

***ALYSSUM FLORIBUNDUM* BİOSS. & BALANSA (BRASSICACEAE)
BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN FENOLİK YAPIDAKİ BİLEŞİKLERİN TAYİNİ
VE DU-145 HÜCRE HATTI ÜZERİNE SİTOTOKSİK ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MARIAM ALZAIM

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
EKİM-2019**

***ALYSSUM FLORIBUNDUM* BİOSS. & BALANSA (BRASSICACEAE)
BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN FENOLİK YAPIDAKİ BİLEŞİKLERİN TAYİNİ
VE DU-145 HÜCRE HATTI ÜZERİNE SİTOTOKSİK ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MARIAM ALZAIM

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU**

**MERSİN
EKİM-2019**

ONAY

Mariam ALZAIM tarafından Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU danışmanlığında hazırlanan “*Alyssum Floribundum* Bioss. & Balansa (Brassicaceae) Bitkisinden Elde Edilen Fenolik Yapıdaki Bileşiklerin Tayini ve DU-145 Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik Etkisinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Unvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU
Üye	Doç. Dr. Göktürk AVŞAR
Üye	Prof. Dr. Fatih Mehmet EMEN

Yukarıdaki jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarihi ve/..... sayılı kararlarıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cahit BİLİM
Enstitü Müdürü

Bu tezde özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak gösterilmeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

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

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

...../...../ 2019

İmza / Signature

Mariam ALZAIM
Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname

ÖZET

ALYSSUM FLORIBUNDUM BİOSS. & BALANSA (BRASSICACEAE) BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN FENOLİK YAPIDAKİ BİLEŞİKLERİN TAYİNİ VE DU-145 HÜCRE HATTI ÜZERİNE SİTOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Kanser, hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve anormal hücrelerin yayılması ile karakterize bir hastalıktır. Prostat kanseri erkeklerde en yaygın görülen kanser türüdür ve Türkiye’de erkeklerde kanserden ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Ülkemiz, farklı iklim ve ekolojik koşulları ile doğal tıbbi-aromatik bitkiler açısından oldukça zengindir. Brassicaceae familyası üyeleri fenolik asitler, flavonoidler ve vitaminler gibi çeşitli biyolojik aktif bileşikler içermektedir ve çeşitli kanser türlerinde tümör oluşumunu inhibe etme özellikleri vardır. Brassicaceae familyasından biri *Alyssum* cinsidir. *Alyssum L.* cinsi, Türkiye Florası’nın da büyük cinsleri arasında yer almakta ve 90 türle temsil edilmektedir. Bu çalışma ile *A. floribundum* bitkisine ait kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarına ait etanol özütlerinin toplam fenolik madde miktarı, kimyasal içeriğinin aydınlatılması ve sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Özütlerin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir, *A. floribundum* özütlerinin kimyasal içerikleri Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS) kullanılarak analiz edilmiştir ve elde edilen özütlerin DU-145 prostat kanser hücre hattı üzerinde sitotoksik etkisi xCELLigence yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Özütlerin toplam fenolik madde içeriği değerleri 1 g örnek başına sırasıyla kökte 12.6 ± 0.4 , gövdede 8.2 ± 0.1 , yaprakta 4.9 ± 0.5 , çiçekte 5.7 ± 0.55 mg gallik asit eşdeğeri olarak bulunmuştur. Elde edilen bileşikler, palmitik asit, linolenik asit, linoleik asit, elaidolinolenik asit, fitol, loliolide, 6-metil-2-fenil indol, neoftadien, skopoletin (kumarin), gama sitosterol, benzoik asit türevleri, yağ asitlerinin esterleri (palmitik asidin etil ester, stearik asit etil ester, linoleik asit etil ester, linolenik asit etil ester), alkanlar (ikozan, dikoza, tetrakozan, oktakoza, oktodekan, tetrakozan, heptadekan, heptakozan), alkenler (nonadeken, pentakos-3-en, 5- oktadeken) vb. olarak belirlenmiştir. DU-145 prostat kanser hücre hattına farklı konsantrasyonlarda uygulanan *A. floribundum*’un kök ve gövde özütlerinin 24. ve 48. saat sonundaki IC_{50} değerleri sırasıyla $IC_{50 \text{ kök}} = 192.1-157.4 \mu\text{g/mL}$, $IC_{50 \text{ gövde}} = 29.12- 26.72 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Alyssum Floribundum* Bioss. & Balansa (Brassicaceae), Fenolik Bileşikler, Folin Ciocalteu, GC/MS, DU-145 Prostat Kanseri Hücre Hattı, xCELLigence, Sitotoksik Etki.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU, Mersin Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

DETERMINATION OF COMPOUNDS IN PHENOLIC STRUCTURE OBTAINED FROM *ALYSSUM FLORIBUNDUM* BOISS. & BALANSA (BRASSICACEAE) PLANT AND INVESTIGATION OF THEIR CYTOTOXIC EFFECTS ON DU-145 CELL LINE

Cancer is a disease characterized by uncontrolled growth of cells and the spread of abnormal cells. Prostate cancer is the most common type of cancer in men and is the second leading cause of death in the Turkey. Our country is rich in natural medicinal-aromatic plants with different climate and ecological conditions. Members of the family of Brassicaceae; It is rich in various biological active compounds such as phenolic acids, flavonoids and vitamins in relation to antioxidant and anticancer properties as inhibiting tumor formation in various types of cancers. One of the Brassicaceae family is *Alyssum*. *Alyssum L.* genus, Located between the big genus in the Flora in Turkey and are represented of 90 species. The aim of this study was to determine the total phenolic content and cytotoxic effects of ethanol extracts of root, leaves, flowers and stem of extracts of *Alyssum Floribundum* Boiss & Balance plant. Total phenolic contents of these extracts were determined by using the Folin-Ciocalteu method and the cytotoxic effect of these extracts on the DU-145 prostate cancer cell line was evaluated using the xCELLigence method. The total phenolic content in one gram from the extract were in root, stem, leaves and flowers =12.6±0.4, 8.2±0.1, 4.9±0.5, 5.7±0.55 mg gallic acid, respectively. The main compounds of *A. floribundum* were analyzed using GC/MS. The resultant obtained compounds are determined like as palmitic acid, linoleic acid, linolenic acid, elaidolinolenik asit, phytol, loliolide, 6-methyl-2-phenyl indole, neoftadiene, scopoletin (coumarin), gamma-sitosterol, benzoic acid derivatives, fatty acid esters (stearic acid ethyl ester, linoleic acid ethyl ester, linolenic acid ethyl ester, ethyl palmitate), alkanes (icosane, dicosan, tetracosan, octacosan, octodecane, tetracosan, heptadecane, heptacosan, tetracosan), alkenes (nonadecene, pentacos-3-ene, 5- oktadecene) and etc.. IC₅₀ values were calculated from root and stem extracts of *A. floribundum* applied at different concentrations to the DU-145 prostate cancer cell line at 24 and 48 hours were determined as in the root, stem: IC_{50 Root}= 192.1-157.4 µg/mL, IC_{50 Stem}= 29.12-26.72 µg/mL, respectively.

Keywords: *Alyssum Floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae), Phenolic Compounds, Folin-Ciocalteu, GC/MS, DU-145 Prostat Cell Line, xCELLigence, Cytotoxic Effects.

Advisor: Asst. Prof. Pelin EROĞLU, Department of Chemistry, University of Mersin, Mersin.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca bilgi, destek, anlayış ve yardımlarını benden esirgemeyen ve bana daima yol gösteren, sabırlı, güzel kalpli değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU'na,

Bu çalışmada bitkinin, teşhis ve temin edilmesinde değerli zamanını ayıran ve kıymetli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Doç. Dr. Rıza BİNZET'e,

Tezimin deneysel çalışmalarında kıymetli bilgilerini ve deneyimlerini paylaşan ve sonuçların değerlendirilmesinde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Belgin GÖZMEN SÖNMEZ'e,

Tez çalışmamda sitotoksisite analizi konusunda yardımlarından dolayı Sayın Öğr. Gör. Derya YETKİN'e,

Tezimin istatistik çalışmalarını yapan ve bu konudaki bilgi ve tecrübelerini cömertçe paylaşan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu üyesi Sayın Öğr. Gör. Sema ERDEN'e,

Tez çalışmamda GC/MS analizi konusunda yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Birsen Ş. OKSAL'a,

Tez çalışmamda GC/MS analizi konusunda yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Hakan ARSLAN'a,

Tez çalışmamda bilgilerini, deneyimlerini ve önerilerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Safwan ASHOUR'e,

Mersin Üniversitesi kimya bölümü hocalarım, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına ve çalışma arkadaşlarıma,

Tezimle aynı adı taşıyan 2019-1-TP-3437 kodlu projeme maddi destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,

Ayrıca yaşamım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana güvenen ve bugünlere gelmemi sağlayan kardeşlerim ve anneme,

Her zaman her anımda umut veren, benim yolumu aydınlatan rahmetli babama,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY	i
ETİK BEYAN	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. Kanser	3
2.1.1. Prostat Kanseri	5
2.1.1.1. Prostat Kanserinin Epidemiyolojisi	5
2.1.1.2. Prostat Kanseri Risk Faktörleri	7
2.1.1.3. Prostat Kanserinin Tedavisi	9
2.1.1.4. Prostat Kanserinin Teşhisi	9
2.1.1.4.1. Prostata Özgü Antijen (PSA)	10
2.1.1.4.2. Prostat Kanserinin Histopatolojik Özellikleri	10
2.1.1.4.3. Gleason Derecelendirme Sistemi	12
2.1.1.4.4. Prostat Kanseri TNM Evrelendirmesi	13
2.2. Brassicaceae Familyası	14
2.2.1. <i>Alyssum</i> Cinsi	15
2.2.1.1. <i>Alyssum Floribundum</i> Bioss. & Balansa	15
2.2.1.1.1. <i>A. floribundum</i> Bitkisinin Morfolojisi	15
2.2.1.1.2. <i>A. floribundum</i> Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırması	16
2.2.2. <i>Brasica</i> Cinsine Ait Bitki Sağlıkla İlişkisi	16
2.2.2.1. <i>Brasica</i> Cinsine Ait Bitki Türleri ve Prostat Kanseri Arasındaki İlişki	17
2.2.2.2. <i>Brasica</i> Cinsine Ait Bitki Türleri ve Oksidatif Stres Arasında İlişki	18
2.3. Bitkilerdeki Metabolit Ürünleri	18
2.3.1. Birincil Metabolizma	18
2.3.2. İkincil Metabolizma	18
2.3.2.1. İkincil Metabolitlerin Biyosentezi	19
2.4. Fitokimyasallar	20
2.4.1. Fenolik Bileşikler	21
2.4.1.1. Fenolik Asitler	22
2.4.1.2. Flavonoidler	23
2.4.1.2.1. Antosiyanidinler	25
2.4.1.2.1.1. Proantosiyanidinler	25
2.4.1.2.2. Flavonler ve Flavonoller	26
2.4.1.2.3. Flavanonler	26
2.4.1.2.4. Kateşinler	27
2.4.1.2.5. İzoflavonlar	27
2.4.1.2.6. Kumarinler	28
2.4.1.2.6.1. Kumarinlerin Sınıflandırılması	29
2.5. Fitosteroller	30
2.5.1. Steroidler	30
2.5.1.1. β -Sitosterol	30
2.6. Fitokimyasal Bileşiklerde Sitotoksosite	31
2.7. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi (xCELLigence Sistemi)	32

	Sayfa
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER	35
3.1. Materyal	35
3.1.1. Bitki Materyali	35
3.1.2. DU-145 Prostat Kanseri Hücre Hattı	35
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	35
3.1.4. Kullanılan Sarf Malzemeler	37
3.2. Yöntemler	38
3.2.1. <i>A. floribundum</i> Bitkisinin Kurutulması ve Bitki Özütlerinin Hazırlanması	38
3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması	39
3.2.2.1. % 20'lik Sodyum Karbonat (Na ₂ CO ₃) Çözeltisi	39
3.2.2.2. Standart Gallik Asit Çözeltileri	39
3.2.3. Toplam Fenolik Bileşiklerin Tayini	40
3.2.4. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi ile Sitotoksosite Analizi	42
3.2.5. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) analizi	43
3.2.6. İstatistiksel Analizler	44
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	45
4.1. Bulgular	45
4.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini	45
4.1.2. GC-MS Analizlerine Ait Bulgular	46
4.1.2.1. <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütlerine Ait GC/MS Bulguları	46
4.1.2.2. <i>A. floribundum</i> Çiçek Özütlerine Ait GC/MS Bulguları	52
4.1.2.3. <i>A. floribundum</i> Kök Özütlerine Ait GC/MS Bulguları	56
4.1.2.4. <i>A. floribundum</i> Gövde Özütlerine Ait GC/MS Bulguları	59
4.1.3. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi (xCELLigence) ile Sitotoksosite ve Hücre Proliferasyon Analiz Bulguları	63
4.1.3.1. <i>A. floribundum</i> Kök Özütlerinin DU-145 Hücre Proliferasyonuna Etkisi	64
4.1.3.2. <i>A. floribundum</i> Gövde Özütlerinin DU-145 Hücre Proliferasyonuna Etkisi	65
4.1.3.3. <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütlerinin DU-145 Hücre Proliferasyonuna Etkisi	67
4.1.3.4. Sitotoksosite Testleri ve IC ₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi	68
4.2. Tartışma	78
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	85
5.1. Sonuçlar	85
5.2. Öneriler	86
KAYNAKLAR	87

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Yaşa Bağlı PSA Değerleri	10
Tablo 2.2. Gleason Derecelendirme Sistemi	12
Tablo 2.3. Prostat Kanseri TNM Evrelendirmesi	14
Tablo 2.4. Metabolit Ürünleri, Tanımı, Tipleri ve Metabolit Üreten Organizmalar	19
Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasallar	35
Tablo 3.2. Kullanılan Cihazlar	36
Tablo 3.3. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler	37
Tablo 3.4. Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Standart Çözeltiler (25-800 mg/L)	41
Tablo 4.1. <i>A. floribundum</i> Bitkisinin Gallik Asit Eşdeğeri Olan Toplam Fenolik Madde Miktarları	45
Tablo 4.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı Ortalama±SD	46
Tablo 4.3. <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütleri GC/MS Sonuçları	47
Tablo 4.4. <i>A. floribundum</i> Çiçek Özütleri GC/MS Sonuçları	52
Tablo 4.5. <i>A. floribundum</i> Kök Özütleri GC/MS Sonuçları	57
Tablo 4.6. <i>A. floribundum</i> Gövde Özütleri GC/MS Sonuçları	60
Tablo 4.7. 24. ve 48. Saat Sonundaki Farklı Konsantrasyonlarda Uygulanan <i>A. floribundum</i> Kök Özütünün DU-145 Hücre Hattı Üzerine Hücre İndeksi Değerleri ve p Değerleri	65
Tablo 4.8. DU-145 Hattı Üzerinde <i>A. floribundum</i> Kök Özütlerinin % İnhibisyon ve IC ₅₀ Değerleri	65
Tablo 4.9. 24. ve 48. Saat Sonundaki Farklı Konsantrasyonlarda Uygulanan <i>A. floribundum</i> Gövde Özütünün DU-145 Hücre Hattı Üzerine Hücre İndeksi Değerleri ve p Değerleri	66
Tablo 4.10. DU-145 Hattı üzerinde <i>A. floribundum</i> gövde özütlerinin % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	66
Tablo 4.11. 24. ve 48. Saat Sonundaki Farklı Konsantrasyonlarda Uygulanan <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütünün DU-145 Hücre Hattı Üzerine Hücre İndeksi Değerleri ve p Değerleri	67
Tablo 4.12. DU-145 Hücre Hattı Üzerinde <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütlerinin % İnhibisyon ve IC ₅₀ Değerleri	67
Tablo 4.13. <i>A. floribundum</i> Bitki Özütlerinin IC ₅₀ Değerleri	70
Tablo 4.14. Kök ve Gövde Arasında İstatistiksel Farklılıklar	76
Tablo 4.15. Farklı Konsantrasyonda Kök Özütleri Arasında Saatler Bakımından İstatistiksel Farklılık Çoklu Karşılaştırma (İndependent Kruskal Wallis -Test) Sonuçları	76
Tablo 4.16. Farklı Konsantrasyonda Kök Özütleri Arasında 24. Saat Bakımından İstatistiksel Farklılık Sonuçları	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kanser Oluşumu	4
Şekil 2.2. Normal Prostat Bezi ve Kanserli Prostat Bezi	5
Şekil 2.3. Dünya'daki Prostat Kanserinin İnsidansı	6
Şekil 2.4. Türkiye'de Sık Görülen Kanserlerin Bölgelere Göre Dağılımı	6
Şekil 2.5. Türkiye'de Erkeklerde 2015 Yılında En Sık Görülen İlk 10 Kanser Türü	6
Şekil 2.6. Prostat Kanseri İnsidansı	7
Şekil 2.7. Prostat Bezindeki Karsinom Hücrelerin Nükleol Belirginliği	11
Şekil 2.8. Adenokarsinomda Perinöral İnvazyon	12
Şekil 2.9. Prostat Kanserinde Gleason Derecelendirilmesi	13
Şekil 2.10. <i>Alyssum Floribundum</i> Boiss. & Balansa Bitkisi Bitkisinin Genel Görünüşü	16
Şekil 2.11. İkincil Metabolitlerin Başlıca Biyosentez Yolakları	20
Şekil 2.12. Fenolik Bileşiklerin Gruplandırılması	22
Şekil 2.13. Fenolik Asitlerin Türleri	22
Şekil 2.14. Flavonoid Bileşiklerin Genel Yapısı	23
Şekil 2.15. Farklı Flavonoid Grupları ve Bunlara Ait Bileşikler	23
Şekil 2.16. Flavonoid Bileşiklerin Sınıfları ve Genel Kimyasal Yapıları	23
Şekil 2.17. Antosiyaninlerin Türevlerinin Yapısı	25
Şekil 2.18. Proantosiyanidinlerin Genel Kimyasal Yapısı	26
Şekil 2.19. Flavonler ve Flavonollerin Türleri	26
Şekil 2.20. Flavanonların Genel Yapısı	27
Şekil 2.21. Kateşinlerin Genel Kimyasal Yapısı	27
Şekil 2.22. İzoflavonların Genel Kimyasal Yapısı	28
Şekil 2.23. Kumarin Biyosentetik Yolu	29
Şekil 2.24. Kumarinlerin Genel Kimyasal Yapısı	29
Şekil 2.25. β -Sitosterolun Genel Yapısı	30
Şekil 2.26. xCELLigence Cihazı ve Elektronik Sensör Analizörü ile Hücrelerin Elektrik Empedansının Ölçümü	33
Şekil 3.1. Kurutulmuş <i>Alyssum Floribundum</i> Bioss. & Balansa Bitkisi	38
Şekil 3.2. Soxshlet Yöntemiyle <i>A. floribundum</i> 'un Özütleme İşlemi.	38
Şekil 3.3. Evaporatör ile Bitki Özütlerinden Çözücünün Uzaklaştırması	39
Şekil 3.4. Konsantre Edilmiş ve Kurutulmuş <i>A. floribundum</i> Özütleri	39
Şekil 3.5. Folin -Cioceltau Reaktifi İle Fenolik Bileşenlerin Reaksiyonu	40
Şekil 3.6. Gallik Asit Standardı ile Oluşturulan Kalibrasyon Eğrisi	41
Şekil 3.7. Folin-Ciocaltue (FCR) ile Fenolik Madde Tayini Aşamaları	42
Şekil 3.8. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC/MS) Cihazı	44
Şekil 4.1. <i>A. floribundum</i> Bitkisinin Gallik Asit Eşdeğeri Olan Fenolik Madde Miktarları Düzeyleri	46
Şekil 4.2. <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütlerinin GC/MS Kromatogramı	47
Şekil 4.3. <i>A. floribundum</i> Çiçek Özütlerinin GC/MS Kromatogramı	52
Şekil 4.4. <i>A. floribundum</i> Kök Özütlerinin GC/MS Kromatogramı	57
Şekil 4.5. <i>A. floribundum</i> Gövde özütlerinin GC/MS kromatogramı	59
Şekil 4.6. Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan <i>A. floribundum</i> Kök Özütlerinin DU-145 Hücre Hatlarındaki 79 Saat Boyunca xCELLigence ile Hücre Canlılık Analizi	64
Şekil 4.7. Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan <i>A. floribundum</i> Gövde Özütlerinin DU-145 Hücre Hatlarındaki 79 Saat Boyunca xCELLigence ile Hücre Canlılık Analizi	66
Şekil 4.8. Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütlerinin DU-145 Hücre Hatlarındaki 79 Saat Boyunca xCELLigence ile Hücre Canlılık Analizi	67
Şekil 4.9. 24. ve 48. Saat Sonunda Graph Prizm Pad 8 Programından Elde Edilen <i>A. floribundum</i> Kök Özütlerinin Hazırlanan Farklı Konsantrasyonunun DU-145 Hücreleri Hattında IC ₅₀ Eğrileri	68

	Sayfa
Şekil 4.10. 24. ve 48. Saat Sonunda Graph Prizm Pad 8 Programından Elde Edilen <i>A. floribundum</i> Gövde Özütlerinin Hazırlanan Farklı Konsantrasyonunun DU-145 Hücreleri Hattında IC ₅₀ Eğrileri	69
Şekil 4.11. 24. ve 48. Saat Sonunda Graph Prizm Pad 8 Programından Elde Edilen <i>A. Floribundum</i> Yaprak Özütlerinin Hazırlanan Farklı Konsantrasyonunun Du-145 Hücreleri Hattında IC ₅₀ eğrileri	69
Şekil 4.12. <i>A. floribundum</i> Kök, Gövde ve yaprak Özütlerinin Gruplarının Farklı Zamanlarda IC ₅₀ Değerleri	70
Şekil 4.13. <i>A. floribundum</i> Kök Özütünün Farklı Konsantrasyonlarının DU-145 Hücre Üzerine Uygulandıktan 24. ve 48. Saat Sonundaki Hücre İndeksi Değerleri	71
Şekil 4.14. 20, 40, 80, 160 µg/mL Konsantrasyonları Arasında <i>A. floribundum</i> 'un Kök Özütüne Maruz Kalan DU-145 Hücre Hattının Nispi % İnhibisyon Değerleri	71
Şekil 4.15. <i>A. floribundum</i> Gövde Özütünün Farklı Konsantrasyonlarının DU-145 Hücre Üzerine Uygulandıktan 24. ve 48. Saat Sonundaki Hücre İndeksi Değerleri	72
Şekil 4.16. 20, 40, 80, 160 µg/mL Konsantrasyonları Arasında <i>A. floribundum</i> 'un Gövde Özütüne Maruz Kalan DU-145 Hücre Hattının Nispi % İnhibisyon	72
Şekil 4.17. <i>A. floribundum</i> 'un Doz Gruplarının Farklı Zamanlarda Hücre İndeksi Karşılaştırması	73
Şekil 4.18. Farklı Konsantrasyonlardaki <i>A. floribundum</i> Kök ve Gövde Özütleri 24. ve 48. Saat Sonundaki % İnhibisyon Değerleri Muamaele Edilen DU-145 Hücrelerinin İnhibisyonunu Etkisi	73
Şekil 4.19. <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütlerinin Konsantrasyonu Doz Gruplarının Hücre İndeksi Karşılaştırması	74
Şekil 4.20. 20, 40, 80, 160 µM Konsantrasyonları Arasında <i>A. floribundum</i> Yaprak Özütüne Maruz Kalan DU-145 Hücre Hattının Nispi % İnhibisyon	74
Şekil 4.21. <i>A. floribundum</i> Gövde Özütünün Farklı Konsantrasyonlarının DU-145 Hücre Üzerine Uygulandıktan 24. ve 48. Saat Sonundaki Hücre İndeksi Değerleri	75
Şekil 4.22. Farklı Zamanlarda <i>A. floribundum</i> Bitkinin Özütlerinin Hücre İndeksi Düzeyleri	75
Şekil 4.23. Farklı Konsantrasyonda Kök Özütleri Arasında İstatistiksel Farklılık Çoklu Karşılaştırma (Kruskal Wallis) Sonuçları	76

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma/Simge	Tanım
BH	Bazal Hücre
dH ₂ O	Distile Su
DMEM	Eagle's Minimal Essential Medium (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DU-145	Prostat Kanseri Hücre Hattı
EtOH	Etanol
FCR	Folin-Ciocalteu Reaktifi
GAE	Gallik Asit
Gr	Gram
GC/MS	Gaz Kromatografisi ve Kütle Spektroskopisi
GST-π	Glutasyon-S-Transferaz-Pi
IC ₅₀	Hücrelerin Yarisını İnhibe Eden Doz Değeri
MCF-7	Meme Kanseri Hücre Hattı
MEITAM	Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi
mL	Mililitre
MİK	Minimum İnhibisyon Konsatrasyonu
MTT	3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide, MTT, Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
PBS	Fosfat Tuz Tamponu
PSA	Prostat Specifik Antijen
PİN	Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
RNOS	Reaktif Nitrojen Oksit Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Enstitünde Üretilen 1640 Serili Besiyeri
RTCA	Gerçek Zamanlı Hücre Analizi (Real Time Cell Analysis)
SOD	Süperoksit Dismutaz
TCA	<i>Trikarboksilik Asit</i> Döngüsü
UV	Ultra Viyole
WST-1	Hücre Proliferasyonu ve Canlılık Ajanı
XTT	2,3-Bis[2-Metoksi-4-Nitro-5-Sülfofenil]-2H-Tetrazolium-5-Aboksanilit Tuzu
%	Yüzde Oranı
% İn	Yüzde Hücre İnhibisyon Oranı
β	Beta
°C	Santigrat Derece
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolarite

1. GİRİŞ

Kanser, anormal hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve yayılması ile karakterize bir hastalıktır. Mitoz bölünme; çok hücrelilerde büyüme, gelişme ve yaraların onarımını sağlar. Normal hücrenin çoğalmasında, büyümeyi teşvik eden ve büyümeyi engelleyen sinyaller arasında kontrollü bir denge vardır. Bu işlem sırasında hücrelerin farklılaşması düzenli bir şekilde gerçekleşir ve artık gerekli olmadığına çoğalma durmaktadır. Tümör hücrelerinde ise bu süreç bozulur, hücre çoğalması devam eder, hücrede farklılaşma kaybı gözlenebilir ve normal programlanmış hücre ölüm süreci bozulur. Kanserler, mutasyon geçiren tek bir hücreden kaynaklanır. Bu şekilde tanımlanan genlerdeki mutasyonlar diğer hücrelere oranla daha fazla büyür. İlk mutasyon, hücrelerin genetik olarak homojen bir klon üretmesi için bölünmesine neden olacaktır. Bunun karşılığında ise hücrelerin büyüme potansiyelini daha da arttıran ek mutasyonlar meydana gelmektedir. Bu mutasyonlar, tümör içinde her biri farklı özelliklere sahip olan alt klonlara yol açar [1].

