000. Cytotoxic effect of *Vitex agnus-castus* extract on human cultured uterine cervical fibroblasts and breast and ovarian cancer cells. **Acta Obstetrica et Gynaecologica Japonica**, **52(10)**: 1449-1456.

Hobbs, C. 1996. *Vitex: The woman's herbs* (2nd ed). CA: **Botanica Press**.

Hohmann, J., Forgo, P., Csupor, D. and Schlosser, G. 2003. Isolation and structure determination of new jatrophone diterpenoids from *Euphorbia platyphyllos* L. **Helvetica Chimica Acta**, **86**: 3386-3392.

Hsieh, T., Wu, P., Park, S. and Wu, J.M. 2006. Induction of cell cycle changes and modulation of apoptogenic/anti-apoptotic and extracellular signaling regulatory protein expression by water extracts of I'm-Yunity™ (PSP). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, **6**: 30.

Imai, M., Kikuchi, H., Denda, T., Ohyama, K., Hirobe, C. and Toyoda, H. 2009. Cytotoxic effects of flavonoids against a human colon cancer derived cell line, COLO 201: a potential natural anti-cancer substance. **Cancer Letters**, **276**: 74-80.

Itharat,A., Houghton, P.J., Eno-Amooquaye, E., Burke, P.J., Sampson, J.H. and Roman, A. 2004. in vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. **Journal of Ethnopharmacology**, **90**: 33-38.

Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov,T. and Yankova,T. 2005. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, **96**: 145-150.

İpek, E., Zeytinoğlu, H., Okay, S., Tüylü, B.A., Kürkcüoğlu, M., and Başer, K.H.C. 2005. Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. **Food Chemistry**, **93**:551-556.

Jain, A., Katewa, S.S., Galav, P.K. and Nag, A. 2007. Unrecorded ethnomedical uses of biodiversity from Tadgarh-Raoli wildlife sanctuary, Rajasthan, India. **Acta Botanica Yunnanica**, **29 (3)**: 337-344.

Jayaprakasha, G.K., Girenavar, B. and Patil, B.S. 2008. Radical scavenging activities of Rio red grapefruits and sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. **Bioresource Technology**, **99**: 4484-4494.

Jensen, W.B.J. 2009. The origin of the “Delta” symbol for fractional charges. **Chem. Educ.**, pp. 86, 545.

Kaileh, M., Berghe, W.V., Bone, E., Essawi, T. and Haegeman, G. 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. **Journal of Ethnopharmacology**, **113**: 510-516.

Kırbağ, S. 1999. *Hypericum perforatum* L. un değişik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi. **Journal of Qafqaz University**, **2(1)**: 102-108.

Kim, R.S., Zaborniak,C.L.F., Begleiter,A. and La Bella, F. 1992. Antiproliferative properties of aminosteroid antioxidants on cultured cancer cells. **Cancer Letters**, **64(1)**: 61-66.

Klaude M., Eriksson. S., Nygren. J. and Ahnström. G. 1996. The comet assay: mechanisms and technical considerations. **Mutation Research/DNA Repair**, **363(2)**, 89-96.

Lacroix,M., Toillon, R.A. and Leclerq, G. 2006. p53 and breast cancer, an update. **Endocrine Related Cancer**, **13**: 293-325.

Lambertini, E., Piva, R., Khan, M.T.H., Lampronti, I., Bianchi, N., Borgatti, M. and Gambari, R. 2004. Effects of extracts from Bangladeshi medicinal plants on in vitro proliferation of human breast cell lines and expression of estrogen receptor gene. **International Journal of Oncology**, **24**: 419-423.

Lee, J.Y., Hwank, W.I. and Lim, S.T. 2004. Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots. **Journal of Ethnopharmacology**, **93**: 409-415.

Lee, J.C., Lee,K.Y., Son,Y.O., Choi, K.C., Kim,J., Truong,T.T. and Jang,Y.S. 2005. Plant-originated glycoprotein, G-120, inhibits the growth of MCF-7 cells and induces their apoptosis. **Food and Chemical Toxicology**, **43(6)**: 961-968.