Antik çağlardan bugüne kadar, pek çok insan bitkilerle ilgilenmiştir. Bitkilerin çeşitliliği, düşük maliyeti ve bitkilerin kimyasal madde içermemesi doğal bir ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılmasına sebep olmaktadır [2]. Ayrıca bitkiler karbonhidrat, protein, yağ, mineral madde ve vitaminler gibi besin bileşenleri için oldukça önemli kaynaktır [3]. Bunlara ek olarak bitkilerin kimyasal bileşiminde bulunan fitokimyasallar gibi bazı maddelerin sağlık açısından faydaları son zamanlarda oldukça ilgi çekmektedir [4]. Bitki kimyasalları antikanser etkilerini karsinojen inaktivasyonu, antiproliferasyon, hücre döngüsünün askıya alınması, apoptoz ve farklılaşmanın indüksiyonu, anjiyogenezin baskılanması gibi mekanizmalar ile göstermektedir [5, 6]. Bitkilerdeki fenolik bileşikler, serbest radikal süpürücü olarak rol oynamaktadır [7]. Fenolik bileşikler doğal antioksidan özelliğe sahiptir [8]. Bitkilerdeki fenolik bileşikler sekonder metabolizma sonucu oluşmaktadır ve bu bileşikler kanser hücrelerinin büyümesini inhibe edici özelliğe sahiptir [8, 9]. Farklı mekanizmalarla hücre büyümesi üzerine sitotoksik etkisiye sahip oldukları pek çok çalışmada gösterilmiştir. Bunu deoksiribonükleik asit (DNA) ipliklerini kırarak, proteinleri bozarak, mitozun metafaz safhasında iğ ipliğini keserek ya da hücreyi programlanmış ölüme (apoptozise) yönlendirerek yapmaktadır [7]. Gıdadan alınmış fenolik bileşikler insan yaşamında önemli bir rol oynamaktadır. Fenolik bileşiklerdeki hidroksil grupları aktif radikalleri baskılamak için hidrojen ya da elektron vererek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Zararlı etkiye sahip serbest radikallerin oksijen (ROT) ve azotlu formları (NOT) mitokondriyal membranda gerçekleşen solunum oksidasyon zinciri tarafından üretilmektedir. Serbest radikallere iç ya da dış kirlenmelerden örneğin; sigara, araba egzozları, alkol, radyasyon ve çeşitli kimyasallar neden olabilmektedir [8, 10]. Fenolik bileşikler serbest radikallerin dengesi üzerine önemli bir role sahiptir. Serbest radikallerin seviyesinin artması vücudun iç dengesinin

bozulmasına yol açmaktadır. Oksidatif hasar hücrelerdeki protein, lipit ve DNA oksidasyonuna neden olabilmektedir. Bunun sonucunda diyabet, alzheimer, artrit, nörolojik bozukluklar ve çeşitli kanser türlerine sebep olmaktadır [8].

Dünyadaki Brassicaceae familyasında 350 cins ve 4000 tür bulunmaktadır. Türkiye’de bunlardan sadece 85 cins ve 515 tür yayılım göstermektedir [4]. Brassicaceae familyasına ait *Alyssum*, *Thlaspi*, *Crambe*, *Sinapis* ve *Brassica* gibi pek çok cins bulunmaktadır. Dünya çapında *Alyssum* cinsi üç kısma ve iki alt kısma ayrılmış olup toplam 517 tür içermektedir. Türkiyede ise *Alyssum* cinsi beş kısma ayrılmıştır ve toplam 89 tür içermektedir [11].

Brassicaceae familyasına ait türler genellikle polifenoller bakımından zengindir. *B. rapa* ve *B. oleracea L. var. botrytis* yüksek miktarda fenolik bileşik içerirler. Bugüne kadar 5000’in üzerinde farklı flavonoid tanımlanmıştır ve bunlar en az 10 kimyasal gruba ayrılmıştır. Diyet ile alınan gıdalarda flavonlar, flavonoller, flavanonlar, antosiyaninler ve izoflavonlar bulunur. Polifenoller insan vücudunda endojen antioksidan enzimleri koruyarak dolaylı bir antioksidan etki gösterebilmektedir. Bu nedenle, polifenoller gibi antioksidan özelliklere sahip olan maddeler, oksidatif stres ve DNA hasarına bağlı kronik dejeneratif hastalıkların tedavisinde varsayılan önleyiciler ve yardımcı maddeler olarak ortaya çıkarlar. Ayrıca bu fitoaleksinler, insan kanser hücrelerinin büyümesini inhibe eder ve bu nedenle kemopreventif ajanlar olarak potansiyel bir kullanımı olabilir. Yapılan çalışmalar, bu fenollerin farklı tümörler üzerinde sitotoksik etkileri olduğunu göstermiştir. Bu bileşikler, çalışma mekanizmalarını apoptozis yoluyla gerçekleştirirler. Flavonoidler, bitki fenoliklerinin yaygın olarak bulunan gruplarından biridir. Bu bileşikler biyolojik aktivitelere sahip olduklarından dolayı, düşük dozlarda kanser önlemesine bağlı tıbbi tedavilerde kullanılmakta ve oksidatif hasarın inhibisyonu dahil olmak üzere kardiyovasküler sistem koruması da sağlamaktadır. Bununla birlikte, daha yüksek dozlarda flavonoidler, mutajenler, serbest radikalleri üreten prooksidanlar ve hormon metabolizmasında yer alan anahtar enzimlerin inhibitörleri olarak görev yapabilirler [12].

Bu çalışma ile *Alyssum floribundum* Bioss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisinin çeşitli kısımlarından (kök, gövde, yaprak, çiçek) hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki özütlerin toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi, özütlerdeki bileşiklerin kimyasal yapılarının aydınlatılması ve DU-145 prostat kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Kanser

Kanser dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biridir [13]. Kontrolsüz hücre gelişminden kaynaklanan anormal doku kitlesi “tümör” olarak adlandırılmaktadır. Vücutta birçok olumsuz etkilere neden olabilmektedir [14]. Tümörler davranışına göre benign veya malign olarak iki ana gruba ayrılabilir:

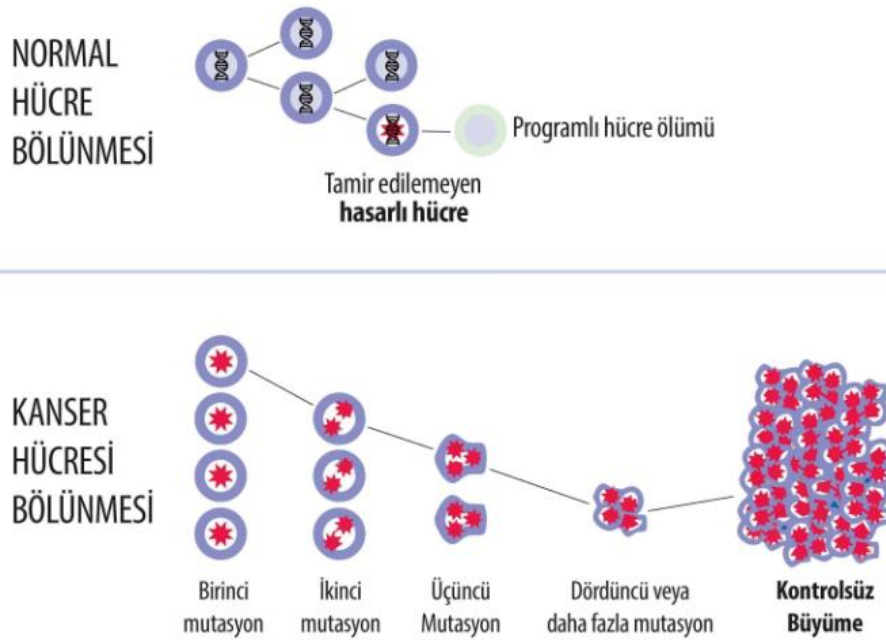
1- Benign: İyi huylu, lokalize, yayılım göstermeyen tümörlerdir. Benign tümörler ara sıra hayatı tehdit ederler, büyüklüklerini sınırlayan ve temel hücrenin karakteristiğini muhafaza eden iyi tanımlanmış bir kapsülde büyürler ve bu nedenle genellikle iyi bir şekilde ayırt edilirler [1].

2- Malign: Kötü huylu, komşu dokulara yayılıp onlara hasar veren, dolaşıma geçerek uzak bölgelere yayılan tümörlerdir. Çoğu zaman yaşamı tehdit ederler [1]. Malign ilerlemesinde ortaya çıkan temel özellikler şunlardır; büyüme sinyalizasyonunda kendi kendine yetme, büyüme karşıtı sinyallere duyarsızlık, apoptozdan kaçma, sınırsız replikasyon potansiyeli, sürekli devam eden anjiyogenez ile doku invazyonu ve metastaz yeteneklerini kazandırdıkları düşünülmektedir [15].

Normalde hücre bölünmesi DNA tarafından kontrol edilmektedir. Hücredeki çoğalma ve programlı ölüm arasında bir denge vardır. DNA'nın bu sıkı kontrolü, hücre sayısında bir denge meydana getirmektedir. DNA'da herhangi bir kusur, hata veya azotlu bazların seviyesinde mutasyon olursa, örneğin; DNA üzerinde oluşan oksidatif hasar normal hücrelerde kontrol sistemi tarafından onarılmaktadır veya normal hücre kendisini apoptozise yönlendirmektedir. Bu bahsedilen kontrol sistemindeki herhangi bir dengesizlik, hücrenin, hızlı bölünmesi, çoğalmanın belirli bir alanında kontrolsüz olması, tümör olduğunu göstermektedir [16]. Bu tümör çevredeki dokulara baskı yapacak diğer sorunlara da yol açmaktadır. Malign tümörler komşu dokuları istila etmektedir. Bu kanser hücreleri başka dokulara ve organlara kan damarları ve lenf kanalları yoluyla taşınmaktadır. Böylece vücuda kanser yayılmaktadır. Kanser hücrelerinin büyümesi, görünüş, büyüme hızı ve etrafındaki kılcal damarların büyümesi açısından normal hücrelerin büyümesinden farklıdır [16].

Kanser, başka bir tanımla tümör süpressör genlerin etkinleştirmemesi ve onkogenlerin etkinleştirmesi sonucu oluşan bir genetik hastalıktır [17]. Tümör hücreleri, bağ dokusu hücrelerini uyararak anjiyogenez özelliği taşıyabilmektedir [18]. Anjiyogenez, katı tümörlerin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır [19]. Genom kararsızlığına yol açan genetik olaylar hücre regülasyonlarının, özellikle tüm kanser hücrelerinde gözlenen onkogenlerin ve tümör baskılayıcıların fonksiyonlarının kaybına neden olur. Tümör proteini p53, insan tümörlerinin yüzde elliden fazlasında mutasyona uğramış olan tümör baskılayıcı gen TP53 tarafından kodlanır. Bu mutasyonlar tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonunun kaybına yol açmaktadır. Kanser

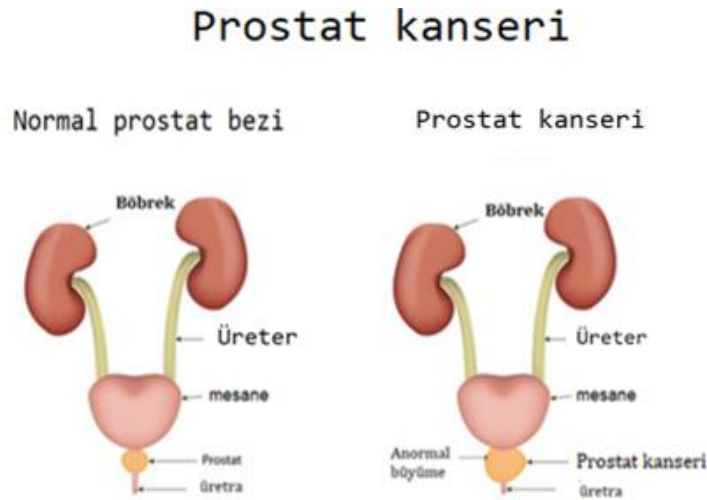
hücrelerinin işlev bozukluğu hem bu hücrelere özgü olaylara hem de çevrelerinden normal hücreler tarafından üretilen sinyallerin tepkilerine bağlıdır. Bazı durumlarda normal hücreler bile neoplazi ile iş birliği yapabilmektedir. Enflamatuar immün hücreler, proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinler, büyüme faktörlerini, matris-tadilat proteinlerini, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve reaktif nitrojen türlerini (RNS) salgılamaktadır. Her ne kadar RNOS, hücre çoğalması, hücre ölümü ve enfeksiyonla mücadele gibi çeşitli biyolojik süreçlere aktif olarak katılsa da, aşırı RNS seviyeleri hücre de makromoleküler bileşenlere zarar vermektedir. Bu nedenle onkojenezi teşvik etmektedir. DNA lezyonları ya RNS bazları değiştirdiğinde doğrudan doğruya ya da dolaylı olarak lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Sonundaki oluşan ürünler DNA ile reaksiyona girmektedir. Hata payı olmayan onarım mekanizmalarının mutasyonlara yol açarak onları yok etmediği durumlarda DNA lezyonları genotoksik olabilmektedir (Şekil 2.1). Klinik ve epidemiyolojik araştırmalar, hem endojen hem de ekzojen faktörlerden dolayı kanser etiolojisinde RNS'un rolünü destekleyen kanıtlar elde etmiştir. Ayrıca, kanser hücreleri, sürekli oksidatif stres altındadır [20]. Sonuç olarak mutajenite kanser gelişiminin hem başlangıç hem de gelişme evresinde rol oynamaktadır [21].



Şekil 2.1. Kanser oluşumu [22].

2.1.1. Prostat Kanseri

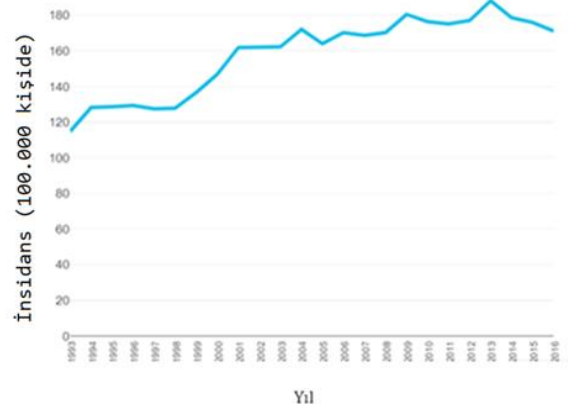
Prostat, erkeklerde idrar torbasının (mesanenin) altında yer alan ceviz büyüklüğünde ekzokrin bir salgı bezidir. Prostat bezi kollajen, elastin ve yoğun düz kas yapısından oluşmuş bir kapsül ile çevrilidir. Prostat bezinin görevi alkali özellikteki seminal sıvının (pH 7,9) depolanması ve salınımının sağlanmasıdır. Seminal sıvı; basit şekerler, çinko, kalsiyum, sitrat iyonları, proteolitik enzimler, prostatik asit fosfataz ve prostata özgü antijen (prostat spesifik antijen, PSA) içermektedir. PSA, erkeklerde prostat bezinden yani, prostatın kanallarını döşeyen ve içini oluşturan hücrelerden salgılanır. PSA, büyük ölçüde prostata özgü bir enzimdir ancak çok düşük miktarlarda pankreas ve tükürük bezlerinden de salgılanır. PSA'nın spermdeki konsantrasyonu kandaki seviyesinin milyon katı kadardır. PSA'nın kanda yükselmesi prostat kanseri açısından önemlidir, ancak PSA yükselmesi sadece prostat kanserine özgü değildir. Prostatın iyi huylu büyümelerinde, prostat iltihaplarında da PSA yükselebilmektedir [23]. Prostat kanseri, vücuttaki diğer kanserlerde olduğu gibi, prostat içindeki hücrelerin anormal büyümesi sonucu oluşan bir hastalıktır (Şekil 2.2). Prostat kanserinin nedenleri hakkında çok az şey bilinmektedir; sadece yaş, genetik faktörler, ırk ve aile öyküsü belirlenmiş risk faktörleridir [23].



Şekil 2.2. Normal prostat bezi ve kanserli prostat bezi [24].

2.1.1.1. Prostat Kanserinin Epidemiyolojisi

Dünyada erkeklerde en sık görülen kanser türü akciğer, prostat, kolorektal, mide ve karaciğer kanseridir [25]. Dünyada yıldan yıla prostat kanseri insidansı artmaktadır (Şekil 2.3).

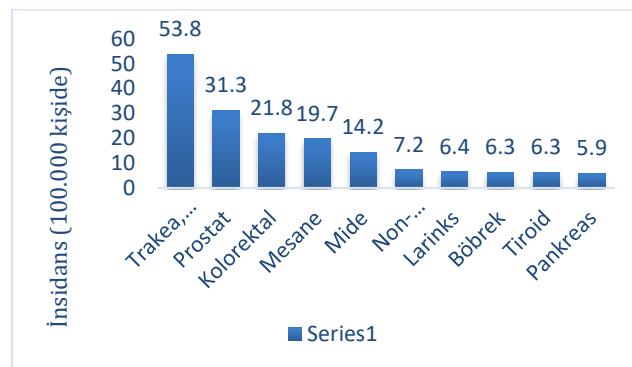


Şekil 2.3. Dünya'daki prostat kanserinin insidansı [26].

Şekil 2.4 ve Şekil 2.5'te verilen 2015 yıllara ait verilere göre Türkiye'de ise en sık görülen kanser türleri akciğer, prostat, kolorektal, mesane ve mide kanseridir [25].



Şekil 2.4. Türkiye'de sık görülen kanserlerin bölgelere göre dağılımı [27].



Şekil 2.5. Türkiye'de erkeklerde 2015 yılında en sık görülen ilk 10 kanser türü [25].

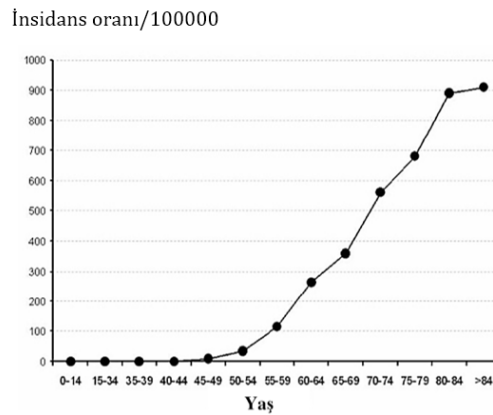
ABD'de ikinci en önemli ölüm nedeni, akciğer kanserinden sonra prostat kanseri gelmektedir [16]. Prostat kanseri, kansere bağlı ölümlerin % 9'undan sorumludur [28]. 1980'li yılların sonunda ve 1990'lı yılların başında, prostat kanseri için insidans oranları, büyük ölçüde artmıştır. İrlanda'da, yıllık melanom olmayan deri kanserinden sonra erkeklerde en sık görülen kanser türü, 3267 vaka teşhisiyle prostat kanseridir. 2011 yılında, prostat kanseri 563 ölüm ile İrlandalı erkeklerin kanserden ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almıştır [29].

2011'de prostat kanseri olan 240890 erkekten 33893'ü ölmüştür. Prostat kanserinin nedenleri hala tam olarak bilinmemektedir [16]. ABD'de 2018'de tahmini 164.690 yeni prostat vakası rapor edilmiştir [29]. Prostat kanseri için dünya ortalaması yüz binde 28'lerde, Avrupa ortalaması yüz binde 60'larda, Türkiye ortalaması ise yüz binde 37'lerdedir. Bu bağlamda her yıl yaklaşık 14 000 yeni vaka görülmektedir [30].

2.1.1.2. Prostat Kanseri Risk Faktörleri

Prostat kanserinin % 58'i kalıtsal riskle açıklanabilirken, diğer risk faktörleri arasında yaş, ırk, genetik faktörler, idrar yolu enfeksiyonları, sigara, diyet ve yaşam tarzı gibi pek çok faktör sayılabilmektedir. Aynı zamanda prostat karsinogenezi enflamasyon, oksidatif hasar, epigenetik değişiklikler, telomer kısalması ve genomik değişiklikleride içermektedir. Yapılan çalışmalar genetik ve çevresel risk faktörlerinin birlikte rol oynadığına işaret etmektedir [29]. Prostat nedenleri ve risk faktörleri şu şekilde sıralanabilir;

- 1- Yaş: Yaşları 50'nin üzerinde olan kişilerin prostat kanseri olma oranı % 30'dur. Yaşları 80'in üzerinde olan kişilerde ise bu oran %50'dir (Şekil 2.6) [16, 31]. Prostat kanseri esas olarak yaşlı erkeklerde görülme oranı daha yüksektir. Prostat kanserine özgü ölümlerin % 70'i 75 yaş ve üzeri erkeklerde meydana gelmektedir [23, 29].



Şekil 2.6. Prostat kanseri insidansı [31].

- 2- Irk: Farklı etnik gruplarda prostat kanseri insidansı oranlarında büyük bir fark vardır. En düşük insidans oranları Asyalı erkeklerde, yani Hindistan, Çin ve Japonya'da gözlenmektedir. Afrika kökenli Amerikalı erkeklerin ise en yüksek riske sahip olduğu belirlenmiştir [23].
- 3- Genetik faktörler: Kalıtsal çalışmalar, güçlü ailesel yatkınlığın, prostat kanserlerinin % 5-10'undan sorumlu tutulabilmektedir. Artmış risk Lynch sendromu, BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları arasında kalıtsal durumlar ile ilişkilendirilmiştir [29]. Prostat kanserinde sıklıkla görülen genomik sapmalar şu şekilde sıralanabilir; androjen reseptör (AR) geninde Xq11 lokalizasyonunda amplifikasyon veya mutasyon, TMPRSS2-ERG geninde kromozom 21 lokalizasyonunda gen füzyonu ya da translokasyonları, NKX3.1 geninde ise 8p21 lokalizasyonunda delesyon ya da inaktivasyonu, PTEN geninde 10q23 lokalizasyonunda mutasyon ve delesyon, c-Myc, PSCA, eIF3-p40 geninde 8q24, 8q24,3, 8q23 lokalizasyonunda amplifikasyon, TP53 geninde 17p31 lokalizasyonunda mutasyon ve delesyon, CHD1 geninde 5q21 lokalizasyonunda delesyon, RB1 geninde 13q14 lokalizasyonunda delesyon, FOXA1 geninde 6q21 lokalizasyonunda mutasyon ve delesyon, NCOA2 geninde 8q13 lokalizasyonunda amplifikasyon ve mutasyon, N-Myc geninde 2p24 lokalizasyonunda amplifikasyon, Aurora-kinaz A (AURKA) geninde 20q13 lokalizasyonunda amplifikasyon görünmüştür ve en sonunda genomik düzensizlik tespit etmiştir [32]. 91 prostat kanseri ailesinin genom taraması, kalıtsal prostat kanseri 1 veya HPC1 olarak bilinen 1q24 kromozomunda bir duyarlılık lokusu tespit edilmiştir.
- 4- Fiziksel aktivite: Fiziksel aktivitenin ilerlemiş prostat kanseri riskinin azalması ile ilişkili olduğunu ileri sürülmüştür. Bu rapor, “sağlıklı bir kiloyu teşvik eden fiziksel aktivitenin, kilo alımı veya obezite ile artan kansere karşı büyük olasılıkla koruyacağı” sonucuna varmıştır. Prostat kanseri riski ile fiziksel aktivite arasındaki muhtemel ilişkinin diğer potansiyel açıklaması ise dolaşımdaki hormonlar, örneğin; testosteron ve insülin, azaltılmış inflamasyon (IL-6) ve oksidatif strese karşı koruyan süperoksit dismutaz üretiminin artmasını içerir [23].
- 5- D vitamini: D vitamini düzeyinin prostat kanseri insidansında bir rol oynaması potansiyeldir. D vitamini seviyeleri farklı hücre tiplerinin farklılaşmasını teşvik ettiği bilindiği gibi anormal hücre proliferasyonunda inhibe ettiği belirlenmiştir. Büyük ölçüde güneş ışığına maruz kalmaya; daha az ölçüde ise diyetle ve takviyelere bağlıdır. D vitamini sentezini inhibe eden pigment özellikleri de eklenmiştir; Koyu ten ve kolayca bronzlaşma kabiliyetinin prostat kanseri ile pozitif olarak ilişkili olduğu bulunmuştur. Yaş ve etnik

köken gibi daha önce bahsedilen bilinen risk faktörlerinden bazıları, D vitamini sentezinin azalmasıyla bağlı olabilmektedir [23].

6- İnflamasyon: Enflamatuvar sürecin diğer bazı tümörlerde olduğu gibi, prostatik karsinogenezde de önemli bir yeri olduğunu düşündüren bilimsel veriler mevcuttur. Buna göre enfeksiyona bir cevap olarak dokuda reaktif oksijen ve nitrojen türleri oluşmakta ve bunlar hücrelerde DNA hasarına yol açmaktadırlar. Hücrelerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini değiştiren mutasyonlar ile sonuçlanan bu hasara bağlı olarak karsinogenezin başlangıç süreci ortaya çıkabilmektedir. Sonuçta, enflamatuvar süreci tetikleyen ve sürdüren koşullar prostatik karsinogenez açısından çok önemli olabilirler [33]. Prostatta enflamasyonun, prostat kanseri ilerlemesini, prostatit Hi-Myc fare modelinde prostatik mikroçevrenin değişmesiyle hızlandırdığı görülmüştür. Başka bir çalışma, bakteriyel prostatin sıçan prostatında 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-b] piridin (PhIP) ile indüklenmiş preinvaziv lezyonları hızlandırdığını göstermiştir [34]. Bu çalışmalar ve diğerleri prostat kanserinde inflamasyonun oynadığı önemli rolü vurgulamaktadır [29].

7- Sigara: Sigara kullanımı, bazı erkeklerde prostat kanseri riskini arttırabilmektedir [29].

2.1.1.3. Prostat Kanserinin Tedavisi

Gelişmiş ülkelerin gelişimine paralel olarak kanser oranında artmıştır [13]. Tanı konulduktan sonra, kansere karşı radyoterapi, kemoterapi, cerrahi tedavi, radikal prostatektomi, hormonal terapi, androjen yoksunluğu tedavileri (ADT) ve immünoterapi tedavisi ve yöntemleri kullanılmaktadır [13].

2.1.1.4. Prostat Kanserinin Teşhisi

Erken evredeki prostat kanseri genellikle hiçbir semptom göstermez [29]. Kanser birçok histopatolojik özelliklere ve biyokimyasal anormalliklere neden olabilir. Bu nedenle tanısal bir klinik biyokimya servisi, hastaların izlenmesi, bakımı ve tedavilerinin yönlendirilmesinde geniş bir role sahiptir [14].

Prostat kanserinin teşhisi tipik olarak hastaların kanında saptanan yüksek oranda prostat spesifik antijen (PSA) seviyeleri ile olur. Tanı, biyopsi ve bunu takip eden Gleason skorlaması olarak bilinen biyopsinin histopatolojik derecelendirmesi ile en yaygın yapısal hücre temelinde tümörleri 1'den 5'e kadar sınıflandırarak doğrular. Teşhis sırasında tümörün, lenf düğümün ve

metastazın (TNM) evrelendirilmesinden başlar. Yani kanserin lokalize olandan tamamen invaziv olana kadar teşhisi gerçekleştirilir [29].

2.1.1.4.1. Prostata Özgü Antijen (PSA)

Prostat kanserine sahip olan erkeklerin kan akımında yüksek seviyede immünoglobulinin (PSA) salgılanır. PSA, prostat kanserinin erken teşhisinde kullanılan bir parametredir [35]. Tablo (2.1)'de yaşa bağlı total PSA referans aralığı gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Yaşa bağlı PSA değerleri [36].

Yaş Ağırlığı	Total PSA (ng/mL)	Kompleks PSA (ng/mL)	Serbest PSA (ng/mL)	Serbest/Total PSA
40-49	2.0	1.0	0.5	0.15
50-59	3.0	1.5	0.7	0.15
60-69	4.0	2.0	1.0	0.15
70-79	5.5	3.0	1.2	0.15

2.1.1.4.2. Prostat Kanserinin Histopatolojik Özellikleri

Prostat adenokarsinomunun öncüsü olduğu kabul edilen lezyon PİN dir. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) prekürsör lezyon olarak önce intraduktal displazi olarak tanımlanmış, daha sonra 3 kademeli grade verilerek, düşükten yükseğe doğru PİN 1, PİN 2 ve PİN 3 şeklinde sınıflandırılmıştır. Bugün ise iki kademeli olarak düşük ve yüksek grade PİN terimleri kullanılmaktadır. Histolojik olarak düşük grade PİN hiperkromazi ile dikkati çeker ancak büyük büyütmede sitolojik atipi ya da belirgin çekirdekçik göstermez. Düşük grade PİN, büyük oranda "interobserver variability" gösterdiğinden ve klinik önemi konusunda bir konsensus olmadığından patoloji raporunda yer alması şart değildir. Yüksek grade PİN ise, stromal invazyon göstermeyen, bazal hücre (BH) tabakası korunmuş benign bezlerde küçük büyütmede nükleer hiperkromazi ile dikkati çeken ve daha büyük büyütmede sitolojik atipi ve belirgin çekirdekçik gösteren proliferatif lezyondur. Histolojik olarak PİN varyantları tanımlanmış olsa da bugün için bunun bilinen bir prognostik önemi yoktur [37].

Prostatik adenokarsinomun makroskopik olarak tanınması zordur [38]. Prostat adenokarsinomları multifokal nitelikte olup, özellikle periferel zonlarda yerleşim gösterirler [38]. Prostat adenokarsinom tanısı için gerekli sitolojik bulgular:

1- Makroskopik olarak izlenebilen tümörler en az 5 mm çapında [38].

2- Sarı-beyaz görünümde olur [38].

3- Stromadaki dezmoplazi nedeniyle sert kıvamdadır [38]. Dezmoplazi; tümör olgularında biçimlenen kan damarları, ödem ve yangı hücreleri içeren bağ doku artışı, tümörlerde oluşan fibroplazi [39].

4- Bazı tümörler ise süngerimsi prostat dokusu içinde sarı renkli granüler lezyonla şeklinde izlenir [38].

5- Belirgin nükleer atipinin izlendiği küçük bezler [38].

6- Asinilerde bazal hücre tabakasının izlenmemesi ile karakterize olup çevredeki basık stromal hücreler, bazal hücreleri taklit edebilir. Bazal hücre kaybı ve nükleer atipi, prostatik adenokarsinomun mikroskopik tanısında bir diğer önemli kriterdir [38].

7- Nükleer irileşme ve nükleol belirginleşmesi ile karakterizedir. Karsinom hücrelerinde nükleusta büyüme ve nükleol belirginliği gözlenir (Şekil 2.7) [38].

Prostat adenokarsinom tanısı için gerekli histolojik yapısal bulgular:

1- Karsinomatöz asinerlerin düzensiz şekilde infiltrasyon göstermesi [38].

2- Asinilerin stromada kas liflerini yararak infiltrasyon göstermesi [38].

3- Asinilerin birbirlerine olan mesafenin değişken olması [38].

4- Stromada genç kollajen liflerin artması [38].

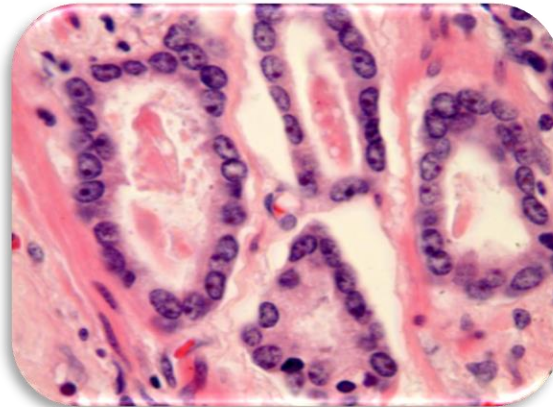
5- Stromada bazen dezmoplazinin olması [38].

6- Adenokarsinomda perinöral invazyon (Şekil 2.8) [38].

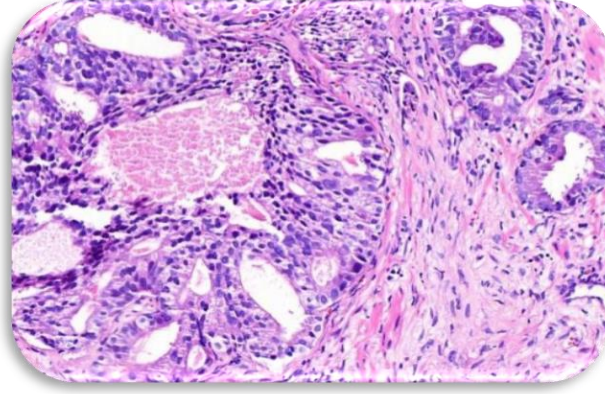
7- Asini lümenlerinde musin bulunması [38].

8- Asini çevresinde yarıklanmaların olması [38]. Asini; ekzokrin bez kanalları çeşitlerinden biridir.

Bir asiner ekzokrin kanal basit ya da birleşik olabilir. Asini: Loblu gibi gözüken hücre gruplarını tanımlamak için kullanılan bir sıfattır [40]. Bezde asinus ünitesinin bir hücresidir [41].



Şekil 2.7. Prostat bezindeki karsinom hücrelerin nükleol belirginliği [42].



Şekil 2.8. Adenokarsinomda perinöral invazyon [38].

2.1.1.4.3. Gleason Derecelendirme Sistemi

En yaygın derecelendirme sistemi Gleason skorumla sistemidir. Bu skor aralığı 2 ile 10 arasındadır. Tümörün derecesini belirleyebilmek için; patoloğ, biyopsiden alınan her bir doku parçasına puan verir ve gleason toplam skorunu belirlemek için en yaygın iki değerin toplamını belirtir. İki ile dört arasındaki skorlar düşük agresiflik (yayılma ihtimali) göstermesine rağmen biyopsiyi takiben bu değerler neredeyse hiç görülmez. En düşük skor genellikle 5 olarak bulunmuştur ve sonuç olarak en az agresif skor olarak tanımlanır. Gleason 6 skoru daha agresiftir. Gleason 7 skoru daha da yüksek agresiflik gösterir. Bu skorlar iki şekilde kullanılır. Daha yüksek agresiflik derecesinde bir tümörün bulunması sebebiyle toplam Gleason skoru 4+3 tümör, 3+4 tümöründen daha agresiftir. Gleason 8, 9 ve 10 skor tümörleri en agresif olanlarıdır. Bunlar genellikle bulunduğu alana yayılmış olurlar [43, 44] (Tablo 2.2).

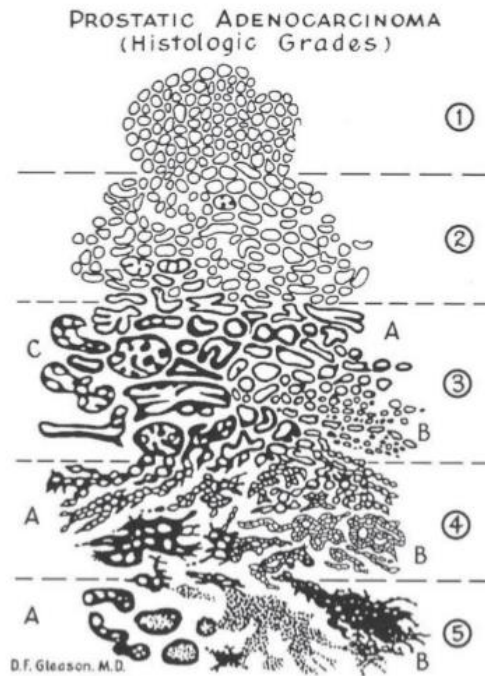
Tablo 2.2. Gleason derecelendirme sistemi [45].

Gleason Patern 1	Birbirlerinden eşit aralıklarla ayrılmış aynı boyut ve şekildeki yuvarlak asinusların oluşturduğu çok iyi sınırlı nodüllerdir. Gleason 1+1=2 skor prostatik adenokarsinomunun mevcut olmadığı düşünülmektedir.
Gleason Patern 2	Patern 1 gibi iyi oluşmuş, dışı doğru minimal çıkıntılanma sergileyebilse de düzgün sınırlı nodüllerdir. Asinusların şekil ve boyutunda bir miktar heterojenite gözlenir, ancak şekilleri hala yuvarlak ve düzgündür. Gleason skor 3 veya 4 (1+2, 2+1 veya 2+2).
Gleason Patern 3	Asinusların stroma içinde, çoğunlukla normal duktuslar arasında rastgele dağılmış olmalarıdır. Asinusların arasındaki mesafe değişkendir ve geniş veya dar olabilir. Tümör nodül iyi sınırlı değildir, kenar çizgileri düzensiz girintili çıkıntılıdır.

Tablo 2.2. (devamı)

Gleason Patern 3	Neoplastik bezler birbirinden farklı şekil ve boyuttadır, keskin açılanmalarla sert, düzensiz görünebilirler.
Gleason Patern 4	Ağ şeklinde süngerimsi adalar oluşturmuşlardır. Kribriform veya glomerüloid şekilli tüm bezlerdir.
Gleason Patern 5	Stroma içinde tek tek infiltrasyon gösteren hücreler, glandüler yapı oluşturmayan solid hücre tabakaları ile karakterizedir. Normal yapılar ortadan kalkmıştır. Kribriform bezler olarak da değerlendirilir.

Günümüzde grade grup Gleason skoru ile birlikte kullanılır. Günümüzdeki Gleason skoru yeni derecelendirmesi grade grup1 (3+3=6), grade grup 2 (3+4=7), grade grup 3 (4+3=7), grade grup 4 (4+4=8) ve grade grup 5 (9-10) olduğu rapor edilmiştir. 1-5'ye kadar giderse iyi diferansiyeden kötü diferansiyeye kadar değişir (Şekil 2.9) [31, 46].



Şekil 2.9. Prostat kanserinde Gleason derecelendirilmesi [47].

2.1.1.4.4. Prostat Kanseri TNM Evrelendirmesi

Evrelemede en çok kullanılan sistem American Joint Committee on Cancer Staging (AJCC) TNM sınıflandırmasıdır. (Tablo 2.3). Prognostik alt gruplar T, N ve M kategorilerinden oluşmaktadır [48]. T evresi, komşu doku invazyonunu ifade eder ve T'yi tanımlamak için kullanılan tümörün boyut komponenti ve çevreye devamlılık gösteren uzanımının durumu özel olarak tanımlanmıştır. N evresi, lenf nodlarındaki kanserin durumu, varlığı veya yokluğu ile

tanımlanır. M evresi, hastalığın lökale olduğunu ifade etmektedir ve uzak yayılım veya metastazın varlığı veya yokluğu ile tanımlanır [49].

Tablo 2.3. Prostat Kanseri TNM Evrelendirmesi [50].

T0	Primer tümöre ait bulgu yoktur.
T1a	Tümör, biyopsinin % 5'inden azında insidental olarak mevcuttur.
T1b	Tümör, biyopsinin % 5'inden fazlasında insidental olarak mevcuttur.
T1c	Tümör ancak iğne biyopsisi ile belirlenebiliyor [51]. PSA yüksekliği nedeniyle biyopside tümör saptanır. Tümörün en geniş çapı > 2 cm, ≤ 3 cm.
T2a	Bir lobunda belirgin tümör.
T2b	Her iki lobda belirgin tümör.
T3a	Kapsül tek tarafından dışına yayılım (dağılmış).
T3b	İki taraflı kapsül dışına yayılım (dağılmış)(invazif).
T3c	Seminal kese karışma (Seminal vezikül infiltrasyonu).
T4a	Tümör başka organlara (mesane boynu, rektum veya external sfinkterleri gibi) dağılmış.
T4b	Tümör pelvik duvarında belirlenmiştir.
No	Lenf bezlerinde metastaz yoktur.
N1	Tek lenf bezinde tümör vardır. Lenf bezi hacmi = 2 ya da <2 cm'den daha küçüktür.
N2	Lenf bezi hacmi 2 cm'den daha büyük 5 cm'den daha küçüktür.
N3	Lenf bezi hacmi 5 cm'den daha büyüktür.
Mo	Uzađa metastaz yoktur.
M1a	Lenf bezlerine metastaz vardır.
M1b	Kemik metastazları vardır.
M1c	Diğer organlara metastaz vardır.

2.2. Brassicaceae Familyası

Brassicaceae ailesi, Antartika hariç tüm kıtalarda dünya çapında dağılım göstermektedir. Dünyada bu aile 49 grup, 321 cins ve 3660 türden oluşmaktadır. Bu aile Türkiye Florasına göre ise 86 cins ve 464 tür içermektedir. Yapılan çalışmalar, Brassicaceae familyasında 573 tür, 66 alt tür ve 24 ırk olmak üzere toplam 663 takson ve 91 cins ile temsil edilir [52]. Alysseae grubu, 24 cins ve yaklaşık 277 türden oluşmakta olup, bunların 114 tanesine *Alyssum*'da dahildir.

Alyssum cinsi öncelikle Avrupa, Güneybatı Asya ve Kuzey Afrika'da dağılım göstermektedir. Bugün *Alyssum* türlerinin sayısı 54'e ulaşmıştır. Bu durum, Türkiye'nin cins çeşitliliğinin ana merkezi olduğunu vurgulamaktadır. *Alyssum* cinsinden Odontarrhena'da 38 tür ve Türkiye'de Meniocus'ta 7 tür vardır. *Alyssum* bölümü 43 takson içerir [53].

2.2.1. *Alyssum* Cinsi

Alyssum cinsi Brassicaceae (Cruciferae) familyasına ait; tek yıllık, tüylü otsu bir bitkidir. Çalılar dallanma gösterir ve doğal bir şekilde bulunur. Çalıları sarı ve beyaz renklerle karakterize edilen çiçeğe sahiptir. Yaprakları uzunca mızrak şeklindedir. *Alyssum*'nin 262 türü, 17 cinsi vardır. *Alyssum* cinsi Avrasya ve Güney Afrika'da yayılış göstermektedir. Dünyada 230'a varan tür sayısı ile bilinen en büyük cinsler arasındadır ve başlıca yayılış alanı Doğu Avrupa ve Türkiye'dir. Ülkemizde bu cins, Türkiye Florası'nın da büyük cinsleri arasında yer almakta ve 90 türle temsil edilmektedir. Bu türlerin 54'ü endemik olup, bunların da yaklaşık üçte biri tehlike altında ve korunması gereken türlerdir. Yapılan son revizyonlarla birlikte bu cinsin yaklaşık 110 taksona sahip olduğu tespit edilmiştir. *Alyssum* cinsinin genel botanik özellikleri şu şekilde özetlenebilir; Tek, iki veya çok yıllık bitkilerdir. Çok yıllık ise daima verimsiz sürgün ve kış rozetleri vardır. Verimli sürgünler çok yapraklıdır. Çiçek durumu rasem, korimboz, panikula veya umbellattır. Petaller 4 tane; genellikle sarı, obovat-spatulat, bütün lobludur. Stamenler 6 tane; uzun filamentler 4, unilateral veya bilateral kanatlıdır. Kısa filamentler 2 tane; kanatlı veya kanatsızdır. Silikula geniş septalı, açılan veya nadiren açılmayan tüysüz veya tüylüdür. Tohumlar kanatlı veya kanatsızdır. *Alyssum* ismi Yunan kökenlidir. *Alyssum* L. cinsinin bazı türleri nikel metalini kuru yaprak biyokütlesinin % 3'üne varan derişimlerde biriktirme özelliğine sahip hiperakümülatör türlerdir. Bu özellik, bazı *Alyssum* türlerinin fitoremediasyonda kullanımına olanak sağlamaktadır [4].

2.2.1.1. *Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa

2.2.1.1.1. *A. floribundum* Bitkisinin Morfolojisi

Brassicaceae familyasına, *Alyssum* cinsine ait olan *floribundum* Boiss. & Balansa bitkisidir. *Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa bitkisi Adana, Erdemli, Kütahya, Niğde, Mersin, Müğlü deresi, İcmeler yeri ve orman altında yayılmaktadır. Yarıçalı çok yıllık bir bitkidir [11]. Bitki 35-50 cm'ye kadar uzayabilmektedir. Çiçek filizinin uzunluğu 40-50 cm arasındadır. Çiçekler parlak altın sarısı renktedir. Salkım formundadır. Çiçeklenme dönemi Nisan-Haziran arasındadır. Bitkinin yaprağının rengi yeşil gümüş arasında değişmektedir. Yaprakları yumuşak, gri renkli, uzunca ve

tüylüdür. Yapraklar, ters yönlü dikdörtgen-mızrak şeklindedir ve yapraklarının kenarı 5-20 × 1-3 mm arasında değişmektedir. Alt yaprakların yüzeyi kalın koyu kıllarla kaplıdır. Geniş gövde üzerinde ince kıl ve kertiklenmiş kabuk vardır. Gövdenin eni 4-5 mm arasındadır (Şekil 2.10) [54].

2.2.1.1.2. *A. floribundum* Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırması

TÜBİTAK Tüvives verilerine göre (2012) *A. floribundum*'un sistematik hiyerarşisi şu şekildedir; [54].



- Alem: Plantae [54].
- Altalem : Tracheobionta [54].
- Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular) [54].
- Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler) [54].
- Altsınıf : Dilleniidae[54].
- Takım: Capparales -Brassicales [54].
- Familya: Cruciferae-Brassicaceae [54].
- Cins: *Alyssum* [54].
- Tür: *Alyssum Floribundum* Boiss. & Balansa [55].

Şekil 2.10. *Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa bitkisinin genel görünüşü.

2.2.2. *Brassica* Cinsine Ait Bitki Türlerinin Sağlıkla İlişkisi

Genel olarak, *Brassica* bitkileri yüksek vitamin ve mineral içeriğine sahiptir. *Brassica* bitkilerindeki C ve E vitaminleri ve karotenoidlerce zengin olduğu için malign ve dejeneratif hastalıkları önleme ve tedavi etme özelliğine sahiptirler [54].

Günümüzde, tüketiciler optimal sağlık yararları için besin değeri açısından zengin ürünler talep etmektedirler. Bu bakımdan *Brassica* bitkilerinin popülaritesi; besin değeri, antikanser, antioksidan ve antiinflamasyon özellikleri nedeniyle artmaktadır. *Brassica* bitkisinin bileşenleri, çeşitlilik, hasat dönemi, işleme ve pişirme koşulları ve büyüdükleri ortam gibi birçok faktöre bağlıdır. Bu bitkiler, az yağ, yüksek vitamin, mineral ve liflerin yanı sıra yararlı fitokimyasal bileşikler içerir. *Brassica* cinsi brassicaceae ailesinde en önemli türdür. Bu cins, birbiriyle ilişkili altı tür, üç diploit (*B. Nigra*, *B. Oleracea* ve *B. Rapa*) ve üç Amphidiploid (*B. Carinata*, *B. Juncea* ve *B. Napus*) türünden oluşmaktadır. *B. oleracea*'da, lahana, savoy lahana, Brüksel lahanası, karnabahar, brokoli, kohlrabi ve Çin lahanası gibi sebzeler bulunurken, *B. Rapa*'da ise şalgam, Çin lahanası, pak choi ve *komatsuna* bulunur. Diğer *Brassica* türleri hardal yeşillikleri, Çin brokolisi,

Japon hardalı (mizu-na), gai-lohn, horseradish, wasabi, daikon, roka, su teresi ve turp içermektedir. *Brassica* bitkilerindeki yoğun glukosinolat içerik olduğu için keskin kokular ve baharatlı lezzetden sorumlu olan kükürt içeren bileşikler açısından zengindir. Ayrıca, bu sebze grubu, taze bitkilerde bulunan C ve E vitaminleri, karotenoidler ve katalaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve peroksidaz gibi enzimatik antioksidanları içerir. Ayrıca, bu sebzeler kükürt içeren glukosinolatlar, antosiyaninler, flavonoidler, terpenler, S-metil sistein sülfoksit, kumarin ve yararlı bitki metabolitleri olan diğer küçük bileşikler içerir [54].

Brassica cinsi, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan biyoaktif bileşiklerden biri olan fenolik bileşikler içerir. Bu bileşikler, karsinojenlerin biyolojik aktivasyonunu inhibe edebilmektedir ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunu artırarak antioksidan aktivite gösterirler. Fenolikler, basit, düşük molekül ağırlıklı, tek aromatik siklik halkalı bileşiklere, büyük ve karmaşık tanenlere ve türevlendirilmiş polifenollere sahip olarak sınıflandırılır. Bunlar flavonoidler (flavonoller, flavonlar, flavan-3-ollar, antosiyanidinler, flavanonlar, izoflavonlar ve diğerleri) ve flavonoid olmayanların (fenolik asitler, hidroksisinnamatlar, stilbenler ve diğerleri) içindeki karbon atomlarının sayısı ve düzenlenmesine göre sınıflandırılmaktadır. Ayrıca, *Brassica* bitkilerinde kırmızı lahana ve brokoli filizlerinde pigmentasyona neden olan antosiyaninler de bulunur [54].

Brassica bitkilerindeki fitokimyasal bileşikler, oksidatif stresleri önleyen, detoksifikasyon enzimlerini teşvik eden, bağışıklık sistemini harekete geçiren, kanser hücrelerinin proliferasyonunu azaltan ve malign transformasyon ve karsinojenik mutasyonları engelleyen farklı etkiler gösterebilir [54].

2.2.2.1. *Brassica* Cinsine Ait Bitki Türleri ve Prostat Kanseri Arasındaki İlişki

Prostat kanseri en sık görülen solid tümördür. Diyetlerdeki artan yağ ve yüksek yağlı gıdalarla kanser ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, kansere yol açan hücrel olayların anlaşılması ve kansere yol açan metabolik ve genetik değişikliklerin düzenlenmesindeki gelişmeler, bitkisel ürünlerin gerçekten prostat kanserinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. *Brassica* bitki ve glutatyon s-transferaz enzimi (GST- π) hücre kültürü türlerinde indüksiyonu özellikle prostat kanseri ile ilgilidir. GST- π , prostat dokusunda baskın GST aktiftir ve bu genin ekspresyonu, prostat kanseri, prostat kanseri öncüsü lezyonu ve prostat içi epitelyal neoplazmda kaybolur. GST-L kaybının prostat kanserinin erken gelişiminde önemli bir adım olduğu görülmektedir ve bu genin yüksek regülasyonunun bir şekilde prostat kanseri büyümesine karşı koruma sağlayabileceği düşünülmektedir. Hayvanların brokoli ile beslenmesinin, emilim noktalarından veya metabolizma noktasından uzak periferik dokularda biyotransformasyon enzim seviyelerini değiştirdiği bulunmuştur. Haftada 28 veya daha fazla

porsiyon bitki tüketen grupla haftada 14 veya daha az porsiyon bitki tüketen grup kıyaslandığında bitki tüketiminin ve özellikle de *Brassica* bitkilerinin, 65 yaşın altındaki vakalarda prostat kanseri riskini azalttığı bulunmuştur [56]. Başka bir vaka kontrol çalışmasında, *Brassica* bitki tüketiminin prostat kanseri riskini azalttığı bulunmuştur [54]. *Brassica* bitkilerinden alınan diyet insan beslenmesinde yüksek miktarda kullanılan brokoli ve karnabarda ileride prostat kanseri ve özellikle metastatik prostat kanseri riskini azaltabilmektedir [54].

2.2.2.2. *Brassica* Cinsine Ait Bitki Türleri ve Oksidatif Stres Arasında İlişki

Brassica bitkilerindeki, oksidatif hasarı önleyen, detoksifikasyon enzimlerini indükleyen, bağışıklık sistemini tetikleyen, kanser hücrelerinin proliferasyonunu azaltan ve malign transformasyon ve karsinojenik mutasyonları engelleyen fitokimyasal maddeler bulunmaktadır [54].

2.3. Bitkilerdeki Metabolit Ürünleri

Bitkisel metabolit ürünleri birincil ve ikincil metabolit olarak ikiye ayrılır.

2.3.1. Birincil Metabolizma

Birincil metabolizmanın oluşturduğu ürünler “birincil metabolitler” olarak adlandırılır. Canlılarda yaşamı sürdürmek için biyolojik reaksiyonlar gereklidir ve bu reaksiyonlar birincil metabolizma olarak bilinir. Bitki güneş enerjisini kloroplastlarda bulunan klorofil aracılığı ile ATP ve NADPH gibi kimyasal enerjiye dönüştürür. ATP ve NADPH kullanarak şeker ve nişastayı CO₂'den sentezler. Bu oluşan karbonhidratlar bitki dokularının oluşumu ve farklılaşması için depolanır ve kullanılırlar [57].

2.3.2. İkincil Metabolizma

İkincil metabolizmanın oluşturduğu ürünler “ikincil metabolitler” olarak adlandırılır. İkincil metabolitler, genellikle büyüme fazında üretilen büyümede herhangi bir işleve sahip olmayan organik bileşenlerdir. Yaşamı sürdürmeyle doğrudan ilgisi olmayan metabolitler ikincil metabolitler olarak bilinir. İkincil metabolitler sadece belirli organizmalarda gerçekleşir. İkincil metabolitler ağaç gövdesi ve dokusu takviyesinde (selüloz, lignin, suberin), böceklere karşı korunumunda, bitki düzenlemesinde (bitki hormonları) rol oynar. Farmakolojik açıdan aktif olan

doğal ürünlerin çoğunu sağlayan ikincil metabolitin bu kısmıdır [57]. Birincil ve ikincil metabolitler arasındaki farklar Tablo (2.4)'te sunulmuştur.