Levenson, A.S. and Jordan, V.C. 1997. MCF-7: the first hormone-responsive breast cancer cell line. **Cancer Research**, **57**: 3071-3078.

Li, T.S.C. 2002. Medicinal Plants. **Culture, Utilization and Phytopharmacology**. CRC Press LLC. Boca Raton, pp. 8-50, Florida, USA.

Liao, W., McNutt, M.A. and Zhu, W.G. 2009. The comet assay: A sensitive method for detecting DNA damage in individual cells. **Methods**, **48**: 46-53.

Lin, C.C., Hsu, Y.F., Lin, T.C. and Hsu, H.Y. 2001. Antioxidant and hepatoprotective effects of punicalagin and punicalin on acetaminophen-induced liver damage in rats. **Phytotherapy Research**, **15**: 206-121.

Ljubuncic, P., Azaizeh, H., Portnaya, I., Cogan, U., Said, O., Saleh, K.A. and Bomzon, A. 2005. Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. **Journal of Ethnopharmacology**, **99**: 43-47.

Lu, Z.Q., Yang, M., Zhang, J.Q., Chen, G.T., Huang, H.L., Guan, S.H., Ma, C., Liu, X. and Guo, D.A. 2008. Ingenane diterpenoids from *Euphorbia esula*. **Phytochemistry**, **69**: 812-819.

Matthew, R. and White, E. 2006. FLIPping the balance between apoptosis and proliferation in thyroid cancer. **Clinical Cancer Research**, **12**: 3648-3651.

Michaelis, F., Tiligada, E., Skaltska, H., Lazari, D., Skaltsounis, A.L. and Delitheos, A., 2002. Effect of the flavonoid pilloin isolated from marrubium cylleneum on

mitogen-induced lymphocyte transformation. **Pharmaceutical Biology**, **40(4)**: 245-248.

Migliore, L., Baraler, B.E. and Giorgelli F. 1990. Minnunni M., Scarpato R. and Loprieno N.: Genotoxicity of emthyglyoxal: cytogenetic damage in human lymphocytes in vitro and intestinal cells of mice. **Carcin.**, **11(9)**:1503-1507).

Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and van Beek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of somemedicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, **85**: 231-237.

Moran, J.F., Klucas, R.V., Grayer, R.J., Abiyan, J. and Becana, M. 1997. Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: Prooxidant and antioxidant properties. **Free Radical Biology and Medicine**, **22(5)**:861-70.

Morel, I., Lescoat, G., Cillard, P. and Cillard, J. 1994. Role of flavonoids and iron chelation in antioxidant action. **Methods Enzymol.**, **234**: 437–443.

Mosaddik, M.A. 2003. in vitro cytotoxicity of tanshinones isolated from *Salvia miltiorrhiza* Bunge against P388 lymphocytic leukemia cells. **Phytomedicine**, **10**: 682-685.

Mukhtar, H., Das, M., Khan, W.A. and Bik, D.P. 1988. Exceptional activity of tannic acid among naturally occurring plant phenols in protecting against 7,12-

dimethylbenz(*a*)anthracene-, benzo(*a*)pyrene-, 3-methylcholanthrene-, and *N*-methyl-*N*-nitrosourea-induced skin tumorigenesis in mice. **Cancer Res**, **48**: 2361-2365

Nabholtz, J.M., Reese, D.M., Lindsay, M.A. and Riva, A. 2002. Docetaxel in the treatment of breast cancer: an update on recent studies. **Semin. Oncol**, **29**: 28-34.

Nagakawa, T. and Yokozawa, T., 2002. Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. **Food and Chemical Toxicology**, **40**: 1745-1750.