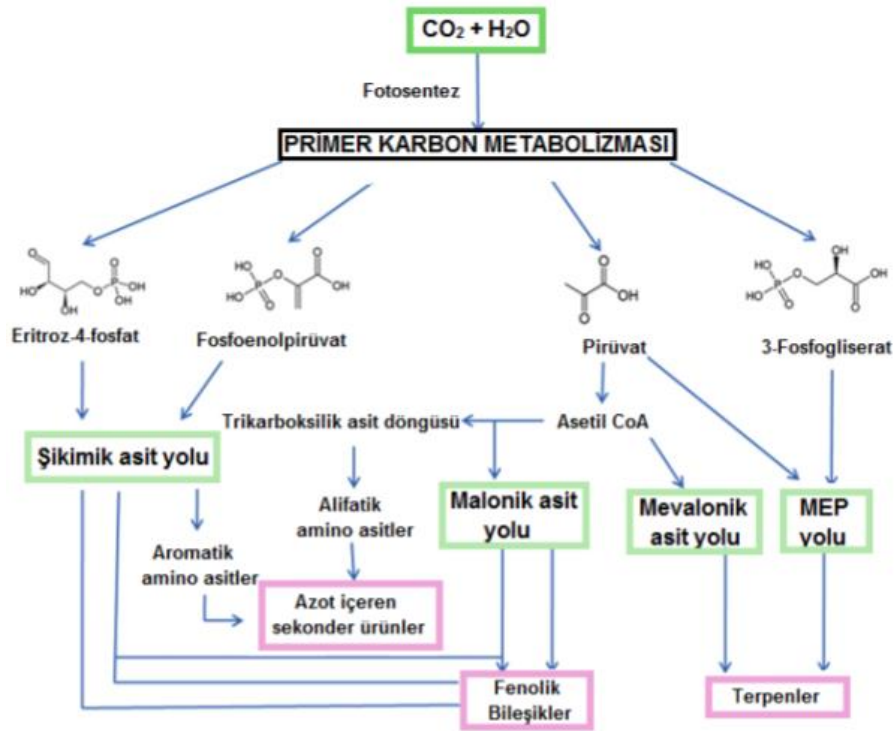
Tablo 2.4. Metabolit ürünleri, tanımı, ürün tipleri ve metabolit üreten organizmalar [57].

Metabolit Ürünleri	Metabolit Tanımı	Metabolit Üreten Organizmalar	Ürün Tipleri
Birincil Metabolit	Canlılık için gerekli olan yapı taşları tüm canlılar tarafından üretilmektedir.	Prokaryotlar mikroorganizmalar, bitkiler hayvanlar ve insanlar.	Nükleik asitler, proteinler, yağlar ve karbonhidratlar.
İkincil Metabolit	Canlılık için temel öneme sahip değildir. Çoğu durumda ikincil metabolitlerin işlevleri ve organizmaya yararı henüz bilinmemektedir.	Sadece özgün organizmalarda gerçekleşir, bitkisel hücrelerdir.	Glikozit, tanen, alkaloid ve izopren türevi, fenolik bileşikler, mum, pigment ve ikincil metabolitleri kataliz eden bazı enzimlerdir.

2.3.2.1. İkincil Metabolitlerin Biyosentezi

İkincil metabolitin üç farklı sınıfının biyolojik sentezi, ilgili sınıfa bağlı olarak değişir. Terpenler, mevalonik asit ve metileritritol fosfat yolu boyunca birincil metabolitten sentezlenir (Şekil 2.11). Mevalonik asit yolunda, asetil-COA'nın üç molekülü, mevalonik asit oluşturmak üzere adım adım birleştirilir. Bu anahtar altı karbonlu ara ürün daha sonra izopentenil difosfat (IPP) elde etmek için pirofosforile edilip, dekarboksile edilir ve dehidrasyon işlemi yapar. IPP bileşiği aktive edilmiş terpenlerin beş karbonlu bir bileşiğidir. Son zamanlarda, IPP'nin, kloroplast ve diğer plastidlerde gerçekleşen metil eritritol fosfat (MEP) yolu denilen ayrı bir reaksiyon dizisi aracılığıyla glikoliz veya fotosentetik karbon indirgeme döngüsünden de oluşturulabileceği keşfedilmiştir. Tüm detaylar henüz aydınlatılmamış olmakla birlikte, gliseraldehit-3-fosfat ve pirüvattan türetilen iki karbon atomunun birleşmesiyle sonuç olarak IPP'ye dönüştürülen bir ara ürün ortaya çıkar. Fenolik bileşiğin biyosentezinde iki temel yol vardır: şikimik asit yolu ve malonik asit yolu. Şikimik asit yolu, glikoliz ve pentoz fosfat yolundan elde edilen basit

karbonhidrat öncüllerini, aromatik amino aside dönüştürmektedir. Ara bileşiklerden biri, bu reaksiyon dizisine ismini veren şikimik asittir. İyi bilinen geniş spektrumlu herbisit glikofosfat, bu yoldaki bir adımı kapatarak bitkiyi öldürür. Bitkilerdeki en yaygın ikincil fenolik bileşik sınıfları, sinamik asit oluşturmak üzere bir amonyak molekülünün eliminasyonu yoluyla fenilalaninden elde edilir. Bu reaksiyon, fenilalanin amonyak liyaz (PAL) ile katalize edilir. Azotlu bileşikler üretmesinin yolu trikarboksilik asit döngüsü (TCA) sırasında alifatik amino asitlerin oluşmasıdır [9].



Şekil 2.11. İkincil metabolitlerin başlıca biyosentez yolları [58].

2.4. Fitokimyasallar

Fitokimya; bitki biyoaktif bileşenleri ve doğal organik kimya ürünleri arasında yer alır. İkincil bitki metabolizmasında fitokimyasal bileşikler üretilir. Bitkilere renk, koku ve tat kazandırır. Fitokimyasal maddeler fonksiyonel gıda özellikleri taşır. Alkaloidler, karotenoidler, flavonoidler, polifenoller, fitosteroller, fitoöstrojenler, indoller ve sülfidler şeklinde sınıflandırılırlar [59]. Fitokimyasal maddeler, bitkilerde doğal olarak bulunan ve biyolojik olarak aktif olan kimyasal bileşiklerdir. Bitkilerde doğal bir savunma sistemi olarak görev yapmalarının yanı sıra renk, aroma ve tattan da sorumludurlar. Bugüne kadar 8000'den fazla fitokimyasal tanımlanmış, fonksiyonları ve kaynaklarına göre farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. En yaygın

sınıflandırma; flavanoidler, fitoöstrojenler, fitosteroller ve karotenoidler şeklinde olup, bunların da alt grupları bulunmaktadır. Fitokimyasallar, son yıllarda sağlık üzerindeki olumlu etkileri ve özellikle bazı kanser türleri ve kalp hastalıklarına karşı koruyucu olmalarıyla dikkat çekmektedir. Bu bileşiklerin sağlık açısından en önemli etkisi, vücutta serbest oksijen molekülleri ve serbest radikallerle reaksiyona giren antioksidanlar olarak işlev görmeleridir [60].

2.4.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler kısaca “Fenolik” veya “Polifenol” kimyasal terimi olarak tanımlanmaktadır [60]. Bitkilerde bulunan pek çok çeşitli sekonder ürün, aromatik halkayla bağlanan fonksiyonel hidroksil (OH⁻) grubuna sahiptir. Bitki hücre ve dokularında basit fenolik bileşiklerin önemli bir kısmı, fenolik asitler ve fenilpropanoidlerin sentez yollarının ara ve son ürünleridir. Bu ikincil ürünler “fenolik bileşikler” olarak sınıflandırılır. Bitkinin rengini veren fenoliklerdir. Bitkisel fenoller, heterojen kimyasal bileşiklerdir. Bunların bazıları sadece suda çözünür, bazıları sadece organik çözücüde çözünür, bazıları ise polimerler gibi hiç çözünmez [59].

Fenolik bileşikler aromatik halkaya sahip olması nedeniyle serbest radikalleri süpürücü rol oynamaktadır. Fenolikler, en önemli fenolik sınıfı olan flavonoidler, hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik asitler olmak üzere üç sınıfa ayrılabilir (Şekil 2.12). Fenolik bileşiklerin türevleri, fenil alaninlerle başlayan basit fenil propanoid, benzoik asit türevleri, antosiyanin, izoflavonlar, taninler, lignin ve flavonoid bileşiğini içerir. Lignin genellikle üç farklı fenilpropanoit alkollar olan koniferil, kumaril ve sinapilden oluşur [9]. Fenolik bileşikler, patojenlerin ve avcılarının (yırtıcı hayvanların) neden olduğu yaralanmalara karşı savunmanın yanı sıra, bitki büyümesi ve gelişimi için gereklidir ve bitkilerin renk farklılığından sorumludurlar. Ayrıca; antialerjik, antiaterojenik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, antitrombotik, kardiyoprotektif ve vazodilatör etkiler sağlarlar. Fenolik bileşiklerin gösterdiği fizyolojik faydalar, özellikle serbest radikal süpürme ve metal şelatlama aktivitesine ve ayrıca elektron/hidrojen verme özelliğe sahip olmaları antioksidan özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Antioksidan aktivitesi, fenolik bileşiklerin hidroksilasyon derecesi ile pozitif korelasyon gösterir [61].



Şekil 2.12. Fenolik bileşiklerin gruplandırılması.

2.4.1.1. Fenolik Asitler

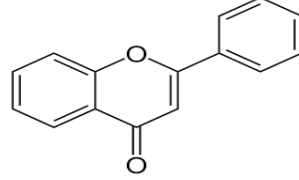
Fenolik asitler, hidroksi sinnamik asit ve hidroksi benzoik asit olarak sınıflandırılır. Bitkiden alınan gıdalarla vücuda girer. Fenolik asitlerin yapısında en az bir hidroksil grubu vardır. Hidroksi benzoik asit C6-C1 yapısındadır. Benzoik asidin bazı türevleri vanilik asit, gallik asit, salisilik asit, p-hidroksi benzoik asit, protokateşik asit, şiringik asit, gentisik asit olarak belirlenmiştir. Hidroksi sinnamik asit ise C6-C3 yapısındadır. Hidroksi sinnamik asit türevleri kafeik asit, ferulik asit, sinapik asit ve sinamik asittir [62] (Şekil 2.13).

	Benzoik Asit	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
	p-hidroksibenzoik asit	H	H	OH	H
	Protokateşik asit	H	OH	OH	H
	Vanilik asit	H	OCH ₃	OH	H
	Gallik asit	H	OH	OH	OH
	Şiringik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Salisilik asit	OH	H	H	H
	Gentisik asit	OH	H	H	OH
	Hidroksisinnamik Asit	R ₁	R ₂	R ₃	
	p-kumarik asit	H	OH	H	
	Kafeik asit	OH	OH	H	
	Ferulik asit	OCH ₃	OH	H	
	Sinapik asit	OCH ₃	OH	OCH ₃	

Şekil 2.13. Fenolik asitlerin türleri [62].

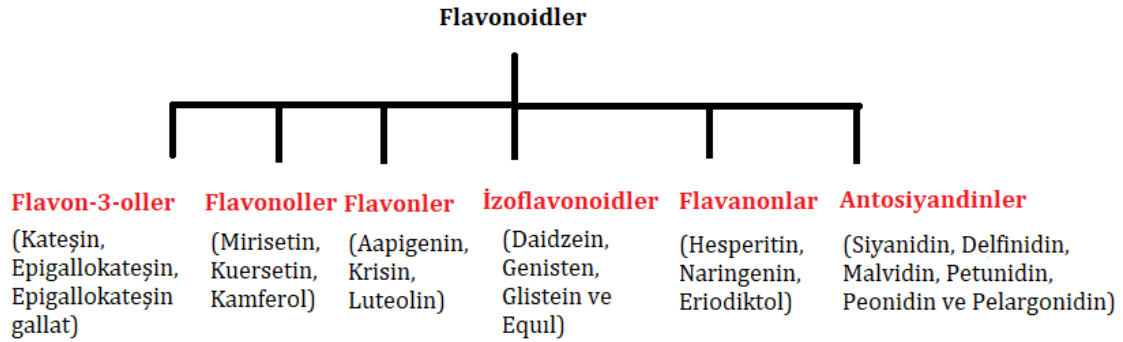
2.4.1.2. Flavonoidler

Flavonoidler bitki fenoliklerinin en büyük önemli sınıflarından biridir ve temel yapısında üç karbon köprüsüyle bağlı iki aromatik halka şeklinde düzenlenmiş 15 karbon içerir (Şekil 2.14). Bu karbon yapısı C6-C3-C6 olarak kısaltılabilir ve birden fazla hidroksil grubu vardır [62].

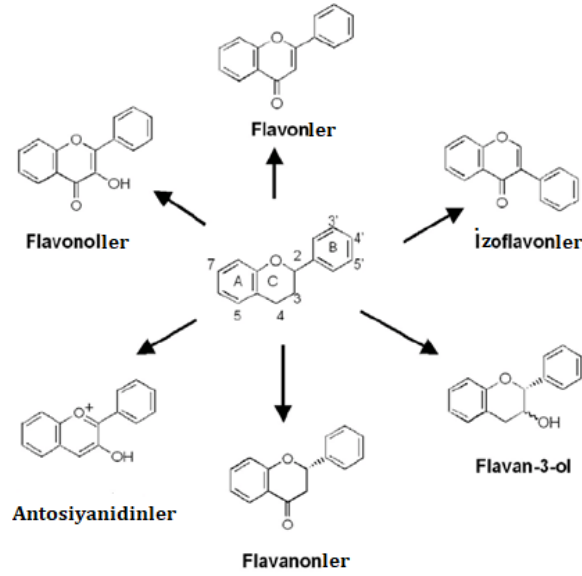


Şekil 2.14. Flavonoid bileşiklerin genel yapısı [62].

Flavonoidlerin temel işlevi pigmentasyon ve savunmadır. Bazı tanen türevleri arasında gallik asit bulunur. Bunlar, bitki kökenli gıdalarda her zaman bulunan ikincil metabolitlerdir ve pentoz fosfat, şikimik asit yolu ve fenilpropanoid yolları içeren bitkilerde çeşitli biyolojik yollardan türetilen bol miktarda fitokimyasal gruplardan biri olarak kabul edilir. Şimdiye kadar 6500'e yakın flavonoid keşfedilmiştir [62]. Flavonoidler kimyasal yapısına göre altı gruba (antosiyandinler, flavonler, flavonoller, flavanonlar, flavon-3-oller, izoflavonoidler) ayrılır (Şekil 2.15, 2.16) [63].



Şekil 2.15. Farklı flavonoid grupları ve bunlara ait bileşikler [63, 64].



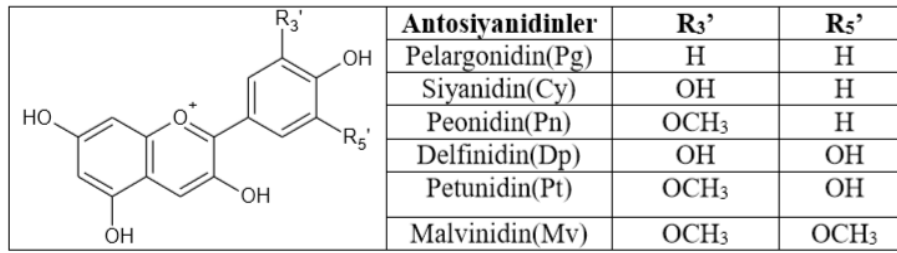
Şekil 2.16. Flavonoid bileşiklerin sınıfları ve genel kimyasal yapıları [65].

Flavonoidler kırmızı, mavi pembe bitki pigmentleri, antosiyaninler ve renksiz kateşinlerden oluşmaktadır. Flavonoidler bitkileri; UV ışınlarına ve mikroorganizmalara karşı korurlar. Bitkilerin bol ve kısa dalga boylu güneş ışığına maruz kalmalarına rağmen gelişmeleri bu pigmentlerin çok fazla miktarda sentezlenmesiyle mümkün olabilmektedir. Güneş ışınlarının etkisi ile bitki yaprak ve dokularında fenolik maddelerin sentezlenmesini sağlayan fotomorfogenez reaksiyonları başlar. İnsanlarda flavonoidler, bağışıklık sistemini güçlendirir ve kalp krizi riskini azaltır [66]. Flavonoidler, gıdalarda bulunurlar ve çeşitli hastalıkları tedavi etme özelliğine sahiptirler. Bazı bitkiler ve baharatlar, geleneksel tıpta binlerce yıldır yaygın olarak kullanılan flavonoidleri içerir. Bazı flavonoidler birçok ülkede klinik olarak kullanılmaktadır. Flavonoidler, hücre bölünmesini ve proliferasyonunu düzenleme yeteneğine sahiptir. Antikanser özellikleri de dahil olmak üzere tıbbi aktiviteleri vardır. İzoflavon rotenon, antikanser ajan olduğu ortaya konmuş olan flavonoid bileşiklerinden biridir. Epidemiyolojik çalışmalar aynı zamanda flavonoid içerikli besin alımının kanserde risk durumunu azalttığını doğrulamıştır. Kanserler de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar flavonoidlerin alımı ile kontrol edilir. Kanser hücre hattında sitotoksiste, esas olarak normal hücreleri etkilemeyen flavonoid bileşikleri nedeniyle gösterilmiştir. Bu yapılan sitotoksiste çalışmalarda kanıtlanmıştır. Makrofaj fonksiyonunu kanser hücresi eliminasyonunda düzenleyebilen flavonlar hücre çoğalmasında potansiyel inhibitör olarak işlev görmektedir. Çoğu in vitro ve in vivo çalışmalarla flavonoidlerin çeşitli kanser hücre hatlarına karşı iyi aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Flavonoidler, kanser hücre hatlarında antiproliferasyon ve sitotoksiste gerçekleştirme özelliğine sahiptir. Flavonoid bakımından zengin besinlerin kanser hücrelerine karşı tepkisini belirlemektedir. Yapılan bazı

çalışmalar, flavonoidlerin kanser önleme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca hücre döngüsünü ve ardından apoptozu bloke etme kabiliyetine sahiptir. Flavonoidler, son yıllarda, prostat, pankreas, meme, servikal ve yumurtalık kanserlerinin tedavisinde kullanılmıştır [67, 68].

2.4.1.2.1. Antosiyanidinler

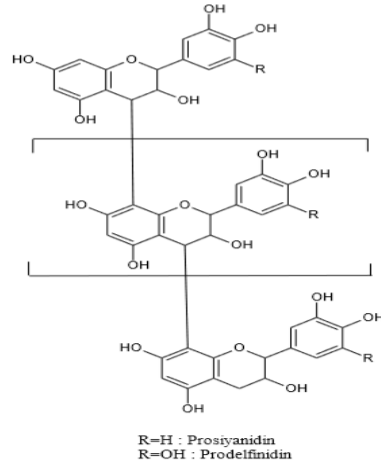
Antosiyanidinler bir flavon çeşidi olarak da kabul edilmektedir. Çünkü yapılarında flavan halkası vardır (Şekil 2.17). Antosiyanidinlerin yapılarında hidroksil grubu bulunduğu için reaktif özelliklere sahiptirler. Bu yüzden serbest şekilde bulunmaz, şekerlerle bulunur. Bitkilerde genellikle antosiyanin glikozid formunda bulunur. Meyve ve sebzelerin pembeden kırmızı ve mora kadar değişen pigmentlerdeki renklerine sebep olur. Antosiyaninler, pH'larına bağlı olarak kırmızı, mor, mavi veya siyah görünebilen suda çözünen pigmentlerdir. Antosiyaninler bakımından zengin olan bitkiler arasında yaban mersini, ahududu, siyah pirinç ve siyah soya fasulyesi bulunur [69].



Şekil 2.17. Antosiyanin türevlerinin yapısı [62].

2.4.1.2.1.1. Proantosiyanidinler

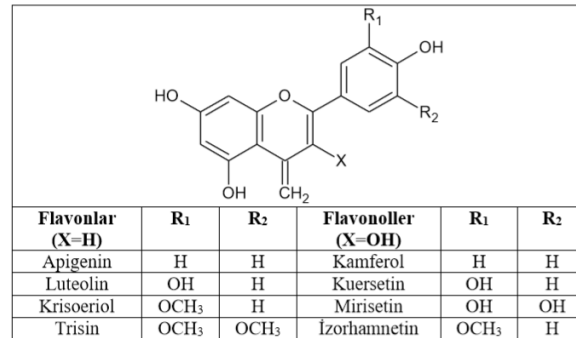
Proantosiyanidinler polimerik yapıdadır (Şekil 2.18). Katesin monomerlerinden oluşur [50]. Oligomerik proantosiyanidinler olarak da bilinen proantosiyanidinler, flavonoid ailesinin bir parçasıdır ve üzüm çekirdeği ekstresi ve çam kabuğu ekstresinde bulunmaktadır. Oligomerik proantosiyanidinler güçlü antioksidanlardır. Aslında, araştırmalar bunların antioksidan etkinliklerinin E vitamininden 50 kat, C vitamininden de 20 kat fazla olduğunu göstermiştir. Dahası, bunlar ciltteki E ve C vitaminlerini, serbest radikallerin aşırı baskılarına karşı da korurlar. Üzüm çekirdeği ekstresinde % 92-95 oranında proantosiyanidin bulunmaktadır. Çam kabuğu ekstresinde ise % 80-85 oranında proantosiyanidin vardır [70].



Şekil 2.18. Proantosiyanidinlerin genel kimyasal yapısı [62].

2.4.1.2.2. Flavonler ve Flavonoller

Piron halkasına sahip olan bileşikler flavon olarak adlandırılmaktadır [71]. Flavonlerin orta halkasında hidrojen atomu vardır. Flavonollerin ise orta halkasında hidroksil grubu bulunur (Şekil 2.19). Bitkilerdeki flavonler ve flavonoller glikozid formunda bulunmaktadır [62]. İki veya üç yüz flavonol aglikonu bilinmesine rağmen, sadece üçü en yaygın kemferol, kuersetin ve mirisetin bileşikleridir [72].

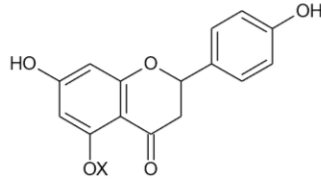


Şekil 2.19. Flavonler ve flavonollerin türleri [62].

2.4.1.2.3. Flavanonler

Hidroksipiron halkasına sahip olan bileşikler flavanon olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.20) [62, 71]. Bir flavonoid türü olan flavanonlar, bitkilerde sıklıkla glikozit olarak bulunmaktadır. Flavanonların orta halkasında çift bağ yoktur. Narenciyede bulunan flavonoidler

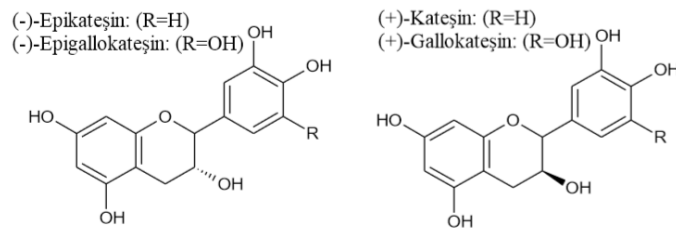
antioksidan özellik göstererek, insan vücudunda oksitlenmeye bağlı stresin azaltılmasına yardımcı olmaktadır [62]. Flavonoid bileşiklerinden naringin, turunçgillerde özellikle greyfurtta acı tat veren bileşiktir. Turunçgillerde bulunan flavanon türleri, naringin, naringenin, narirutin, hesperidin, eriositrin, taksifolin, neohesperidin, neoeriositrin ve poncirindir. Naringin, narirutin ve naringin glikozidleri en fazla greyfutta bulunurken hesperidin ve hesperidin glikozidleri portakal ve mandalinada; eriositrin ve hesperidin ise limon ve misket limonda yaygındır [71].



Şekil 2.20. Flavanonların genel yapısı [62].

2.4.1.2.4. Kateşinler

Kateşinlerin kimyasal yapısı flavanın kimyasal yapısına benzer. Kateşinlerin orta halkasında bir karboksil grubu bulunur. Kateşinin kimyasal yapısı flavan 3-ol şeklindedir (Şekil 2.21). Kateşinler, iki asimetrik karbondan dolayı dört izomere sahiptirlerdir. C2 ve C3 atomlarına bağlı hidrojenler trans konfigürasyonda ise (+) kateşinler ve (-) gallokateşinden ancak cis konfigürasyonunda ise (-) epi-kateşinler ve (-) epigallokateşinden söz edilmektedir [62]. Kateşinler, bitkilerde ve meyvede yaygın halde bulunan, renksiz ve sıklıkla serbest halde bulunan flavonoidlerdir [62, 73].

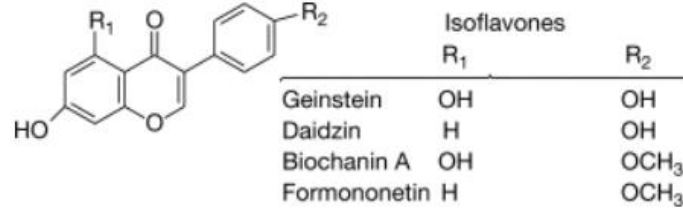


Şekil 2.21. Kateşinlerin genel kimyasal yapısı [62].

2.4.1.2.5. İzoflavonlar

İzoflavonlar, genellikle glikozitler olarak bulunur. Bitkilerin sekonder metabolitleri olarak izoflavonoitler, biyogenetik olarak 3-fenilkroman bir iskelete sahiptir (Şekil 2.22).

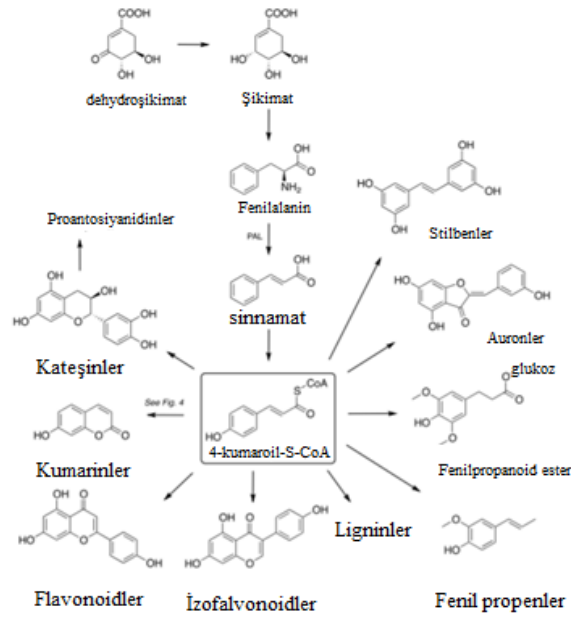
Flavonoidlerin 2-fenilkroman iskeletinden elde edilir [74]. Yaygın izoflavonlar arasında daidzin, genistin, bioçanın A ve formononetin bulunur. Glikozitler, bağırsak mikroflorası ile aglikonlara dönüştürülür. İzoflavonların aglikon formu biyolojik olarak aktiftir. İzoflavonlar arasında, meme kanseri hücre hatları üzerinde genistein ile yapılan çalışmalar düşük dozlarda hücre çoğalmasını ve yüksek konsantrasyonlarda inhibisyon etkisini göstermektedir. İzoflavonlar ayrıca zayıf antioksidanlar olarak da bilinir [75].



Şekil 2.22. İzoflavonların genel kimyasal yapısı [76].

2.4.1.2.6. Kumarinler

Fenilpropanoid metabolizması, şikimat yolunun az sayıda ara maddesine dayanan bir sekonder metabolit dizisi oluşturur [77]. Şikimat yolu, bir fenilalanin kaynağıdır ve giriş noktası, fenilpropanoidlerin biyosentezine yol açar. Merkezi fenilpropanoid yolu olarak adlandırılan üç enzimatik aktivite ile tanımlanır: (i) fenilalanin amonyak-lyaz (PAL) ile trans-sinamik aside fenilalanin deaminasyonu, (ii) sinamik asit 4-hidroksilaz (C₄H) aktivitesinden ve son olarak (iii) 4-kumardan-4A-CoA ligaz (4CL) ile 4-kumaroil-CoA'ya 4-kumardan dönüşümüdür [78] (Şekil 2.23).



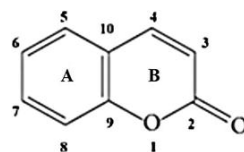
Şekil 2.23. Kumarin biyosentetik yolu. [77, 78, 79].

Günümüzde 1300 çeşit kumarin bilinmektedir ve bunların hepsi 5,6-benzo-2-pirone (arakromon) türevleridir. Basit kumarin türevleri gibi bir furanik halka, doğrusal piranokumarinler, açılal piranokumarinler, dikumarol ve furanokromonlar gibi örnekleri olan dimerik kumarinleri içeren furanokumarinler gibi bileşikler bilinmektedir. Bu bileşik sınıfı biyolojik özelliklerinden dolayı diğer bileşiklere göre oldukça popülerdir [80].

Kumarinler (2H-1-benzopirane-2-on), bitkilerde bulunan büyük bir fenolik madde sınıfından oluşur ve bunların hepsi bir piron halkasını birleştirilen bir benzen halkasından oluşur. Prototipik bileşik 1,2 benzopron veya daha az yaygın olarak *o*-hidroksisinnamik asit ve lakton olarak bilinir [80].

2.4.1.2.6.1. Kumarinlerin Sınıflandırılması

Kumarin ve türevleri başlıca antikoagülanlardır. Kumarin suda çözünmez. Kumarin çekirdeğinin yapısı, steroid hormonunun A ve B halkalarını taklit eder ve aromataz bağlayıcı bölgeye yüksek bir affinite ile bağlanır (Şekil 2.24) [80].



Şekil 2.24. Kumarinlerin genel kimyasal yapısı [80].

2.5. Fitosteroller

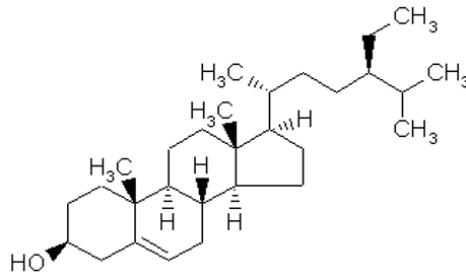
Fitosteroller (bitki sterolleri), insan sağlığı için çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Kolesterolün ince bağırsaktaki emilimini engelleyerek, kandaki toplam ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL-kolesterol) düzeylerini azaltıcı etki göstermektedir. Fitosterollerin bazı kanser hücre hattlarına karşı koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir [81].

2.5.1. Steroidler

Steroidler, skualenden biyosentetik olarak türetilmiş C30 hidrokarbon halkasına sahip bir moleküldür. Altı izopren birimini baz alan karbon yapısına sahip olan steroidler karmaşık siklik yapıya sahiptir. Steroidlerin çoğu ya alkoller, aldehitler ya da karboksilik asitlerdir. Renksiz, kristalimsi, genellikle yüksek erime dereceli ve optik olarak aktif maddelerdir [72].

2.5.1.1. β -Sitosterol

β -Sitosterol, steroid alkol gruplarından biridir (Şekil 2.25). β -Sitosterol, insan diyetinde en bol bulunan bitki sterolüdür. Bitkilerde bulunan fitosteroller biyoaktif özelliğe sahip bir grup steroid alkoldür. Yapısal ve fonksiyonel olarak kolesterol ile ilişkilidir ve insan besininin önemli bir bileşenini oluştururlar. Aynı zamanda çeşitli geleneksel ilaçların ana bileşenidir. Kliniksel β -sitosterol, yapılan klinik çalışmalarda antikanser, antiinflamatuvar ve ilerlemiş prostata karşı olumlu aktiviteye sahip olmasına rağmen etki mekanizmaları yeterince anlaşılmamıştır. Yapılan klinik çalışmalarda, β -sitosterol, benign prostat hiperplazisinin semptomlarının azaltılmasında önemli bir etki göstermiştir. Bu hipoteze destek olarak β -sitosterol, kanser hücre hattına karşı büyüme inhibitörü ve sitotoksik etkiler göstermiştir [82].



Şekil 2.25. β -sitosterolün genel yapısı [82].

Serenoa, repens ya da saw palmetto prostat kanseri tedavisinde kullanılan yaygın bir antikanser özelliğe sahip bitkilerdir. Bu bitkiler, tümör hücrelerine karşı etkili olan ve daha fazla metastazı önleyen ana bileşen olarak beta sitosterol içerir. Beta sitosterol, fitosteroller altında sınıflandırılmıştır ve kolesterola benzer bir kimyasal yapıya sahiptir. Beta sitosterolun ekstraksiyonu yapıldığında, saflaştırıldığında ve buharlaştırıldığında, belirgin kokusu ile beyaz mumlu bir toz şeklindedir. Hidrofobiktir bu nedenle alkol kullanılarak çözülür ve formüle edilir. Beta sitosteroller, antioksidan enzimlerin, süperoksit dismutazın ve glutatyon peroksidazın aktivitesini arttırmak için kullanılır. Aynı sınıf içerisindeki sitosterollerin ve diğer fitoesterollerin de kanser gelişimini ve ilerlemesini etkilediği gösterilmiştir. Prostat ve meme kanseri hücre hatları üzerinde beta sitosterolun 8 µM konsantrasyonda bu hücrelerin büyümesini % 50 oranında azalttığı görülmüştür. Sitosterollerin, kanser hücrelerini apoptoza teşvik ettiği gösterilmiştir. Prostat kanser hücrelerinde sitosterollerle yapılan tedavi sonucu, hücrelerin çoğunu işlem sırasında öldürdüğü belirlenmiş ve popülasyonlarını düşürdüğü saptanmıştır [83].

2.6. Fitokimyasal Bileşiklerde Sitotoksosite

Sitotoksositeyi kesin bir şekilde ölçebilme yeteneği, insanlarda belirli sağlık riskleri oluşturabilecek bileşiklerin belirlenmesinde çok değerli bir araç olabileceğini kanıtlamaktadır. Sitotoksosite testi, kimyasalların hücre büyümesini, üremesini ve morfolojik etkilerini gözlemek için in vitro biyolojik değerlendirme sisteminin en önemli göstergelerinden biridir. Sitotoksosite çalışmaları, bitki özütleri veya bitkilerden izole edilen biyolojik olarak aktif bileşikler dahil olmak üzere, bir test maddesinin potansiyel toksisitesinin belirlenmesinde yararlı bir başlangıç aşamasıdır. Farmasötik veya kozmetik ürünlerin başarılı bir şekilde geliştirilmesi için asgari toksik olması ya da toksisite olmaması esastır ve bu bağlamda, hücresel toksisite çalışmaları çok önemli bir rol oynamaktadır. Kimyasalların sitotoksitesini değerlendirmek için çeşitli biyoanalizler ve farklı hücre hatları kullanılmıştır. Sitotoksosite testlerinin sürekli gelişimi ile morfolojik değişimlerle hücre hasarının tespiti, hücre hasarının belirlenmesi, hücre büyümesinin ve metabolik özelliklerin ölçülmesi gibi yöntemler ortaya çıkmıştır. Doku spesifik hücre kültürlerini içeren in vitro sitotoksosite deneyleri, insan için kullanılan herhangi bir ilaç toksisitesinin önemli belirleyicileri olarak kabul edilir. Hücre sitotoksitesinin ölçülmesi, aynı zamanda, terapötik antikanser ilaçların geliştirilmesi sürecinde vazgeçilmez olduğunu kanıtlamaktadır. Kanser hücrelerinin sitotoksosite seviyelerinin belirlenmesiyle kullanacak olan antikanser ilaçlar, hedef hücrelerin genetik materyalini bozmak veya hücrelerin hayatta kalmak için ihtiyaç duyduğu besinleri bloke ederek kanser hücrelerin çoğalmasını ve proliferasyonunu engelleyebilmektedir [84].

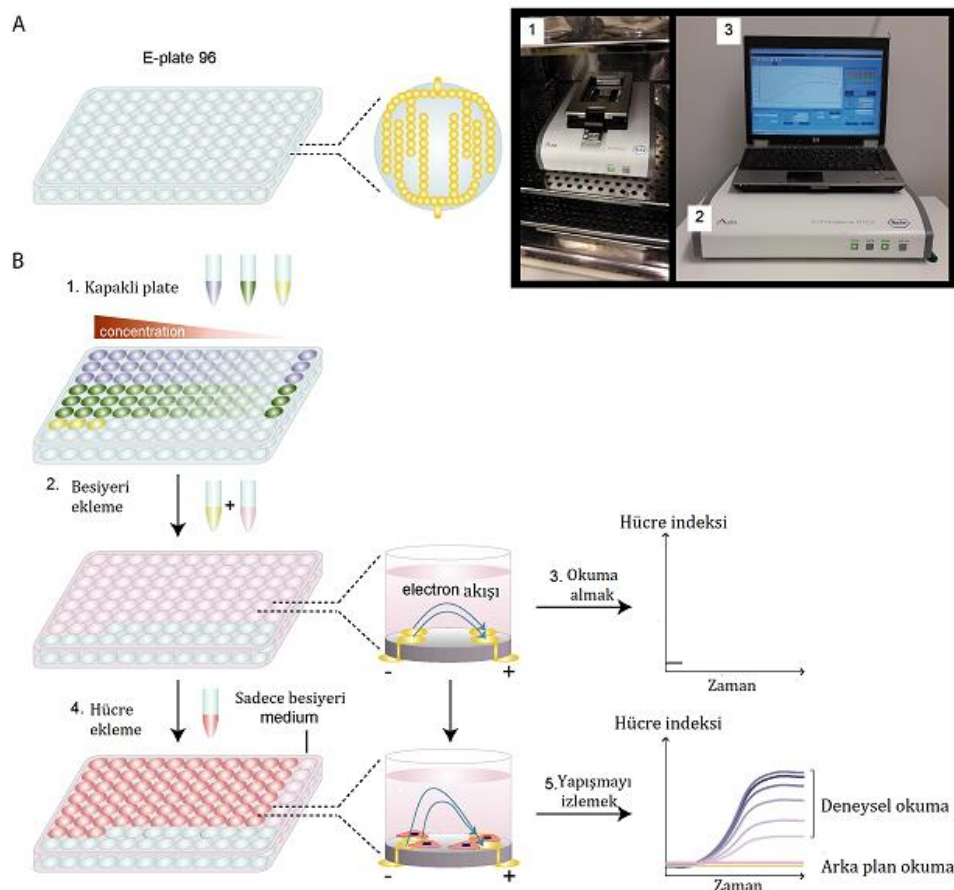
Bitki ikincil metabolitlerinin çoğu hem insanlar hem de hayvanlar için toksiktir. Örneğin; conium sp, strychnosdan strychnine hem insan hem de hayvan için zehirli etkiye sahiptir. Cassava'da görülen siyanojenik glikozitler insan ve hayvan için zehirlidir. Furan halkasına sahip furanokumarinler denilen bazı kumarinler fitotoksik özelliklidir. Bu bileşikler, ışığa maruz kalmadıkça toksik değildir. Bu kimyasallar kansere ve deri ile ilgili hastalıklara neden olabilirler [9].

2.7. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi (xCELLigence Sistemi)

Kanser hücre hattı üzerinde kanser hücrelerinin, gerçek zamanlı olarak çoğalma, yapışma, istila ve göç gibi davranışlarını incelemek için araştırmalar yapılmıştır [85]. xCELLigence cihazı ile hücre canlılığı ve toksisitesinin izlenmesi, biyolojik ve biyomedikal araştırmaların birçok alanı için kritik bir öneme sahiptir. Bu hücre canlılığının tespiti terapötik ajanların potansiyel sitotoksik yan etkilerini belirlemek için önemlidir. Kanser terapötikleri için kullanılan birçok ajan, hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki karmaşık dengeyi düzenler. Kanser tedavisinin nihai amacı, vücuttaki kanserli hücreleri azaltmak veya ortadan kaldırmaktır. Böylece hücre ölümünü artırarak veya hücre çoğalmasını azaltarak dengeyi düzenlemektedir. Hücre ölümü, belirgin morfolojik ve biyokimyasal yolların spektrumu aracılığıyla apoptosiz, nekrosiz ve otofaji ile sonuçlanır. İlaç etki mekanizmalarının şifresini çözmek ve önemli yan etkileri tanımlamak için sitotoksik ajanların aracılık ettiği farklı hücre ölüm modlarını anlamak önemlidir. Sitotoksiste, hücreleri öldüren bir bileşiğin özelliği olarak tanımlanmaktadır. Aktif maddelerin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini belirlemek için sitotoksiste testleri yapılabilmektedir. Sistem, bitki özütleri ve kanser hücreleri arasındaki etkileşimleri araştırmak için uygundur. Sitotoksik kemoterapi ajanları, birçok kanser türü için tercih edilen tedavi olarak kullanılmaktadır. Sitotoksik kemoterapi ajanları, mitozda bulunan hücreleri G₀ fazında daha fazla etkilemektedir. Sitotoksik ilaçlar, hücre ölümünü indüklemeyen önce hücre büyümesini ve bölünmesini engelleyen, hücrelerin çoğalmasından sorumlu hücre içi sinyal moleküllerinin, membran reseptörlerinin ve kinazların işlevine müdahale etmektedir. Sitotoksistenin belirlenmesinde çeşitli analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Geleneksel olarak, tripan mavisi, laktat dehidrojenaz, nötr kırmızı, MTT, MTS, WST-1 ve XTT deneyleri, hücre canlılığı ve sitotoksisteyi belirlemek için kullanılabilir. Buna ek olarak, günümüzde xCELLigence sistemleri sitotoksisteyi ölçmek için kullanılabilir. Bu sistemler hücre kültürlerini analiz etmek için kolay bir yöntem sunmaktadır. xCELLigence sistemi, ilaç geliştirme, toksikoloji, kanser, tıbbi mikrobiyoloji ve viroloji dahil olmak üzere çeşitli araştırma uygulamaları için dinamik, hücresel analiz sağlayan, zamana bağlı ve hücre bazlı analizler için bir mikroelektronik biyosensör sistemidir. xCELLigence, MTT ve tripan mavisi analizleri dahil olmak üzere hücresel

faaliyetler için geleneksel analizlerin yerini, yüksek hassasiyet ve özgüllük ile almıştır. Sonuç olarak, xCELLigence sistemi, yeni ilaçların geliştirilmesine yardımcı, olarak bileşikler ve hücreler arasındaki etkileşimi araştırmak için kullanılabilir. Doğal ajanların kanserdeki etkisine yönelik araştırmalar artmakta ve birçok antikanser ilaç bitkilerden elde edilmektedir. Bu nedenle, tıbbi bitki özlerinin antikanser etkilerinin araştırılması, kanser tedavisinde kullanılacak bileşiklerin saptanması açısından önemlidir. Bitkilerde ve bitkilerde bulunan apigenin ve luteolin dahil olmak üzere flavonların antialerjik, antienflamatuar, antioksidan ve antitümör etkileri vardır [85].

xCELLigence sistemi, elektriksel empedansı ölçerek hücresel fenotipik değişikliklerin sürekli olarak dinamik izlenmesini sağlamaktadır. xCELLigence sistemi, 32 kuyucuklu platerlerin (E-plate 32) alt kısmına entegre edilmiş mikroelektronik hücre sensörü grubudur. xCELLigence sistemi, altın mikroelektrotları kullanarak kuyucuklardaki hücrenin empedansı ölçmektedir (Şekil 2.26) [85].



Şekil 2.26. xCELLigence cihazı ve elektronik sensör analizörü ile hücrelerin elektrik empedansının ölçümü [85].

Empedans ölçümleri, hücre sayısı, hücre canlılığı ve hücre morfolojisi gibi hücrenin biyolojik durumu hakkında nicel bilgi sağlayan hücre indeksi (CI) değerleri olarak görüntülenir. Hücre canlılığının empedans temelli izlenmesi, hücre sayısı okuma ile ilişkilidir. Hücreler üzerinde sitotoksik bileşikler ya da proliferasyon faktörleri gibi hücre hatları üzerine uygulanan kimyasalların hücre canlılığı oranını tespit etmek için xCELLigence yöntemi kullanılmaktadır. Hücre sayısı ne kadar artarsa CI o kadar yüksek değer vermektedir ve tam tersi durumda ise yani hücre sayısı azaldıkça CI o kadar düşük değer vermektedir. Hücrelere bir bileşiğin dozunun zamana bağlı yüksek sitotoksik etki gösterirse CI düşük değer vermektedir [86]. Örneğin; CI değerlerindeki düşüş oranının işaret ettiği üzere, yüksek konsantrasyonların düşük konsantrasyonlara kıyasla çok daha hızlı sitotoksikite oluşturduğu gösterilmiştir. CI değerleri en düşük seviyesine ulaştığında en yüksek düzeyde apoptotik indüksiyon gözlenir. CI ölçümlerinin bu yüksek duyarlılığı, apoptoza yol açan ajanlar tarafından üretilen bileşik aracılı değişikliklerin daha fazla incelenmesi için en iyi zaman noktalarının belirlenmesinde idealdir [86].

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Mersin bölgesi biyoçeşitlilik bakımından ülkemizin önde gelen bölgelerinden biridir. *Alyssum floribundum* Bioss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisi Mayıs 2018'de bitkinin vejetasyon döneminde Mersin ili Erdemli ilçesi Müğlü deresi civarından toplanmıştır. Toplanmış örnekler gölgede tamamıyla kurutularak öğütücüde öğütülmüştür. Öğütülen materyalin özütleme çalışmalarında çözücü ekstraksiyon yöntemi (Soxhlet) kullanılmıştır.

3.1.2. DU-145 Prostat Kanseri Hücre Hattı

DU-145 (insan prostat adenokarsinoma) hücre hattı Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim ve Araştırma Merkezi (MEITAM)'nden temin edilmiştir. Çalışmada androjene bağımsız DU-145 (ATCCHTB81) prostat kanseri hücre hattı kullanılmıştır. Köken aldığı metastatik bölge kemiktir. Yapışan (monolayer) hücre tipidir.

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve solüsyonlar Tablo (3.1)'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasallar.

Adı	Marka	Model	Üretim yeri
Dimetil Sülfoksit (DMSO) 100mL	Sigma- Aldrich	D2650	ABD
Sodyum Karbonat (Na ₂ CO ₃)	İsolab	407-19-8	Almanya
Folin-Ciocalteu's Fenol (FCR)	Merck	HC85341601	Almanya
Penisilin-Streptomisin 10,000 units/mL Penisilin (100 mL)	Sigma-Aldrich	BIO- IND,BI03- 031-1C	ABD

Tablo 3.1. (devamı)

Adı	Marka	Model	Üretim yeri
Etil Alkol (Etanol) (C ₂ H ₆ O)	Merck	64-17-5	Almanya
Gallik Asit	Sigma-Aldrich	149-91-7	ABD
Fetal Bovin Serum (FBS) (100 mL)	Heat Lnactivated	Bio-IND,BI04-127-1B	ABD
Fosfat Tamponlu Tuz (PBS)	Chembio	CB6655.0500	ABD
DPBS-10X w/o Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺	Merck	BSS-2010	Almanya
RPMI-1640	Merck	51536C	Almanya
Trypsin-Versene (EDTA) Mix (1X) 100 mL	Lonza	BE17-161E	ABD
Glutamin-L- glutamin Solüsyon, 29.2 mg/mL in Saline) (200 mmol) (100 mL)	Sigma-Aldrich	1.2346E+11	ABD
Fungizone (Amphotericin B) 250 µg/mL	Merck	A2942	Almanya
MDEM	Merck	D5796	Almanya

Çalışmada kullanılan cihazlar (Tablo 3.2)'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kullanılan Cihazlar.

Adı	Marka	Model	Üretim yeri
Soğutucular 250 mL	İsolab	35.1125	Almanya
Soxhlet Ekstraksiyon Aparatı 250 mL	İsolab	036.01.250	Almanya
CO ₂ inkübatörü	Sanyo	MCO-175M	Japonya
Hassas Terazı	Radwag	As220.R2	Polonya
Mantolu Isıtıcı	İsolab	60811100	Almanya

Tablo 3.2. (devamı)

Adı	Marka	Model	Üretim yeri
Buzdolabı (+4°C ve 20°C)	Arçelik	570505 MB	Türkiye
xCELLigence® Gerçek Zamanlı Hücre Elektronik Algılama Cihazı	Roche Diagnostics GmbH	3x16	Almanya
Gaz Kromatografi/Kütle Spektroskopisi	Agilent GC-MS	7890A - (5975C inert MSD)	ABD
Flask: TC Flask, 75 cm ² , Canted Neck, Anti-Tip, Plug Seal, Sterile (CORNING)	Merck	CC430720	Almanya
xCELLigence E-plate 96'lık	xCELLigence RTCA Consumables	5.2E+09	Almanya
Spektrofotometre	Shimadzu	UV-601	Japonya
Mikro Pipetler	Eppendorf	Research	Almanya
Rotary Evaporatör	Buchi	B-491	İsviçre
Selülozik Kartuş 28 mm	İsolab	102.28.080	Almanya

3.1.4. Kullanılan Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan sarf malzemeler Tablo (3.3)'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler.

Adı	Marka	Üretim Yeri
Pipet ucu- Konik- mavi-100-1000 µL	İsolab	Almanya
Pipet ucu-Konik-sarı-1-200 µL	İsolab	Almanya
Eppendorf tüp 1500 µL	İsolab	Almanya
Polietilen tüp (5 mL)	Falcon tüp: Blue max™	Meskika

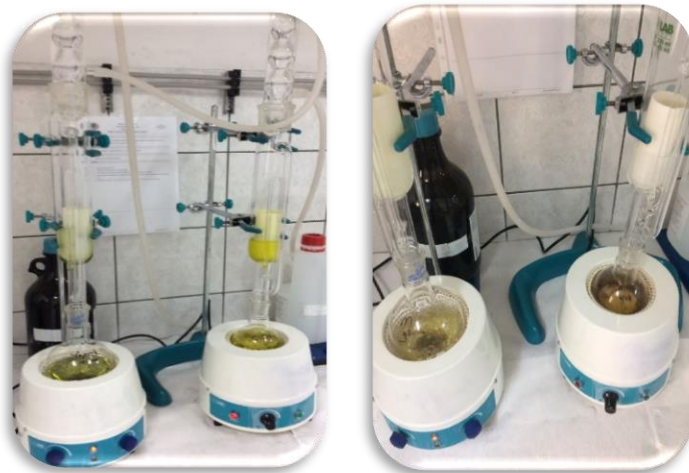
3.2. Yöntemler

3.2.1. *A. floribundum* Bitkisinin Kurutulması ve Bitki Özütlerinin Hazırlanması

A. floribundum bitkisi oda sıcaklığında gölgede kurutulmuştur (Şekil 3.1). Kurutulmuş *A. floribundum* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımları öğütücü yardımıyla öğütülüp toz haline getirilmiştir. Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitkilerin farklı kısımların (kök, gövde, yaprak ve çiçek) 10 gr alınıp 6 saat boyunca Soxhlet ekstraksiyonu ile 250 mL etanolda ekstrakte edilmiştir (Şekil 3.2). Daha sonra çözücü 55-57°C'de rotary evaporatör ile özütlerden uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.3) ve *A. floribundum* bitkisinin özütleri beherlere aktarılarak oda sıcaklığında 10 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.4). Elde edilen bütün özütler, analiz edilene kadar +4°C'de kapalı kaplarda saklanmıştır.



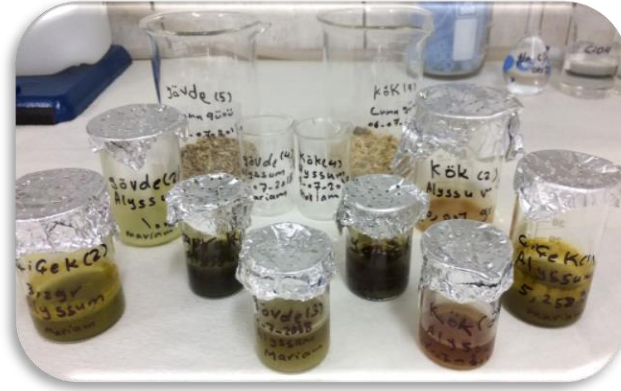
Şekil 3.1. Kurutulmuş *A. floribundum* Bioss. & Balansa bitkisi.



Şekil 3.2. Soxhlet yöntemiyle *A. floribundum*'un özütlemesi işlemi.



Şekil 3.3. Evaporatör ile bitki özütlerinden çözücünün uzaklaştırması.



Şekil 3.4. Konsantre edilmiş ve kurutulmuş *A. floribundum* özütleri.

3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması

3.2.2.1. % 20'lik Sodyum Karbonat (Na_2CO_3) Çözeltisi

20 gr Na_2CO_3 tartılarak distile suda 100 mL'ye tamamlanmıştır.

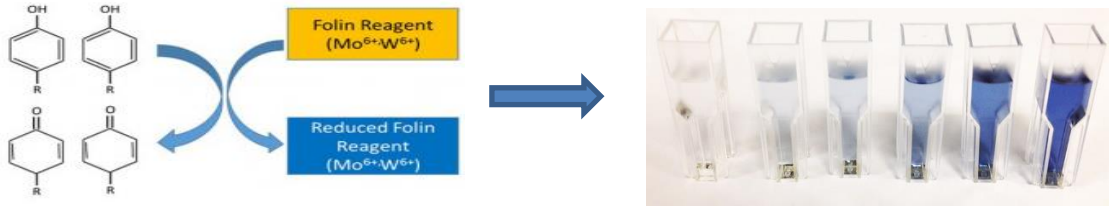
3.2.2.2. Standart Gallik Asit Çözeltileri

1. 50 mg gallik asit tartılarak distile suda 1000 mL'ye tamamlanmıştır (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$).
2. 100 mg gallik asit tartılarak distile suda 1000 mL'ye tamamlanmıştır (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$).
3. 200 mg gallik asit tartılarak distile suda 1000 mL'ye tamamlanmıştır (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$).
4. 400 mg gallik asit tartılarak distile suda 1000 mL'ye tamamlanmıştır (400 $\mu\text{g}/\text{mL}$).
5. 600 mg gallik asit tartılarak distile suda 1000 mL'ye tamamlanmıştır (600 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

6. 800 mg gallik asit tartılarak distile suda 1000 mL'ye tamamlanmıştır (800 µg/mL).

3.2.3. Toplam Fenolik Bileşiklerin Tayini

Toplam fenolik bileşiklerin tayini Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile belirlenmiştir. Folin-Ciocalteu reaktifi baz ortamı içeren fosfotungustik ($H_3PW_{12}O_{40}$) ve fosfomolibdik ($H_3PM_{12}O_4$) asitlerden oluşur. Bu yöntemin ilkesi, fenolik bileşiklerin oksitleyici grupları ile indirgenmiş tepkime gerçekleştikten sonra fosfotungustik ve fosfomolibdik asitler mavi renkli metal oksitlere (W_8O_{23}/Mo_8O_{23}) çevrilir (Şekil 3.5). Folin reaktifi ile muamele edildikten sonra oluşan mavi renk, spektrofotometrede 714 nm dalga boyunda ölçülür. Fenolik bileşiklerin konsantrasyonu arttıkça mavi renk yoğunluğu artar.