Navo, M.A., Phan, J., Vaughan, C., Palmer, J.L., Michaud, L., Jones, K.L., Bodurka, D.C., Engquist, K.B., Hortobagyi, G.N., Kavanagh, J.J. and Smith, J.A. 2004. An assessment of the utilization of complementary and alternative medication in women with gynecologic or breast malignancies. **Journal of Clinical Oncology**, **22(4)**: 671-677.

Newman, D.J., Cragg, G.M. and Snader, K.M. 2000. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Products Reports**, **17**: 215-234.

Odenthal., K.P. 1998. *Vitex agnus-castus* L., traditional drug and actual indications. **Phytotherapy Research**, **12**: 160-161.

Ohyama, K., Akaike, T., Hirobe, C. and Yamakawa, T. 2003. Cytotoxicity and apoptotic inducibility of *Vitex agnus-castus* fruit extract in cultured human normal and cancer cells and effect on growth. **Biol. Pharm. Bull.**, **26(1)**: 10-18.

Ohyama, K., Akaike, T., Imai, M., Toyoda, H., Hirobe, C. and Bessho, T. 2005. Human gastric ring carcinoma (KATO-III) cell apoptosis induced by *Vitex agnus-*

castus fruit extract through intracellular oxidative stres. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, **37**: 1496-1510.

Okwu, D.E. 2005. Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. **International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences**, **1(4)**: 375-381.

Osborne, C.K., Hobbs, K. and Trent, J.M. 1987. Biological differences among MCF-7 human breast cancer cell lines from different laboratories. **Breast Cancer Research and Treatment**, **9**: 111-121.

Oskay, M., Aktaş, K.,sarı, D. ve Azer,C. 2007. *Asphodelus aestivus* (Liliaceae)'un antimikrobiyal etkisinin çukur ve disk difüzyon yöntemiyle karşılaştırmalı olarak belirlenmesi. **Ekoloji**, **16(62)**: 62-65.

Panovska, T.K., Kulevanova, S. and Stefova, M. 2005. In vitro activity of some *Teucrium* species (*Lamiaceae*). **Acta Pharm.**, **55**: 207-214.

Pillai, G.R., Srivastava, A.R., Hassanein, T.I., Chauan, D.P. and Carrier, E. 2004. Induction of apoptosis in human lung cancer cells by curcumin. **Cancer Letters**, **208**, 163-170.

Pitarque, M., Creus, A., Marcos, R., Hughes, J.A and Anderson, D. 1999. Examination of various biomarkers measuring genotoxic endpoints from Barcelona airport personel. **Mutat. Res.**, **440**: 195-204

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajid, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, **5 (11)**: 1142-1145.

Rates, S.M.K. 2001. Plants as source of drugs. **Toxication**, **39**: 603-613.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic. Biol. Med.**, **20(7)**: 933-956.

Roscetti, G., Franzese, O., Comandini, A. and Bonmassar, E. 2004. Cytotoxic activity of *Hypericum perforatum* L. on K562 erythroleukemic cells: Differential effects between methanolic extract and hypericin. **Phytotherapy Research**, **18**: 66-72.

Russo, A., Cardile, V., Lombardo, L., Vanella, L., Vanella, A. and Garbarino, J.A. 2005. Antioxidant activity and antiproliferative action of methanolic extract of *Geum quellyon* sweet roots in human tumor cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, **100**: 323-332.

Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Daire Başkanlığı,

<http://www.kanser.gov.tr/index.php?cat=11>

Sağlık, S., Alpınar, K. and İmre, S. 2002. Fatty acid composition of *Dracunculus vulgaris* Schott.(Araceae) seed oil from Turkey. **J. Pharm. Pharmaceut. Sci.**, **5(3)**: 231-233.

Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura-Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J. Sci. Agric.**, **76**: 270-276.

Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. and Tsuda, S. 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutat Res.**, **519 (1-2)**: 103-119.

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. 1998. **Tohumlu Bitkiler Sistematığı, Ege Üniv. Fen. Fak. Kitaplar Serisi**, No: 116, İzmir.

Simstein, R., Burow, M., Parker, A., Weldon, C. and Beckman, B. 2003. Apoptosis, chemoresistance and breast cancer: Insights from the MCF-7 cell model system. **Exp. Biol. Med.**, **228**: 99501003.

Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R. and Schneider, E.L. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Exp. Cell Res.**, **175**: 184-191.

Son, Y.O., Kim, J., Kim, J.C., Chung, Y., Chung, G.H. and Lee, J.C. 2003. Ripe fruits of *Solanum nigrum* L. inhibits cell growth and induces apoptosis in MCF-7 cells. **Food and Chemical Toxicology**, **41**: 1421-1428

Steenkamp, V., Grime, H., Semano, M. and Gulumian, M., 2005. Antioxidant and genotoxic properties of South African herbal extracts. **Mutation Research**, **581**: 35-42.

Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E. ve Yıldırım, Ş. 2002. Anadolu'da halk arasında bitkilerin kullanılış amaçları üzerinde etnobotanik bir çalışma. **14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildirileri**, (29-31 Mayıs 2002), 434-457, Eskişehir.

Taylor, J.L.S., Elgorashi, E.E., Maes, A., Van Gorp, U., De Kimpe, N., Van Puyvelde, L., Van Staden, J. and Verschaeve, L. 2003. Investigating the safety of plants used in South African traditional medicine-testing for genotoxicity in the micronucleus and alkaline Comet assays. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, **42**: 144-154.

Tice, R.R. 1995. The single cell gel/Comet assay: a microgel electrophoretic technique for the detection of DNA damage and repair in individual cells. In: Philips, D.H. and Venitt, S. (Eds.), **Environmental Mutagenesis**, Bios. Scientific Publications, Oxford, UK, pp. 315-339.

Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C. and Sasaki, Y.F. 2000. Single cell gel/Comet Assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environ. Mol. Mutagen.**, **35**: 206-221.

Tominaga, H., Kobayashi, Y., Goto, T., Kasemura, K. and Nomura, M. 2005. DPPH radical-scavenging effect of several phenylpropanoid compounds and their glycoside derivatives. **Yakugaku Zasshi**, **125(4)**: 371-375

TÜBİTAK-Taksonomik tür veritabanı. <http://bioces.tubitak.gov.tr/>

Uçar, E.Ö., Karagöz, A. and Arda, N. 2006. Antioxidant activity of *Viscum album* ssp. *album*. **Fitoterapia**, **77**: 556-560.

Valadares, M.C., Carrucha, S.G., Accorsi, W. And Queiroz, M.L.S. 2006. *Euphorbia tirucalli* L. modulates myelopoiesis and enhances the resistance of tumour-bearing mice. **International Immunopharmacology**, **6**: 294-299.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **46(10)**: 4113-4117.

Verschaeve, L., Kestens, V., Taylor, J.L.S., Elgorashi, E.E., Maes, A., Van Puyvelde, L., De Kimpe, N. and Van Staden, J. 2004. Investigation of antimutagenic effects of selected South African medicinal plant extracts. **Toxicology in Vitro**, **18**:29-35.

Verschaeve, L. and Van Staden, J. 2008. Mutagenic and antimutagenic properties of extracts from South African traditional medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, **119**: 575-587.

Visioli, F., Borsani, L. and Gali, C. 2000. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. **Cardiovasc. Res.**, **47**: 149-425.

Vogelstein, B and Kinzler, K.W. 2002. The genetic basis of human cancer. **McGraw-Hill Companies**, pp: 1-566, USA.

Vundać, V.B., Brantner A.H. and Plazibat, M. 2007. Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa, **Food Chemistry**, **104**: 1277–1281.

Weisskopf, M., Schaffner, W., Jundt, G., Sulser, T., Wyler, S. and Tullberg-Reinert, H. 2005. A *Vitex agnus-castus* fruit extract inhibits cell growth and induces apoptosis in prostate epithelial cell lines. **Planta Medica**, **1**: 910-916.