Şekil 3.5. Folin -Ciocalteu reaktifi ile Fenolik bileşenlerin reaksiyonu [87].

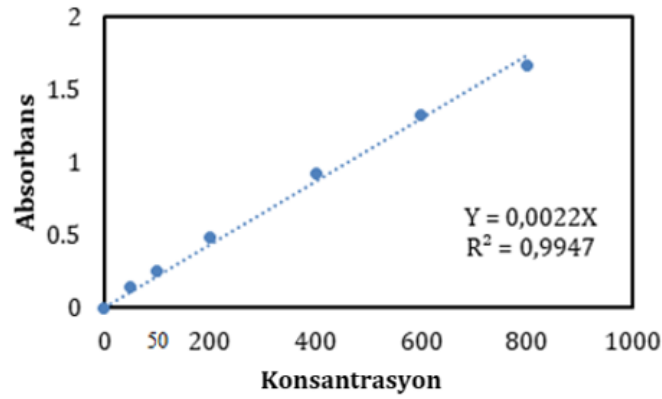
Folin-Ciocalteu (FCR) ile fenolik madde tayini aşamaları şunlardır;

- Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile *A. floribundum* bitkisinden etanol ile elde edilen etanollü özütlerin toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir.
- Standart çözeltiler 50-800 mg/L konsantrasyon aralığında hazırlanmıştır. Toplam fenolik (TF) madde içerikleri Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak UV-VIS spektrofotometre (Spektrofotometre-UV-1601 (Shimadzu, Japonya)) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.
- Kalibrasyonda standart gallik asit çözeltilerine, özütlerde ise seyreltilmiş numunelerin 1 mL'si üzerine 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir.
- 5 dakika karanlıkta bekletildikten sonra numune üzerine 2 mL % 20'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi ve 2 mL su ilave edilmiştir.
- Karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra spektrofotometre ile 714 nm dalga boyunda ölçülerek analiz gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler (50-800 mg/L).

Standart	Konsantrasyon (mg/L)	Absorbans (nm)
Gallik asit	50	0.11
Gallik asit	100	0.22
Gallik asit	200	0.44
Gallik asit	400	0.88
Gallik asit	600	1.32
Gallik asit	800	1.76

- Örneklerin absorbans değerlerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart eğri denkleminde ($Y=0,0022X$) hesaplanmıştır. Gallik asit kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiği (Şekil 3.6)'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Gallik asit standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi.

- Toplam fenolik madde miktarı; *A. floribundum* özütlerinde "mg gallik asit/L" cinsinden belirlenmiştir ve aşağıdaki denklem kullanılarak "mg gallik asit/g" cinsinden belirlenmiştir (Şekil 3.7).

$$TF = (C \times V) / M$$

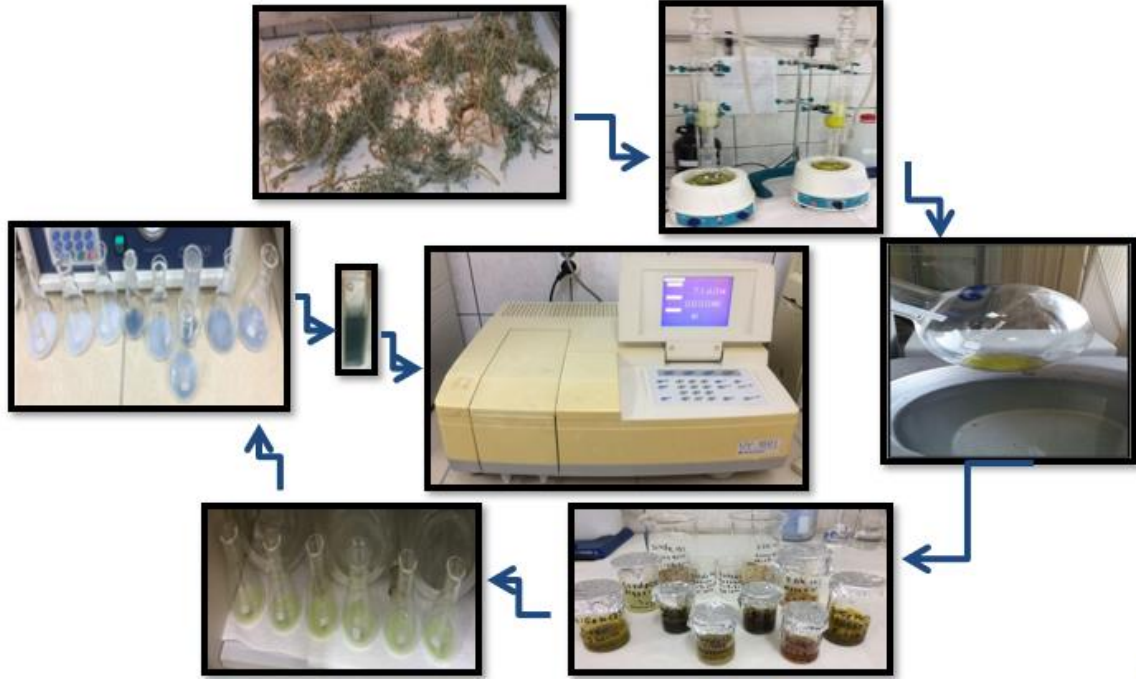
TF = Toplam fenolik bileşiklerin miktarı (mg GAE/g özüt).

C = Kalibrasyon eğrisinden elde edilen gallik asit konsantrasyonu (mg/L).

M = Bitki özütünün miktarı.

V = Özüt hacmi.

Folin-Ciocaltue (FCR) ile fenolik madde tayini aşamaları şekil (3.7)'de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Folin-Ciocalteu (FCR) ile fenolik madde tayini aşamaları.

3.2.4. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi ile Sitotoksite Analizi

Androjene bağımsız DU-145 (insan prostat adenokarsinoma) hücre hattı Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim ve Araştırma Merkezi (MEİTAM)'nden temin edilmiştir. Hücreler; % 10 FBS, % 10 RPMI 1640, % 1 penisillin/streptomisin solüsyonundan oluşan besiyeri ortamında, 37°C'de % 5 CO₂ inkübatöründe kültüre edilmiştir. Hücrelerin yeterince çoğalıp çoğalmadığının değerlendirilmesi için boyanarak sayım yapılmıştır. İstenilen yoğunluğa (yeterli sayıya) ulaşan hücreler, xCELLigence cihazında analizi yapılmak üzere 32'lik plakalara her bir kuyucukta 5.000 hücre olacak şekilde besiyerine ekilmiştir. Plakalar 37°C, % 5 CO₂ içeren inkübatörün içerisinde bulunan xCELLigence cihazına yerleştirilmiştir. Hücrelerdeki yayılma ve çoğalma, xCELLigence sistemi kullanılarak deney süresince her 15 dk'da bir sürekli izlenmiştir. Hücre sayıslarındaki değişimler, altın mikroelektrotlar içeren hücre kültürü kuyucuklarında okunmuştur. Hücre sensörü tarafından algılanan empedansın elektronik okuması, hücre indeksi (CI) değerleri olarak adlandırılmaktadır. Plaklardaki hücreler 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. *Alyssum floribundum* bitkisinin farklı kısımlardan hazırlanan özütler dimetilsülfoksit (DMSO) ile çözülerek, 10 mg/mL'lik stok solüsyonlar hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan bu stok solüsyonlardan 20, 40, 80, 160 µM olmak üzere farklı konsantrasyonlarda bitki özütleri hazırlanmıştır. Plaklardaki hücrelerin 24 saat inkübasyon sonunda hücreler farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bitki özütleri ile muamele edilmiştir. Bitki özütleri hücrelere

uygulandıktan sonra tekrar inkübe edilmiştir ve cihazın okuması tekrar başlatılmıştır. Madde uygulamasından sonra sağlıklı bir proliferasyon analizi için 79 saat civarı okuma yapılmıştır. Hücrenin elektriksel akım empedansı, zamana bağlı hücre tepkisi dinamik eğrileri üretmek için her 15 dakikada bir xCELLigence sistemi kullanılarak izlenmiştir [86].

3.2.5. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) Analizi

A. floribundum özütünün bileşenlerinin analizi için, Agilent marka ve 7890A-(5975C inert MSD) GC/MS cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.8). Daha sonra *A. floribundum* özütlerindeki bileşenlerin karakterizasyonu 3 elektronik kütüphane kullanılarak yapılmıştır.

GC Analiz Koşulları

Sistem: Agilent GC- MS 7890A-(5975C inert MSD).

Kolon: Agilent 19091S-433HP-5MS, %5 Fenil Metil Siloksan (Kapiler: 30.0 m x 250 µm x 0.25 µm).

Taşıyıcı Gaz: Helyum.

Gaz akış hızı: 1 mL/dk.

Enjeksiyon Sıcaklığı: 285°C

Enjeksiyon Hacmi: 2 µL.

Oven (Fırın) Program: GC (Gaz kromatografisi)'nin sıcaklığı 40°C'de 5 dakika tutulup ve dakikada 4°C'lik artışlarla 220°C çıkarılmış, bu sıcaklıkta 5 dakika tutulup daha sonra dakikada 11°C artışlarla 280°C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 15 dakika beklenip tekrar 11°C artışla 300°C kadar çıkarılıp 5 dk. beklenildikten sonra analiz sonlandırılmıştır.

Toplam Analiz Süresi: 82.5 dk.

Maksimum Sıcaklık: 325 °C.



Şekil 3.8. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi cihazı.

3.2.6. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler Free trial IBM SPSS istatistik paket program kullanılarak yapılmıştır. Paket programa ait tanıtıcı istatistikler ve grafikler çizilmiştir. Verilerin dağılımını kontrol etmek amacıyla kolomogorov smirnov normallik testi kullanılmıştır. Çalışmamızda bağımlı grupların normal dağılım göstermemesi nedeniyle Wilcoxon Signed Rank Test kullanılmıştır. Gruplar arasında farklılıkları saptamak amacıyla ikili karşılaştırmalarda normal dağılım gösterenler için İndependent t test ve ikiden fazla grupların karşılaştırmasında ise kruskal wallis nonparametrik testler kullanılmıştır. Yapılan analizlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini

A. floribundum bitkisinden elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktar tayinleri Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. Bu çalışmada, *A. floribundum* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından etanol ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları tayin edildi (Tablo 4.1, 4.2).

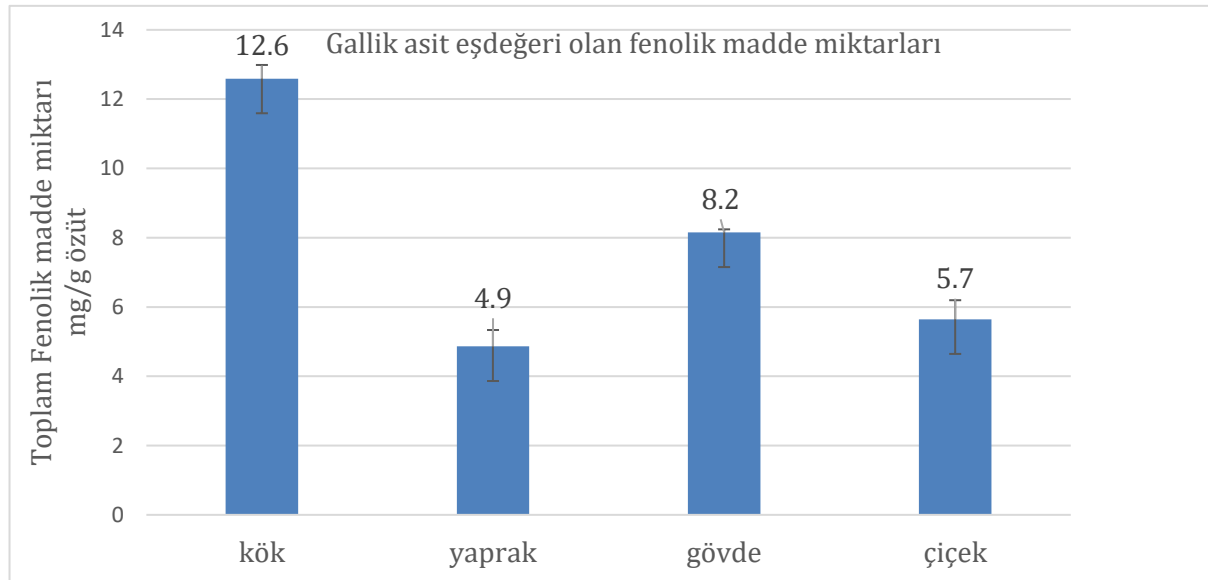
Tablo 4.1. *A. floribundum* bitkisinin gallik asit eşdeğeri olan toplam fenolik madde miktarları.

Bitki özütü	Özütün ağırlığı (gr)	Absorbans (nm)	Konsantrasyon (mg/L)	TF=CxV/M (mg GAE/g)	TF Toplama ± SD
Gövde	1- 0.0308	0.546	248.18	8.05	8.2 ± 0.1
	2-0.03069	0.547	248.636	8.1	
	3- 0.030	0.540	245.45	8.18	
	4-0.04308	0.776	352.72	8.28	
Kök	1- 0.02471	0.749	295.5	11.96	12.6 ± 0.4
	2-0.03001	0.857	389.55	12.98	
	3-0.0301	0.830	377.27	12.57	
	4-0.0193	0.546	248.64	12.86	
Yaprak	1-0.0328	0.355	163.26	5.37	4.9 ± 0.5
	2-0.029	0.346	157.27	4.97	
	3-0.0348	0.326	148.18	4.258	
Çiçek	1- 0.019	0.263	119.55	6.292	5.7 ± 0.55
	2-0.0327	0.326	148.18	4.53	
	3- 0.0233	0.297	135	5.7	
	4- 0.019	0.263	119.55	6.035	
	5- 0.23.5	0.312	139.8	5.92	

Tablo 4.2. Toplam fenolik madde miktarları (ortalama±SD).

Bitki örneği	Toplam fenolik madde miktarı Ortalama ± SD (mg GAE / g özüt)
Kök	12.6 ± 0.4
Gövde	8.2 ± 0.1
Çiçek	5.7 ± 0.55
Yaprak	4.9 ± 0.5

A. floribundum bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından etanol ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları Şekil (4.1)'de gösterilmiştir.

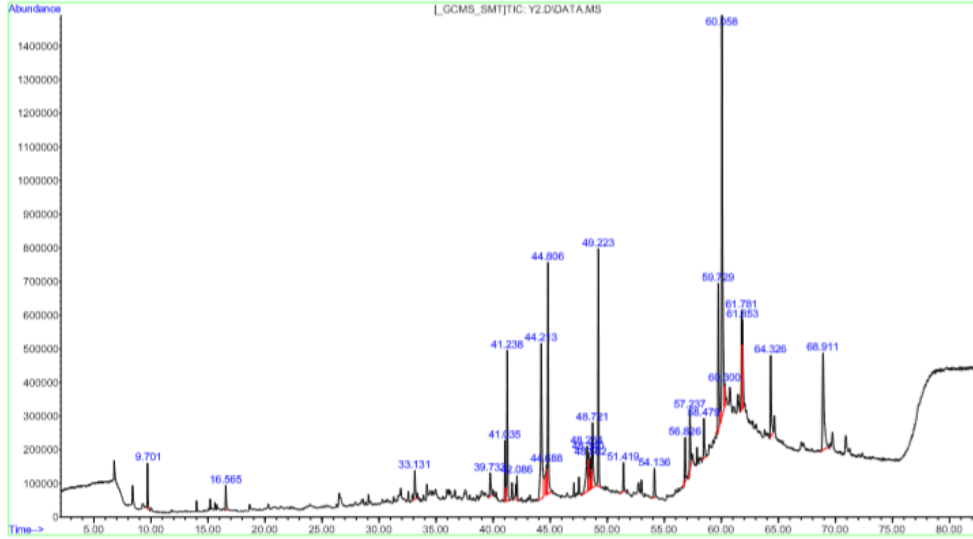


Şekil 4.1. *A. floribundum* özütlerinin gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde miktarları düzeyleri.

4.1.2. GC/MS Analizlerine Ait Bulgular

4.1.2.1. *A. floribundum* Yaprak Özütlerine Ait GC/MS Bulguları




A. floribundum yaprak özütlerinin kalitatif ve kantitatif analizi GC/MS kullanılarak belirlenmiştir. *A. floribundum* yaprak özütlerinin kromatogramı Şekil (4.2)'de, kimyasal içerikleri ise Tablo (4.3)'te gösterilmiştir.



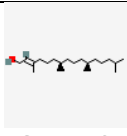
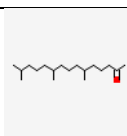
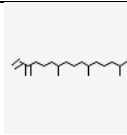
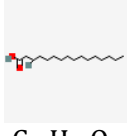
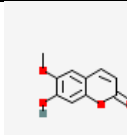
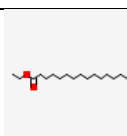
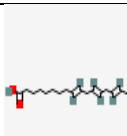
Şekil 4.2. *A. floribundum* yaprak özütlerinin GC/MS kromatogramı.

GC/MS sonuçları Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

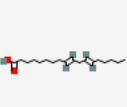
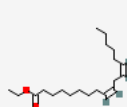
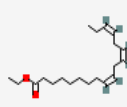
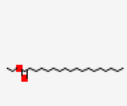
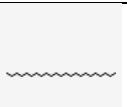
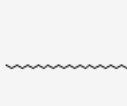
Tablo 4.3. *A. floribundum* yaprak özütleri GC/MS sonuçları.

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
2	 C ₆ H ₄ Cl ₂	1,2-diklorobenzen (1,2-diklorobenzen)	% 97	3549043 = % 0.94	16.568	146.998	55-64.9-74.9- 84.8-95-110.9- 121-132.8- 145.9-165.1- 178.9-206.9 m/z.
3	 C ₈ H ₆ O ₂	4,4,7a-trimetil- 6,7-dihidro-5H- 1-benzofuran- 2-on (2 (4H) - benzofuranon, 5,6,7,7a- tetrahidro- 4,4,7a-trimetil)	% 98	4694613 =% 1.24	33.129	180.247	51-67-94.9- 110.9-137- 151.9-180- 252.8-330.9 m/z.
4	 C ₁₁ H ₁₆ O ₃	(6s, 7ar) -6- hidroksi-4,4,7a- -trimetil-6,7- dihidro-5h-1- benzofuran-2- on ((-)-Loliolide)	% 96	2930806 = %0.78	39.736	196.246	56.9-68.9-85- 97-110.9-125- 140-162.9- 177.9-196-252.1 m/z.

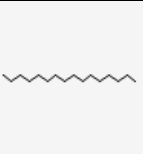
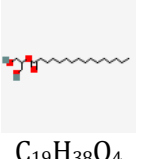
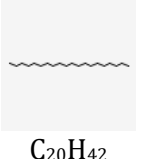
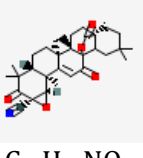
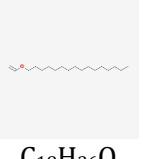
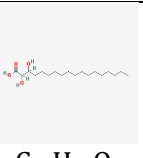
Tablo 4.3. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
5	 C ₂₀ H ₄₀ O	(E, 7R, 11R) - 3,7,11,15-tetrametilheksadek-2-en-1-ol (fitol)	% 91	6633465 =% 1.76	41.032	296.539	55-68-82-95-109-123-137.1-151-164.9-179-192.9-206.9-221.1-249.4-262.9-278.3 m/z.
6	 C ₁₅ H ₃₀ O	6,10,14-trimethylpentadecan-2-on (2-pentadekanon, 6,10,14-trimethyl)	% 91	1963961 9= % 5.20	41.239	268.48	57.9-71-85-109-124-137-150.9-165-179-194.1-210.1-225.1-250.1-268.1-280.8 m/z.
7	 C ₂₀ H ₃₈	7,11,15-trimetil-3-metilidenidenheksadek-1-en (Neofadien)	% 93	2985688 = % 0.79	42.083	278.524	56.9-81-94.9-108.9-123-136-149-165-178.9-193-207-228.1-278.2 m/z.
8	 C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Hekzadekanoik asit (Palmitik asit)	% 99	3587690 3= % 9.50	44.217	256.43	55-72.9-97-128.9-148.9-171-194-213.1-239-256.2-280.9-355-401 m/z.
9	 C ₁₀ H ₈ O ₄	7-hidroksi-6-metoksikromen-2-on (7-hidroksi-6-metoksi-2H-1-benzopiran-2-on) (skopoletin)	% 87	7221755 = % 1.91	44.594	192.17	55-68.9-82.9-97-120.9-134.9-148.9-164-176.9-191.9-213-227.1-256-281 m/z.
11	 C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Etil heksadekanoat (Hekzadekanoik asit, etil ester Palmitik asit, etil ester)	% 99	2957859 2= % 7.83	44.809	284.484	55-72.9-87.9-101-115-129-143-157-171-185-199-213-227.1-241.1-255.1-284.2 m/z.
12	 C ₁₈ H ₃₀ O ₂	(9e, 12e, 15e) - Octadeca-9,12,15-trienoik asit (9,12,15-Oktadekatrienoik asit (Linolenik asit))	% 98	1248223 3= % 3.30	48.231	278.436	55-78.9-95-111-135-151-174-192-221.9-240.1, 264-281-326.6 m/z.

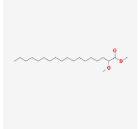

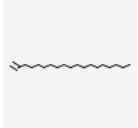
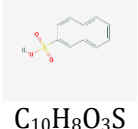
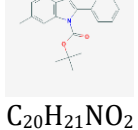
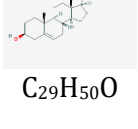
Tablo 4.3. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
13	 C ₁₈ H ₃₂ O ₂	(9e, 12e) - Octadeca-9,12-dienoik asit (9,12-Octadecadienoi k asit (linoleik asit))	% 97	6472484 =% 1.71	48.342	280.452	55-68-81-94.9-109-122.9-137.1-151-165-178.9-192.9-206.8-222.1-249.3-264.1-280.1 m/z.
14	 C ₂₀ H ₃₆ O ₂	Etil (9Z, 12Z)-oktadeka9,12di enoat (Linoleik asit etil ester (Etil linoleat))	% 97	3613349 =% 0.96	48.564	308.506	53-66.9-81-95-109-122.9-149.9-163.9-178.1-191.9-206.9-220.1-234.1-262.9-281-308.1 m/z.
15	 C ₂₀ H ₃₄ O ₂	Etil (9z, 12z, 15z) - oktadeka-9,12,15-trienoat (Etil 9,12,15-oktadekatrieno at)	% 99	1340685 6= % 3.55	48.720	306.49	54.9-79-95-121-134.9-149-163.1-185.1-206.9-222-241.1-261-284.2-206.1 m/z.
16	 C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Etil oktadekanoat (Oktadekanoik asit, etil ester (Stearik asit, etil ester))	% 99	2691144 7=% 7.12	49.223	312.538	57-72.9-87.9-114.9-130-157-185-213-241.1-269.1-284.2-213.2 m/z.
17	 C ₂₃ H ₄₈	Trikozan	% 97	3804860 = % 1.01	51.416	324.637	57-85-111-127-155-182.1-206.9-239.2-281-324.3-354.9 m/z.
18	 C ₂₄ H ₅₀	Tetrakotozan	% 96	5231546 = % 1.38	54.134	338.664	57-85-111-126.9-155-183.1-207-224-239-265.9-281.1-297.1-340.1 m/z.

Tablo 4.3. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
19	 C ₁₆ H ₃₄	Hekzadekan	% 96	5889414 = % 1.56	56.830	226.448	57-85-112.9- 141.1-169-191- 206.9-225.1- 253-280.9-309- 326.9-352.3 m/z.
20	 C ₁₉ H ₃₈ O ₄	1,3- dihydroxyprop- an-2-il heksadekan oat (Heksadeka noik asit, 2- hidroksi-1- (hidroksime til) etil ester)	% 68	1044570 4= % 2.77	57.237	330.50	57-98-133.9- 171-206.9- 239.1-270.1- 299-355.1-400.7 m/z.
21	 C ₂₀ H ₄₂	İkozan	% 98	5848720 = % 1.55	58.482	282.556	57-85-111-141- 168.9-188.8- 206.9-225.2- 252.9-280.9- 327-354.8-400.9 m/z.
22	 C ₃₁ H ₃₉ NO ₅	(Z)- pentakoz-3- en (n- Pentakoz-3- en)	% 93	2198630 1= % 5.82	59.726	506.779	57-83-111-139- 166.9-206.9-229, 253.1-280.9- 326.8- 354.9- 379.1-400.9- 428.9-478.9 m/z.
23	 C ₁₈ H ₃₆ O	1- etenoksihek sadekan (Heksadeka n, 1- (etenil oksi) -)	% 93	807665= % 0.21	59.911	268.485	57-97-124.9- 146.9-176.9- 206.9-229.7- 252.9-280.9- 326.9 m/z.
24	 C ₁₈ H ₃₆ O ₄	2,3- dihidroksi oktadekanoi k asit (Oktadekan oik asit, 2,3- dihidroksi propil ester (stearin-1- mono)	% 95	6470331 0= % 17.13	60.059	266.513	57-98-133.9- 168-206.9- 241.1-267.1- 298.2-327.1 m/z.

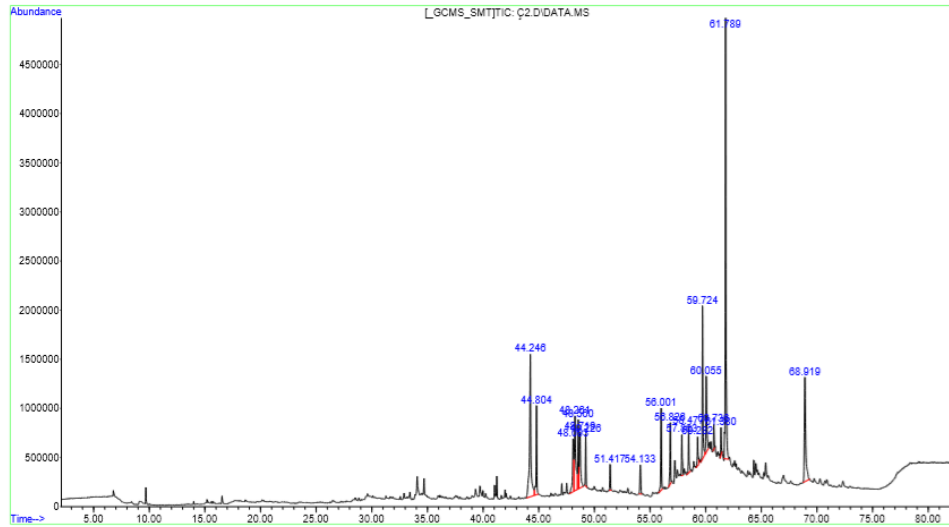
Tablo 4.3. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
25	 C ₂₀ H ₄₀ O ₃	Metil 2-metoksi oktadekanoat (Metil 2-metoksi oktadekanoat)	% 56	333609 7= % 0.88	60.296	328.537	57-97-125- 148.9-177- 206.9- 229.1- 253-280-326.8- 354.9-379.3- 405.1-429.2- 460.8 m/z.
26	 C ₂₉ H ₆₀	Nonakozan (Nonakosan)	% 96	103730 91= % 2.75	61.778	408.799	57-85-111- 132.9-155- 176.9-206.9- 228.9-252.9- 280.9-326.8- 354.9-388.9- 419.3-460.8 m/z.
27	 C ₁₉ H ₃₈	Nonadek-1-en (1-Nonadeken)	% 95	132566 07=% 3.51	61.852	266.513	57-83-111- 134.9-176.9- 206.9-228.8- 253-280.9- 326.9-355-389- 419.3-460.8 m/z.
28	 C ₁₀ H ₈ O ₃ S	Naftalen-2-sülfonik asit (2-Naftalen-sülfonik asit)	% 93	152857 53= % 4.05	64.326	208.231	57-85-110.9- 135-157-177- 206.9-227.2- 253-280.9- 326.8-355- 394.3-428.8- 460.8 m/z.
29	 C ₂₀ H ₂₁ NO ₂	Tert-butil 6-metil-2-fenilindol-1-karboksilat (6 metil-2 fenilindole)	% 38	428526 8= % 1.13	64.644	307.393	56.9-80.9-104.9- 147-176.9- 206.9-252.9- 280.9-326.8- 355-396.3-429- 460.8-534.9 m/z.
30	 C ₂₉ H ₅₀ O	(3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -17 - [(2R, 5S) -5-etil-6-metilheptan-2-il] -10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahidro-1H-siklopenta [a] fenantren-3-ol (Gama-Sitosterol)	% 93	269739 68= % 7.14	68.910	414.718	54.9-80.9-104.9- 132.9-162.9- 206.9-231.1- 255.1-280.9- 239.2-355.1- 381.2-414.3- 478.9-534.8 m/z.