Weston, A. and Haris, C.C. 2003. Cancer medicine. **BC Dercker Inc., Hamilton, London**. Elektronik Kitap.

Erişim: [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=cmed6.section.4997>]

Whelan, L.C. and Ryan, M.F. 2003. Ethanolic extracts of *Euphorbia* and other ethnobotanical species as inhibitors of human tumour cell growth. **Phytomedicine**, **10**: 53-58.

Williams, G.M. 1989. Methods for evaluating chemical genotoxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **29**:189-211.

Wu, J.T., Chiang, Y.R., Huang, W.Y. and Jane, W.N. 2006. Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria. **Aquatic Toxicology**, **80**: 338-345.

Yen, G.C., Chen, H.Y. and Peng, H.H. 1997. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. **J. Agric. Food Chem.** **45**:30-34.

Yue, Z. and Shu, U. 1998. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Product**, **61**: 1053-1071

<http://www.roche.com> (Erişim Tarihi: 21.02.2005)

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Özlem Sultan ASLANTÜRK
Doğum Yeri ve Tarihi : Aydın-02.01.1977

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji
Öğretmenliği, 1995-2000
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, 2000-2003
Bildiği Yabancı Diller : Almanca ve İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

- SCI

Aşkın Çelik,T ve **Ö.S. Aslantürk**, “Investigation of Cytotoxic Genotoxic effects of *Ecballium elaterium* juice based on allium test,” *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, **31(9)**, 591-596 (2009).

Aslantürk, Ö.S ve T.Aşkın Çelik, “*Capparis spinosa* L. Aqueous Extract: Genotoxic and Antimutagenic Effects on the *Allium cepa* L. Root Tip Meristem Cells”, *Caryologia*, 62(2), 114-123 (2009).

Aşkın Çelik,T ve **Ö.S. Aslantürk**, “Cytotoxic and genotoxic effects of *Lavandula stoechas* aqueous extracts,” *Biologia*, 62(3), 292-296 (2007).

Aslantürk, Ö.S ve T.Aşkın Çelik, “Protective Effect of Lycopene on Ethyl Methane Sulfonate induced Chromosome Aberrations in *Allium cepa*,” *Caryologia*, 59(3), 220-225 (2006).

Aşkın Çelik,T ve **Ö.S.Aslantürk**, “Anti-mitotic and Anti-mutagenic Effects of *Plantago lanceolata* Aqueous Extract on *Allium cepa* Root Tip Meristem Cells,” *Biologia*, 61(6), 693-697 (2006).

- Diğer

Aslantürk, Ö.S ve T. Aşkın Çelik, “Preventive Effect of Lycopene on Chromosome Aberrations in *Allium cepa*,” *Pak. Journal of Biological Sciences*, 8(3),482-486 (2005).

b) Bildiriler

- Uluslar arası

Aşkın Çelik T., **Ö.S. Aslantürk** , D.A. Uygun, “Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Strawberry Trees, *Arbutus unedo* Fruits” , International Symposium on Food, Nutrition and Cancer, İzmir, 17/04/2008 (poster bildiri).

Aşkın Çelik T., **Ö.S. Aslantürk** , “Investigation of Antioxidant Activity in The Leaves of Some Edible Plants”, International Symposium on Food, Nutrition and Cancer, İzmir, 17/04/2008. (poster bildiri)

Aşkın Çelik T ve **Ö.S. Aslantürk**, “Cytotoxic and Genotoxic Effects of *Ecballium elaterium* Fruit Juice on Onion (*Allium Cepa* L) Root-Tip Cells,” 6th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, *Drugs of the Future*, Vol.32, Suppl.A. 59-60. İstanbul, 2007. (poster bildiri)

- Ulusal

Aşkın Çelik T., **Ö.S. Aslantürk**, “Lambda-Cyhalothrin ve Dimethoate Karışımının İnsan Periferik Kan Lenfositleri Üzerindeki Sitotoksik ve Genotoksik Etkisinin Araştırılması” IX. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı, S: 344, Nevşehir, 9/10/2009 (poster bildiri).

Aslantürk Ö.S., Aşkın Çelik T., “Bazı Pestisid Karışımlarının İnsan Periferik Kan Lenfositleri Üzerinde Oluşturduğu Sitotoksik ve Genotoksik Etkiye Karşı Likopenin Koruyucu Etkisinin Araştırılması” IX. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı, S: 299, Nevşehir, 9/10/2009 (poster bildiri).

Aslantürk Ö.S., Aşkın Çelik T., “*Vitex Agnus-Castus* Tohumlarının MCF-7 Meme Kanseri Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisinin Trypan Blue Exclusion ve Comet Assay Yöntemleri ile Araştırılması”, 7. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi, 30/05/2009 (sözlü bildiri).

Aslantürk Ö.S.,ve Aşkın Çelik T., “Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L) ve Elma Sirkesinin Saç Boyamasında Oksidasyon İşlemi İçin Kullanılan Hidrojen Peroksit’i Süpürücü Aktivitelerinin Belirlenmesi”,VIII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 21/10/2008 (poster bildiri).

Aşkın Çelik T., ve **Ö.S. Aslantürk**, “Lavanta (*Lavandula angustifolia* L) Sulu Ekstraktının Hidrojen Peroksit’i Süpürücü Aktivitesinin Belirlenmesi”, VIII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 21/10/2008. (poster bildiri).

Aşkın Çelik T., ve **Ö.S. Aslantürk** ,”*Inula viscosa* (L.) Aiton Yaprak Ekstraktının Antioksidan Aktivitesinin ve *Allium cepa* Kök Ucu Hücreleri Üzerindeki Genotoksik

ve Sitotoksik Aktivitesinin Araştırılması”,19.Ulusal Biyoloji Kongresi, 26/06/2008. (poster bildiri).

Aslantürk,Ö.S. ve T. Aşkın Çelik, “Kebere (*Capparis spinosa*)’nın Antimitotik ve Antimutagenik Aktivitesinin Allium Test ile Belirlenmesi,” 18.Ulusal Biyoloji Kongresi, Bildiri Özeti Kitabı, S:256, Kuşadası, 26/06/2006. (poster bildiri).

Aşkın Çelik, T. ve **Ö.S. Aslantürk**, “Karabaş Otu (*Lavandula stochas* L.)’nun in vitro Sitotoksik ve Genotoksik Aktivitesi,” 18.Ulusal Biyoloji Kongresi, Bildiri Özeti Kitabı, S:257, Kuşadası, 26/06/2006. (poster bildiri).

Aslantürk,Ö.S. ve T.Aşkın Çelik, “Likopenin Kromozom Hasarını Önleyici Etkisinin Araştırılması,” XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Bildiri Özeti Kitabı, S:35,Adana, 24/06/2004. (sözlü bildiri).

Aslantürk, Ö.S. ve T. Aşkın Çelik, “Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Kanser Arasındaki İlişki,” Klinik Biyokimya ve Kanser Sempozyumu, Bildiri Özeti Kitabı, S:112-113, Bursa, 26/09/2002. (poster bildiri).

a) Projeler

- Likopenin Kromozom Hasarlarını Değiştirici Etkisinin Araştırılması (FEF-02011) (Araştırmacı)

- Aydın Yöresi’nde Kullanılan Bazı Tıbbi Bitkilerin Antioksidant ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması (FEF-07011) (Araştırmacı)-Devam ediyor.

- Bazı Tıbbi Bitki Ekstraktlarının İnsan Kromozomları Üzerindeki in vitro Etkisinin Araştırılması (FEF-07014). (Araştırmacı)

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Araştırma Görevlisi 2001-

İLETİŞİM

E-posta Adresi : osaslanturk@adu.edu.tr, ozlemaslanturk@hotmail.com
Tarih