*Mw molekül ağırlığı, Rt alıkonma zamanı, % pik alanının toplam pik alanına oranı, MF kütüphanedeki benzerlik oranını ifade etmektedir.

4.1.2.2. A. floribundum Çiçek Özütlerine Ait GC/MS Bulguları

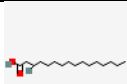
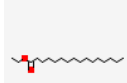
A. floribundum çiçek özütlerinin kalitatif ve kantitatif analizi GC/MS kullanılarak belirlenmiştir. A. floribundum çiçek özütlerinin kromatogramı Şekil (4.3)'te, kimyasal içerikleri ise Tablo (4.4)'te gösterilmiştir.



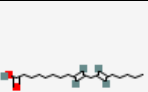
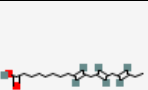

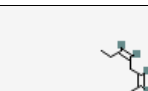
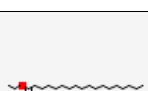
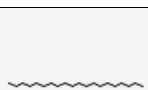
Şekil 4.3. A. floribundum çiçek özütlerinin GC/MS kromatogramı.

GC/MS sonuçları aşağıdaki Tabloda gösterilmiştir.

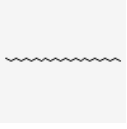
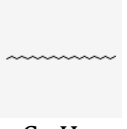


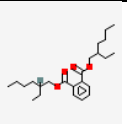
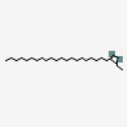
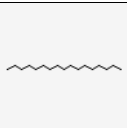
Tablo 4.4. A. floribundum çiçek özütleri GC/MS sonuçları.

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
1	 C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Hexadekanoyik asit (Palmitik asit)	% 99	120616 956 = % 12.84	44.2 46	256.43	59.9-72.9-85-97- 115-129-148.9- 171-185-199- 213.1-227.1- 239.2-256.1-280.9 m/z.
2	 C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Etil heksadekanoyat (Heksadekanoyik asit, etil ester (Etil palmitat))	% 99	411484 67 = % 4.38	44.8 02	284.484	55-72.9-87.9- 100.9-114.9-129- 143-157-171-185- 199-213.1-227.1- 241.1-255.1-284.2 m/z.

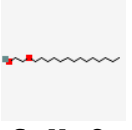
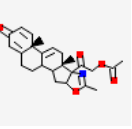
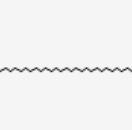
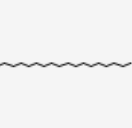
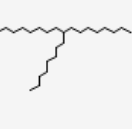
Tablo 4.4. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
3	 C ₁₈ H ₃₂ O ₂	(9e, 12e) - Oktadeka- 9,12-dienoik asit (Linoelaidik asit, 9,12- oktadekadien oik asit)	% 99	3742701 0 = % 3.98	48.090	280.452	50.9-67-95-123- 149-174-195- 213.2-236.2- 256.1-280.1- 314.1-354.9 m/z.
4	 C ₁₈ H ₃₀ O ₂	(9e, 12e, 15e) -Oktadeka- 9,12,15- trienoik asit (Elaidolinolen ik asit) (9,12,15- oktadekatrien oik asit)	%9 9	6928264 6 = % 7.37	48.260	278.436	50.9-67-95-123- 149-174,-195- 213.2-236.2- 256.1-280.1- 314.1-354.9 m/z.
5	 C ₂₀ H ₃₆ O ₂	Etil (9z, 12z) - oktadeka- 9,12-dienoat (Etil Linoleat; Linoleik asit etil ester)	% 99	3092377 3 = % 3.29	48.557	308.506	52.9-67-81-95- 109-123-150- 164-178-192- 220-241.1- 263.1-280.1- 326.8 m/z.
6	 C ₂₀ H ₃₄ O ₂	Etil (9z, 12z, 15z) - Oktadeka- 9,12,15trieno at (Etil Linolenat), Linolenik asit etil ester)	% 99	4654532 5 = % 4.95	48.720	306.4	54.9-78.9-94.9- 121-135-149- 163-185-199.1- 213.2-241.1- 261.1-284.2- 306.2 m/z.
7	 C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Etil oktadekanoat (Etil Stearat; Etil oktadekanoat, (111-61-5; Stearik asit etil ester)	% 95	1936955 1 = % 2.06	49.223	312.538	57-71-87.9-111- 125-143-157- 171-185-199.1- 213-227.1- 241.1-255.1- 269.2-283.2- 312.2-326.7 m/z.
8	 C ₂₀ H ₄₂	Ikozan (N- Eikozan, nonadekan, Metil)	% 97	1073855 6 = % 1.14	51.416	282.556	57-85-113-141- 169-197.1-225.2, 253.2-281.1- 302.2-324.2 m/z.

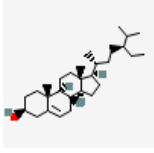
Tablo 4.4. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
9	 C ₂₄ H ₅₀	Tetrakozan (Trikozan (Dokozaan, Metil-))	% 98	1641511 2=% 1.75	54.134	338.664	57-85-113- 141.1-169.1- 197.1-225- 253.2-281.1- 297.2-316.2- 338.3 m/z.
10	 C ₂₂ H ₄₆	Dokozaan	% 98	3991671 2=% 4.25	56.000	310.61	57-85-113-141- 169.1-197.1- 225.1-253.1- 281.1-309.2- 337.3-354.6 m/z.
11	 C ₁₉ H ₄₀	Nonadekan	% 97	2787227 7= % 2.97	56.823	268.529	57-85-113- 141.1-169.1- 197.1-225.1- 253.1-281.2- 309.2-327-352.3 m/z.
12	 C ₁₅ H ₃₀ O ₃	5- hidroksipentad ekanoik asit (5- hidroksipentad ekanoik asit).	% 86	1209067 9=% 1.29	57.230	258.402	57, 73.9, 97.9, 117-133.9-154- 181.9-207-223- 239.1-257.1- 281- 299.1- 315.1-337.4- 355.1 m/z.
13	 C ₂₄ H ₃₈ O ₄	Bis (2- etilheksil) benzen-1,2- dikarboksilat (1,2- Benzendikarbo ksilik asit,bis (2 etilheksil) ester)	% 90	1827241 7= % 1.95	57.859	390.564	57-83-113- 131.9-148.9- 166.9-185.1- 206.9-239- 262.1-279- 299.2-323.3- 354.9-401 m/z.
14	 C ₂₅ H ₅₀	(Z)-pentakos- 3-en (3- Pentakosen)	% 96	2123801 9= % 2.26	58.474	350.675	57-85-111-141- 169.1-207- 226.8-253.1- 281-309.2- 337.3-366.3- 405-429.1 m/z.
15	 C ₁₇ H ₃₆	Heptadekan	% 97	1376239 8= % 1.46	59.282	240.475	57-85-111-141- 169-206.9- 233.2,-253-281- 309.2-337.3- 365.3-405-429 m/z.

Tablo 4.4. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
16	 C ₁₆ H ₃₄ O ₂	2-tetradetoksi etanol (Etanol, 2-(tetradesiloksi))	% 93	6540270 1=% 6.96	59.726	258.446	57-85-111-141-169-206.9-239.1-258.9-281, 309.2-337.3-357-380.3-405.1-429 m/z.
17	 C ₂₅ H ₂₉ NO ₅	[2-okso-2-[(9 {S}, 13 {S}) - 6,9,13-trimetil-16-okso-5-oksa-7-azapentacyclo [10.8.0.0 [^] {2,9}.0 [^] {4,8}.0 [^] {13,18}]icosa-6,11,14,17-tetraen-8-il]etil]asetat (14-beta.-H-pregna)	% 87	4274309 3= % 4.55	60.052	423.509	57-98-133.9-168-206.9-237.1-267.1-327.2-365.1-405-m/z.
18	 C ₂₈ H ₅₈	Oktakozan	% 93	9653200 = % 1.03	60.733	394.772	57-85-111-148.9-183-206.9-229-253-281-303.1-326.9-355.1-379.2-405-429.1-460.8 m/z.
19	 C ₁₈ H ₃₈	Oktodekan	% 91	1498317 7= % 1.59	61.378	254.502	57-85-111-148.9-183-206.9-229.-252.9-280.9-306.2-326.8-365.3-393.3-414.9-460.8 m/z.
20	 C ₂₅ H ₅₂	9-oktilheptadekan (Heptadekan, 9-oktil-)	% 95	1924923 94= % 20.49	61.792	352.691	57-85-113-141-169.1-206.9-253.1-281-309.2-337.3-365.2-408.3-461-536.8 m/z.

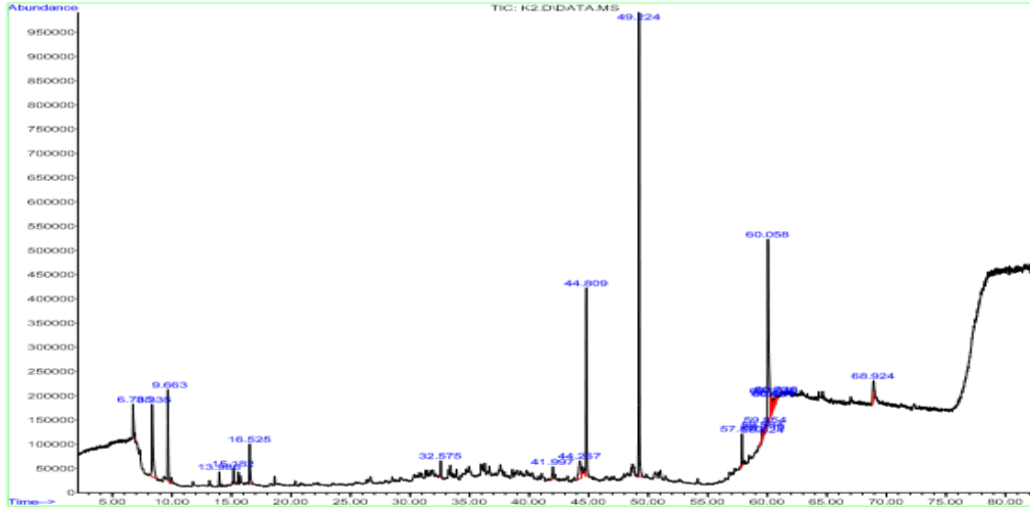
Tablo 4.4. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
21	 C ₂₉ H ₅₀ O	(3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) - 17 - [(2R, 5S) -5-etil-6-metilheptan-2-il] -10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahidro-1 H-siklopenta [a] penantren-3-ol (Gamma-sitosterol)	% 99	8855095 8 =% 9.43	68.918	414.718	55-81-106.9- 145-173-206.9- 231-255.1- 280.9-303.2- 329.2-355.1- 381.2-414.3-479 m/z.

*Mw molekül ağırlığı, Rt alıkonma zamanı, % pik alanının toplam pik alanına oranı, MF kütüphanedeki benzerlik oranını ifade etmektedir..

4.1.2.3. A. floribundum Kök Özütlerine Ait GC/MS Bulguları

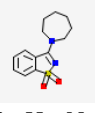


A. floribundum kök özütlerinin kalitatif ve kantitatif analizi GC/MS kullanılarak belirlenmiştir (Tablo 4.5). A. floribundum kök özütlerinin kromatogramı Şekil (4.4)'te, kimyasal içerikleri ise Tablo (4.5)'te gösterilmiştir.




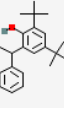
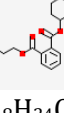


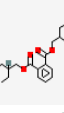

Şekil 4.4. *A. floribundum* kök özütlerinin GC/MS kromatogramı.

GC/MS sonuçları Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

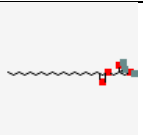
Tablo 4.5. *A. floribundum* kök özütleri GC/MS sonuçları.

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
1	 C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	3- (azepan-1-il) - 1,2-benzotiyazol 1,1-dioksit (1,2-Benzisotiyazol, 3- (heksahidro-1 H-azepin-1-il) -, 1,1-dioksit)	% 95	2675314 = % 2.26	6.739	264.343	53-73-103- 131.1-165- 186.8-206.9- 228.9-253.1- 281.1-313.1- 346.1-369.9- 390.1-424.2 m/z.
4	 C ₈ H ₂₂ O ₃ Si ₂	Etoksi- [Etoksi (dimetil) silil] oksi-dimetilsilan (Disiloksan, 1,3-dietoksi- 1,1,3,3 tetrametil-)	% 91	992403= % 0.84	13.983	222.431	55-66.8-76.8- 90.9-105-118.9- 133-150.9- 162.9-176.9- 192.8-207 m/z.
5	 C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	2,2,4,4,6,6,8,8-oktametil-1,3,5,7,2,4,6,8-tetraoksatetrasilosan (Siklotetrasiloksan, oktametil-Oktametil siklotetrasiloksan)	% 91	953222= % 0.80	15.182	296.616	56.9-77.9-91- 104.8-118.9- 132.9-164.8- 178.8-191- 206.9-235- 248.9-264.8- 280.9 m/z.

Tablo 4.5. (devamı)

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
6	 C ₆ H ₄ Cl ₂	1,2-diklorobenzen (Benzen, 1,2-dikloro-)	% 97	3933345 =% 3.32	16.523	146.998	54.9-64.9-75-84.8-96.9-110.9-121-132.7-145.8-164.9-207 m/z.
7	 C ₂₂ H ₃₀ O	2,4-ditert-bütül-6-nitrosofenol (Fenol, 2,4-bis (1,1-dimetiletil))	% 94	1429639 =% 1.21	32.573	310.481	57-73.8-90.9-103.1-114.9-128-151-163-174.9-191-206-252.8 m/z.
8	 C ₁₈ H ₂₄ O ₄	1-O-butül 2-O-sikloheksil benzen-1,2-dikarboksilat (1,2-Benzendi karboksilik asit, butül sikloheksil ester)	% 86	1449036 =% 1.22	41.995	304.386	57-76.8-104-120.9-148.9-167-205-223-281 m/z.
10	 C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Etil heksadekanoat (Etil palmitat) (Heksadekanoik asit, etil ester)	% 99	1431916 7=% 12.08	44.809	284.484	55-72.9-87.9-100.9-114.9-129-143-157-171-185-199-213.1-227.1-241.2-255.1-284.2 m/z.
11	 C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Etil oktadekanoat (Oktadekanoik asit, etil ester) (Stearik asit, etil ester)	% 99	3532100 5=% 29.79	49.223	312.538	55-72.9-87.9-114.9-130-157-185.1-213-241.1-269.1-284.1-312.2 m/z.
12	 C ₂₄ H ₃₈ O ₄	Bis (2-etilheksil) benzen-1,2-dikarboksilat (1,2-Benzendikarboksilik asit, bis (2-etilheksil) ester)	% 83	2627575 =% 2.22	57.867	390.564	59.9-82.9-113-130.9-148.9-166.9-187-206.9-253.1-279-326.8-354.8 m/z.
16	 C ₁₂ H ₂₂ Si ₂	Trimetil- (2-trimetil-silil-fenil) silan (1,2-bis (trimetil-silil) benzen)	% 60	922825= % 0.78	59.852	222.478	50.8-72.9-95-116.9-146.8-176.7-206.9-252.9-280.9-326.8-354.9-404.9-429-478.9 m/z.

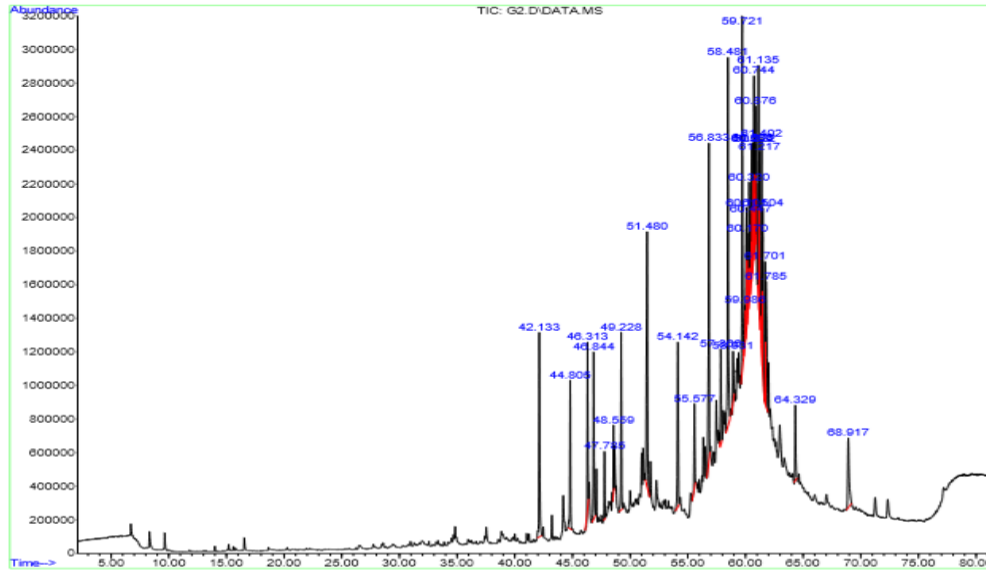
Tablo 4.5. (devamı).

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
17	 C ₂₁ H ₄₂ O ₄	2,3-dihidroksipr opil oktadekano at (Octadekano ik asit, 2,3-dihidroksipr opil ester)	% 93	2557542 9 = % 21.57	60.059	358.563	57-98-133.9- 168- 206.9- 241.1-267.1- 298.3-327.1- 354.9- 404.9- 429-461 m/z.

*Mw molekül ağırlığı, Rt alıkonma zamanı, % pik alanının toplam pik alanına oranı, MF kütüphanedeki benzerlik oranını ifade etmektedir.

4.1.2.4. *A. floribundum* Gövde Özütlerine Ait GC/MS Bulguları

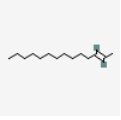
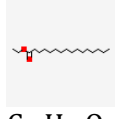
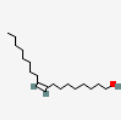

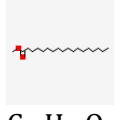
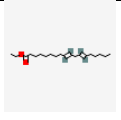
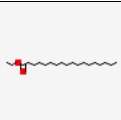
A. floribundum gövde özütlerinin kalitatif ve kantitatif analizi GC/MS kullanılarak belirlendi (Tablo 4.6). *A. floribundum* gövde özütlerinin kromatogramı Şekil (4.5)'te, kimyasal içerikleri ise Tablo (4.6)'da gösterilmiştir.



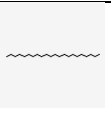
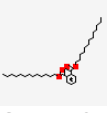
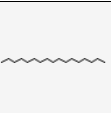
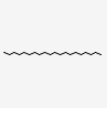
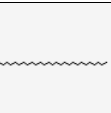
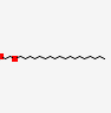
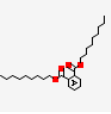
Şekil 4.5. *A. floribundum* gövde özütlerinin GC/MS kromatogramı.

GC/MS sonuçları Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

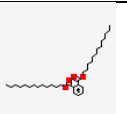
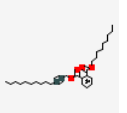
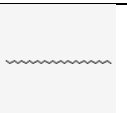

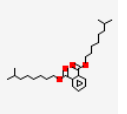
Tablo 4.6. *A. floribundum* gövde özütleri GC/MS sonuçları.

Pik No.	Bileşik Formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşikler adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Paraçalanma iyonu (m/z)
1	 C ₁₄ H ₂₈	2-Tetradeken	% 95	54977479: % 4.27	42.13 5	196.378	55-69-83-97-111-125-140-154.1-168- 181- 196.1-224.1- 245.9 m/z.
2	 C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Etil heksadekanoat (Heksadekan oik asit, etil ester)	% 98	35198742: % 2.73	44.80 9	284.484	57-71-87.9-100.9-115-129-143-157-171.1-185-199.1-185-199.1-213.1- 227-241.1-255- 269-284.2 m/z.
3	 C ₁₈ H ₃₆ O	(Z)-Octadec-9-en-1-ol (Oleyil Alkol)	% 99	34850072: % 2.71	46.31 3	268.485	55-82-96-110-124-138-152-166-180.1-194-208.1-222.2- 236-250.1-267- 281.1 m/z.
4	 C ₁₈ H ₃₆	(E)-Oktadec-5-en (5-Oktadeken)	% 98	42619714: % 3.31	46.84 6	252.486	55-69-83-97-111-125-139-153-168-182.1-196.1-209- 224.1-238.9- 252.2-266.9- 280.9 m/z.
5	 C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Metil oktadekanoat (Methyl octadecanoate) (Octadecanoic asit, methyl ester)	% 99	13752247: % 1.07	47.78 6	298.511	55-73.9-97-124.9-143-171-199.1-226.9-255.1-281.1-298.2-355.1 m/z.
6	 C ₂₀ H ₃₆ O ₂	Etil (9Z, 12Z)-octadeca-9,12-dienoat (Linoleik asit etil ester)	% 93	12329259: % 0.96	48.55 7	308.506	53-67-81-95-109-123-137-151-165.1-179-193-206.9- 220.1-234.1- 247.9-263.2-277.1-291-308.1 m/z.
7	 C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Etil oktadekanoat (Octadekanoik asit, etil ester) (Etil stearat)	% 96	41411945: % 3.22	49.23 1	312.538	57-71-87.9-111-127-143-157-171.1-185- 198.9-213.1- 227.1-241.1- 255.1-269.1- 283.1-298.1- 312.2 m/z.

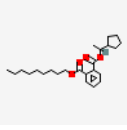
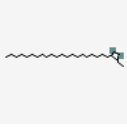
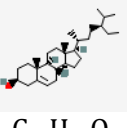
Tablo 6.4. (devamı)

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
11	 C ₂₂ H ₄₆	Dokozan	% 98	8703491 4: % 6.76	56.830	310.61	57-85-113-141- 169-197.1- 225.1-253.2- 281.1-309.3- 326.9-352.3 m/z.
12	 C ₃₄ H ₅₈ O ₄	Ditridesil benzen-1,2-dikarboksilat (1,2-Benzendikarboksilik asit, ditridesil ester)	% 86	2569560 9: % 2.00	57.867	530.834	57-85-113- 148.9-179-207- 239.1-279- 301.3-323.2- 351.1-374.3 m/z.
13	 C ₁₇ H ₃₆	Heptadekan	% 95	9738541 5: % 7.56	58.482	240.475	57- 85- 113- 141- 169.1- 197- 225.1- 253.2- 281.1- 309.2- 337.3- 366.2- 386.2- 406- 429.1- m/z.
14	 C ₂₀ H ₄₂	İkozan	% 92	1319512 4: % 1.02	58.933	282.556	57-85-111-135- 155-183-206.9- 226-253.1-281- 309.3-331.1- 351.3-372.2- 405.2-428.8 m/z.
15	 C ₂₇ H ₅₆	Heptakozan	% 94	8402803 6: % 6.53	59.719	380.745	57- 85- 111- 148.9- 169.1- 206.9- 226.1- 253.1- 273.1- 293- 323.2- 351.4- 380.2- 405- 429 m/z.
16	 C ₂₀ H ₄₂ O ₂	2-Oktadekoksi etanol (Etanol,2 (oktadesiloksi))	% 89	1091657 1: % 0.85	59.985	314.554	57-85-104.9- 127-148.9-168- 206.9-233.2- 253-272.1-293- 326.7-354.9- 379.4-405-428.7 m/z.
17	 C ₂₆ H ₄₂ O ₄	Dinonil benzen-1,2-dikarboksilat (1,2-Benzendikarboksilik asit, dinonil ester)	% 72	4027407 5: % 3.13	60.104	418.618	57-85-105.9- 127-148.9- 183.1-206.9- 239.1-267.1- 293.1-327- 365.3-400.6- 429-460.9 m/z

Tablo 4.6. (devamı)

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
19	 C ₃₄ H ₅₈ O ₄	Diridecyl benzen-1,2-dikarboksilat (Bis (tridesil) ftalat)	%86	3770021 6: % 2.93	60.318	530.834	57-85-105.9-127-148.9-183-206.9-239.1-261-293-326.9-351.3-379.2-404.9-428.9 m/z
22	 C ₃₀ H ₄₆ O ₄	1-{O}-nonil 2-{O}-tridek-2-inil benzen-1,2-dikarboksilat (Ftalik asit, nonil tridek-2-in)	%59	4173315 2: % 3.24	60.637	470.694	57-85-127-148.9-175.8-206.9-230.9-253-293-326.8-355-379.2-405-429.1 m/z.
23	 C ₂₈ H ₅₈	Oktakozan	%89	3744064 8: % 2.91	60.741	394.772	57-85-127-148.9-183-206.9-231.1-253-293.1-327-353.2-396.3-418.3-479 m/z.
25	 C ₂₈ H ₄₆ O ₄	Bis (8-metilnonil) benzen-1,2-dikarboksilat (1,2-Benzendikarboksilik asit, bis8-metilnonil) ester)	%72	2122980 9: % 1.65	60.874	446.672	57-85-106-127-148.9-175.9-206.9-231-253-293-326.9-355-379.3-405-428.7-460.8 m/z.
28	 C ₂₆ H ₄₂ O ₄	Bis (7-metiloktil) benzen-1,2-dikarboksilat (Ftalik asit, bis (7-metiloktil) ester)	%86	4518103 9: % 3.51	61.400	418.618	57-85-127-148.9-175.9-206.9-231.1-253-293.1-326.9-354.8-393.4-418.2-460.9 m/z.

Tablo 4.6. (devamı)

Pik no.	Bileşik formülü	IUPAC adı ve yaygın bileşik adı	MF	Alan ve %	Rt (dk.)	Mw (g/mol)	Parçalanma iyonu (m/z)
30	 C ₂₄ H ₃₆ O ₄	2-{0}-(1-siklopentil etil)1- {0} - nonil benzen-1,2-dikarboksilat (2-O- (1-siklopentiletil) 1-O-nonil benzen-1,2-dikarboksilat)	% 64	3090062 1: % 2.40	61.704	388.548	57-85-127-148.9-179-206.9-231-252.9-293-326.9-355-379.3-419.2-460.7 m/z.
31	 C ₂₅ H ₅₀	{Z}-pentakoz-3-en (n-Pentakoz-3-en)	% 95	4907349 1: % 3.81	61.785	350.675	57-85-111-148.1-206.9-231-253-293.1-326.9-355-379.2-408.2-432.4-460.7 m/z.
33	 C ₂₉ H ₅₀ O	(3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)-17- [(2R, 5S)-5-etil-6 metilheptan-2-il] -10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahidro-1 H-siklopenta [a] fenantren-3-ol (Gama-Sitosterol)	% 97	3586040 2: % 2.78	68.918	414.718	57-94.9-118.9-145-172.9-206.9-231-255.1-281-305.2-329.2-355-381.3-414.3-478.9-535.1 m/z.

*Mw molekül ağırlığı, Rt alıkonma zamanı, % pik alanının toplam pik alanına oranı, MF kütüphanedeki benzerlik oranını ifade etmektedir.

4.1.3. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi (xCELLigence) ile Sitotoksisite ve Hücre Proliferasyon Analiz Bulguları

DU-145 prostat kanser hücreleri, 48 saat boyunca 20-160 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan *A. floribundum*'un kök, gövde ve yaprak özütleri ile muamele edilmiştir. DU-145 hücre hattı üzerine kök, gövde ve yaprak özütlerinin sitotoksisitesi, xCELLigence cihazı ile RTCA (real time cell analysis) (gerçek zamanlı hücre analizi) software kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücre

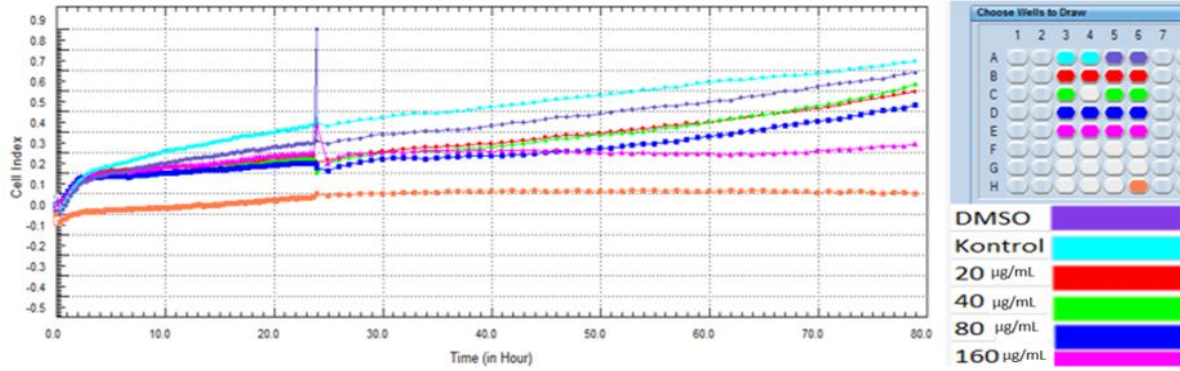
canlılığı grafikleri her 15 dakikada bir yazılım sistemi tarafından çizilmiştir (Şekil 4.6, 4.7). Referans olarak kontrol (kanser hücresi+ besiyeri) kullanılmıştır ve % inhibisyon hesaplanmıştır. Yüzde inhibisyon değerleri, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri ise (IC₅₀: hücrelerin yarısını inhibe eden doz değeri) Graphpad prism 8 ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(CI (\text{kontrol}) - CI (\text{kontrol} + \text{özütler})) / CI (\text{kontrol})] \times 100$$

Elde edilen bulgular sonucunda özütlerin hücreler üzerinde antiproliferatif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. CI değerlerine ait grafik eğrileri, kullanılan standart eğriler ile (kontrol, DMSO ve kör) karşılaştırıldığında, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *A. floribundum* kök, gövde ve yaprak özütlerinin DU-145 hücre hattı üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

4.1.3.1. *A. floribundum* Kök Özütlerinin DU-145 Hücre Proliferasyonuna Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda *A. floribundum* kök özütleri ile muamele edildikten sonra DU-145 hücre hattı proliferasyon oranları, 48 saat boyunca izlenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında *A. floribundum* kök özütünün, hücreleri doz ve zamana bağlı olarak inhibe ettiği belirlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *A. floribundum* kök özütlerinin DU-145 hücre hatlarındaki 79 saat boyunca xCELLigence ile hücre canlılık analizi.

xCELLigence cihazı ile elde edilen CI değerleri Tablo (4.7)'de gösterilmiştir ve hesaplanan % inhibisyon Tablo (4.8)'de sunulmuştur.

Tablo 4.7. 24. ve 48. saat sonundaki farklı konsantrasyonlarda uygulanan *A. floribundum* kök özütünün DU-145 hücre hattı üzerine hücre indeksi değerleri ve p değerleri.

Doz grupları	Hücre indeksi (24. saat) (Ort±SD)	Hücre indeksi (48. saat) (Ort±SD)	p
Kontrol (n=2)	0.569±0.07	0.6995±0.072	0.180**
20 µg/mL (n=4)	0.387±0.03	0.534±0.06	0.068**
40 µg/mL (n=3)	0.376±0.34	0.546±0.095	0.109**
80 µg/mL (n=4)	0.3065±0.019	0.468±0.0116	0.068**
160 µg/mL (n=4)	0.31±0.98	0.320±0.21	0.715**
p	0.045*	0.096**	

*Her sütunda yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamlıdır (p<0.05).

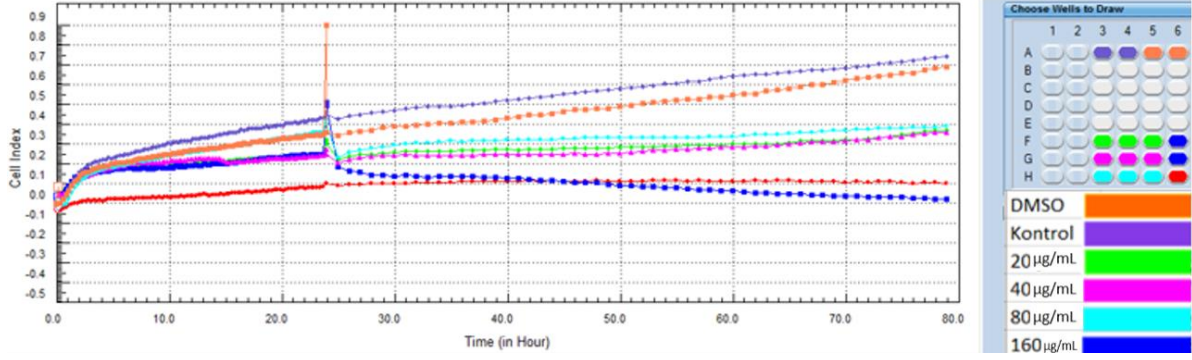
** Her sütunda iki yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamsızdır (p>0.05).

Tablo 4.8. DU-145 hücre hattı üzerinde *A. floribundum* kök özütlerinin % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri.

Doz grupları	% inhibisyon (24. saat) (Ort± SD)	% inhibisyon (48. saat) (Ort± SD)
20 µg/mL	31.88 ± 4.93	23.96 ± 7.5
40 µg/mL	33.84 ± 5.12	21.95 ± 12.74
80 µg/mL	46.11 ± 2.93	33.08 ± 1.36
160 µg/mL	46.30 ± 11.97	54.92 ± 17.1
IC ₅₀ µg/mL	192.1	157.4

4.1.3.2. *A. floribundum* gövde özütlerinin DU-145 hücre Proliferasyonuna Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda *A. floribundum* gövde özütleri ile muamele edildikten sonra DU-145 hücre hattı proliferasyon oranları, 48. saat boyunca gözlemlenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında *A. floribundum* gövde özütünün, hücreleri doz ve zamana bağlı olarak inhibe ettiği belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *A. floribundum* gövde özütlerinin DU-145 hücre hatlarındaki 79 saat boyunca xCELLigence ile hücre canlılık analizi.

xCELLigence cihazı ile elde edilen CI değerleri Tablo (4.9)'da ve % inhibisyon Tablo (4.10)'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. 24. ve 48. saat sonundaki farklı konsantrasyonlarda uygulanan *A. floribundum* gövde özütünün DU-145 hücre hattı üzerine hücre indeksi değerleri ve p değerleri.

Doz grupları	Hücre indeksi (24. saat) (Ort±SD)	Hücre indeksi (48. saat) (Ort±SD)	p
Kontrol (n=2)	0.569±0.07	0.6995±0.072	0.180**
20 µg/mL (n=3)	0.281±0.081	0.329±0.184	0.285**
40 µg/mL (n=3)	0.2523±0.36	0.3263±0.04	0.109**
80 µg/mL (n=3)	0.335±0.1322	0.375±0.13	0.109**
160 µg/mL (n=2)	0.105±0.022	0.0345±0.025	0.180**
p	0.1765**	0.1263**	

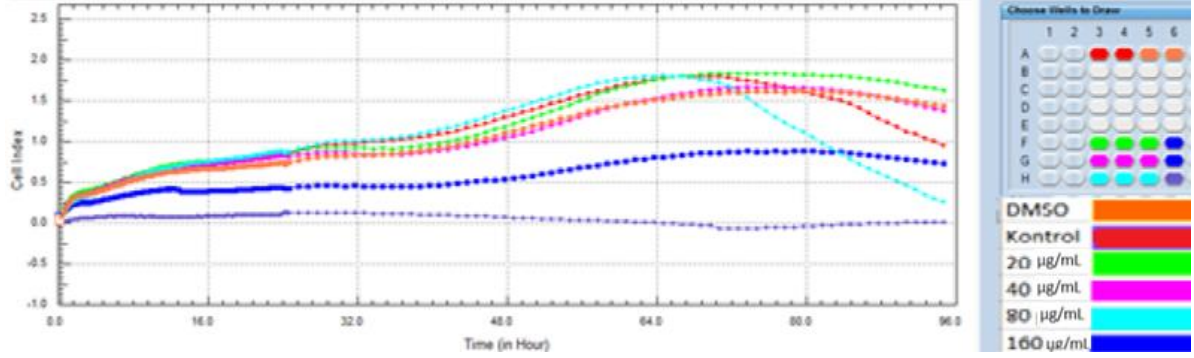
** Her sütunda iki yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamsızdır (p>0.05).

Tablo 4.10. DU-145 hücre hattı üzerinde *A. floribundum* gövde özütlerinin % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri.

Doz grupları	% inhibisyon (24. saat) (Ort ± SD)	% inhibisyon (48. saat) (Ort± SD)
20 µg/mL	50.53±12.6	53.11 ± 23.5
40 µg/mL	55.64 ± 4.1	53.09 ± 3.8
80 µg/mL	41.11 ± 21.5	45.90 ± 17.5
160 µg/mL	81.49± 2.8	94.38 ± 2.7
IC ₅₀ µg/mL	29.12	26.72

4.1.3.3. *A. floribundum* Yaprak Özütlerinin DU-145 Hücre Proliferasyonuna Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda *A. floribundum* yaprak özütleri ile muamele edildikten sonra DU-145 hücre hattı proliferasyon oranları, 48 saat boyunca gözlemlenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında *A. floribundum* yaprak özütünün, hücreleri doz ve zamana bağlı olarak inhibe ettiği sunulmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *A. floribundum* yaprak özütlerinin DU-145 hücre hatlarındaki 79 saat boyunca xCELLigence ile hücre canlılık analizi.

xCELLigence cihazı ile elde edilen CI Tablo (4.11)'de göstermiştir ve hesaplanan % inhibisyon Tablo (4.12)'de sunulmuştur.

Tablo 4.11. 24. ve 48. saat sonundaki farklı konsantrasyonlarda uygulanan *A. floribundum* yaprak özütünün DU-145 hücre hattı üzerine hücre indeksi değerleri ve p değerleri.

Doz gruplar	Hücre indeksi (24. saat) (Ortalama)	Hücre indeksi (48. saat) (Ortalama)
Kontrol	0.569	0.6995
20 µg/mL	1.061	0.9269
40 µg/mL	1.032	1.044
80 µg/mL	0.954	1.36
160 µg/mL	0.90	1.45

Tablo 4.12. DU-145 hücre hattı üzerinde *A. floribundum* yaprak özütlerinin % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri.

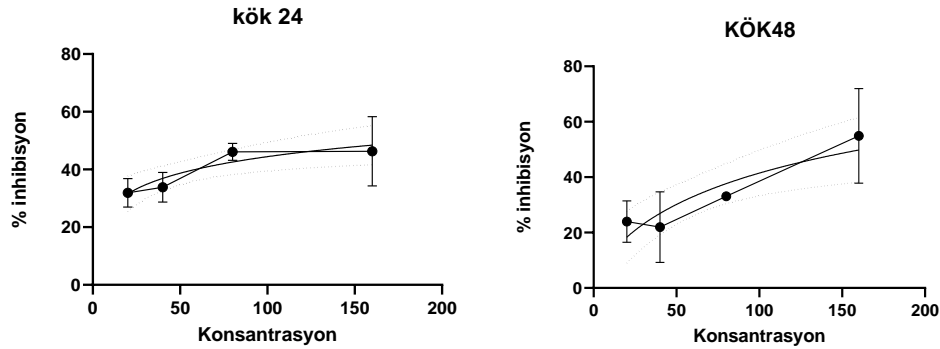
Yaprak özütü	% inhibisyon (24. saat)	% inhibisyon (48. saat)
20 µg/mL	17.32	20.93
40 µg/mL	19.53	47.6

Tablo 4.12.(devam)

Yaprak özütü	% inhibisyon (24. saat)	% inhibisyon (48. saat)
80 µg/mL	25.6	40.098
160 µg/mL	29.65	18.33
IC ₅₀ µg/mL	226.4	80.23

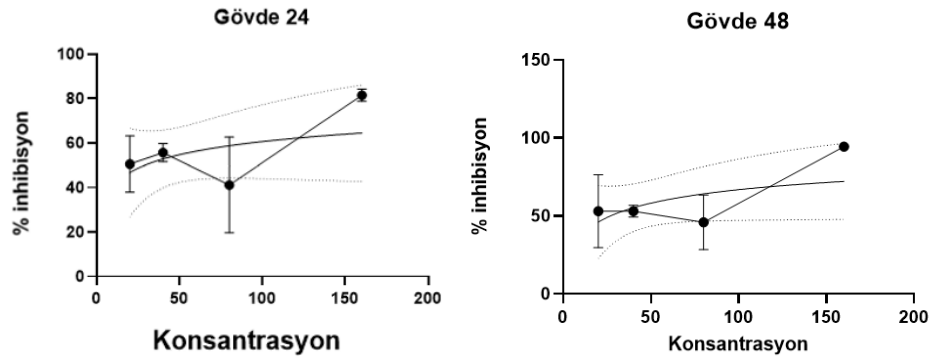
4.1.3.4. Sitotoksik Testleri, Hücrelerin IC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi

24. ve 48. saatler sonunda DU-145 hücre hattına uygulanan *A. floribundum*'un kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarında 20-160 µg/mL sitotoksik etkisi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre IC₅₀ değerleri 24. saatte 192.1 µg/mL ve 48. saatte 157.4 µg/mL olarak saptanmıştır. Hücre indeksi kullanılarak yüzde inhibisyon hesaplanmıştır. Sonuçlar doz cevabı eğrisinde göstermiştir (Şekil 4.9). Daha sonra IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 8 ile hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri Tablo 19'de gösterilmiştir. IC₅₀ değerleri nonlinear regresyon analizine göre $[Y = alt + (üst-alt)/(1 + 10(\log IC_{50} - X) \times HillSlope)]$ GraphPad Prism yazılımı belirlenmiştir [88].



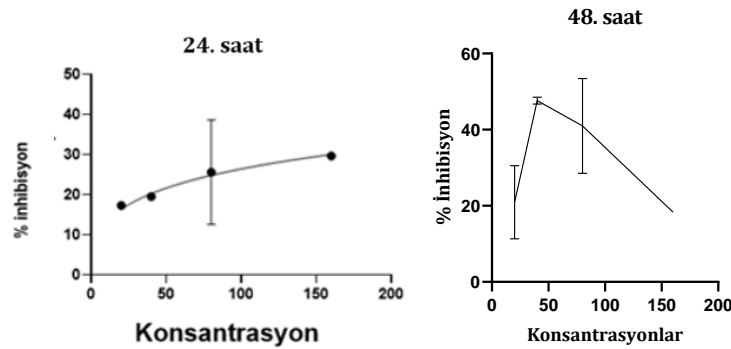
Şekil 4.9. 24. ve 48. saat sonunda graph prizm pad 8 programından elde edilen *A. floribundum* kök özütlerinin hazırlanan farklı konsantrasyonunun DU-145 hücreleri hattında IC₅₀ eğrileri.

24. ve 48. saat sonunda DU-145 hücre hattı üzerinde *A. floribundum*'un gövde özütünün 20-160 µg/mL konsantrasyonlarının etkisine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre IC₅₀ değerleri 24. saatte 29.12 µg/mL ve 48. saatte 26.93 µg/mL olarak saptanmıştır. Hücre indeksi kullanılarak % inhibisyon hesaplanmıştır. Sonuçlar doz cevabı eğrisinde göstermiştir (Şekil 4.10). Daha sonra IC₅₀ değerleri GraphPad Prism ile belirlenmiştir. IC₅₀ değerleri nonlinear regresyon analizine göre $[Y = alt + (üst-alt)/(1 + 10(\log IC_{50} - X) \times HillSlope)]$ GraphPad Prism yazılımı belirlenmiştir [88]. Sitotoksik etkisi sonuçları IC₅₀ değerleri cinsinden ölçülmüş ve Tablo (4.11)'de verilmiştir.



Şekil 4.10. 24. ve 48. saat sonunda graph prizm pad 8 programından elde edilen *A. floribundum* gövde özütlerinin hazırlanan farklı konsantrasyonunun DU-145 hücreleri hattında IC₅₀ eğrileri.

24. ve 48. saat sonunda DU-145 hücre hattı üzerinde *A. floribundum*'un yaprak özütünün 20-160 µg/mL konsantrasyonlarının etkisine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre IC₅₀ değerleri 24. saatte 226.4 µg/mL ve 48. saatte 80.23 µg/mL olarak saptanmıştır. Hücre indeksi kullanılarak % inhibisyon hesaplanmıştır. Sonuçlar doz cevabı eğrisinde göstermiştir (Şekil 4.11). Daha sonra IC₅₀ değerleri GraphPad Prism ile belirlenmiştir. IC₅₀ değerleri nonlinear regresyon analizine göre $[Y = alt + (üst-alt)/(1 + 10(\text{Log } IC_{50} - X) \times \text{HillSlope})]$ GraphPad Prism yazılımı] belirlenmiştir [88]. Sitotoksik etkisi sonuçları IC₅₀ değerleri cinsinden ölçülmüş ve Tablo (4.13)'te verilmiştir.



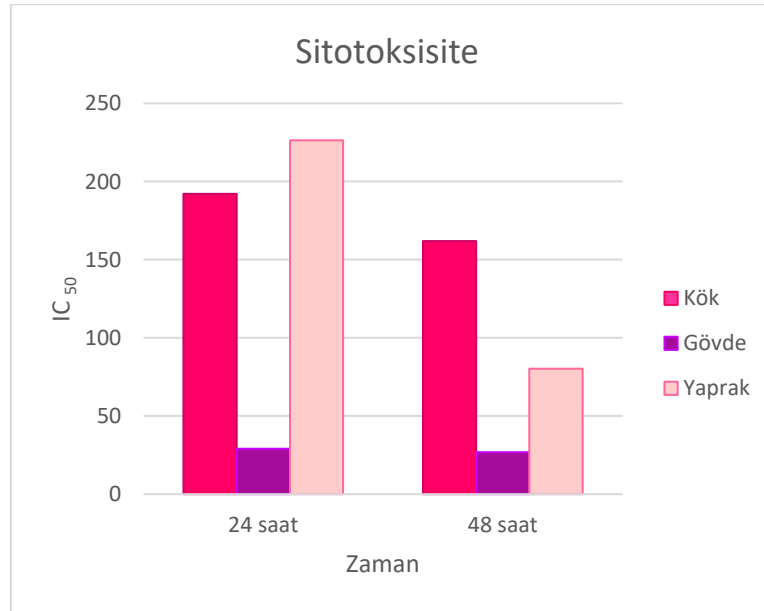
Şekil 4.11. 24. ve 48. saat sonunda graph prizm pad 8 programından elde edilen *A. floribundum* yaprak özütlerinin hazırlanan farklı konsantrasyonunun DU-145 hücreleri hattında IC₅₀ eğrileri.

DU-145 hücreleri hattı üzerinde *A. floribundum* özütlerinin sitotoksik etkilerini belirlemek için, IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Sitotoksik etkisi sonuçları IC₅₀ değerleri cinsinden ölçülmüş ve Tablo (4.13)'te verilmiştir.

Tablo 4.13. *A. floribundum* bitki özütlerinin IC₅₀ değerleri.

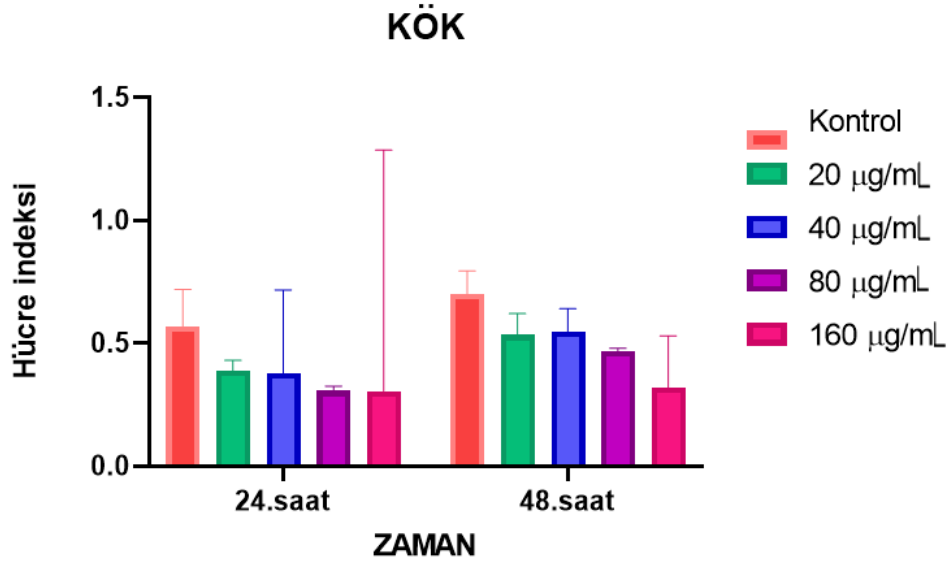
Bitki özütü	IC ₅₀ değeri 24. saat	IC ₅₀ değeri 48. Saat
Kök özütleri	192.1 µg/mL	157.4 µg/mL
Gövde özütleri	29.12 µg/mL	26.93 µg/mL
Yaprak özütleri	226.4 µg/mL	80.23 µg/mL

A. floribundum kök ve gövde özütlerinin gruplarının farklı zamanlarda IC₅₀ değerleri Şekil (4.12)'de görülmüştür.



Şekil 4.12. *A. floribundum* kök, gövde ve yaprak özütlerinin gruplarının farklı zamanlarda IC₅₀ değerleri.

A. floribundum kök özütünün farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücre üzerine uygulandıktan 24. ve 48. saat sonundaki hücre indeksi değerleri Şekil (4.13)'te gösterilmiştir.



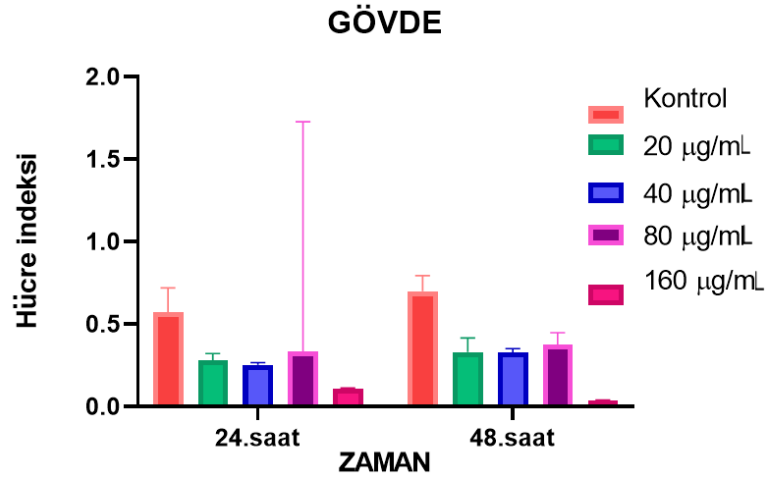
Şekil 4.13. *A. floribundum* kök özütünün farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücre üzerine uygulandıktan 24. ve 48. saat sonundaki hücre indeksi değerleri.

20, 40, 80, 160 µM konsantrasyonları arasında *A. floribundum*'un kök özütüne maruz kalan DU-145 hücre hattının nispi % inhibisyon değerleri Şekil (4.14)'te gösterilmiştir.



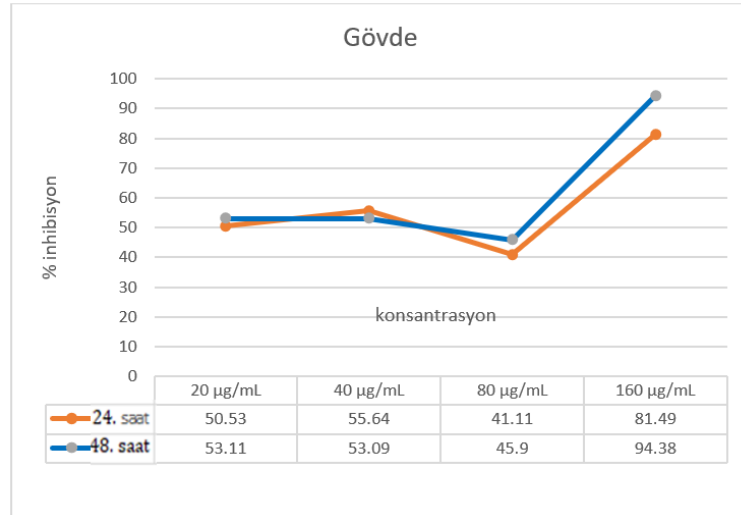
Şekil 4.14. 20, 40, 80, 160 µg/mL konsantrasyonları arasında *A. floribundum*'un kök özütüne maruz kalan DU-145 hücre hattının nispi % inhibisyon değerleri.

A. floribundum gövde özütünün farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücre üzerine uygulandıktan 24. ve 48. saat sonundaki hücre indeksi değerleri Şekil (4.15)'te gösterilmiştir.



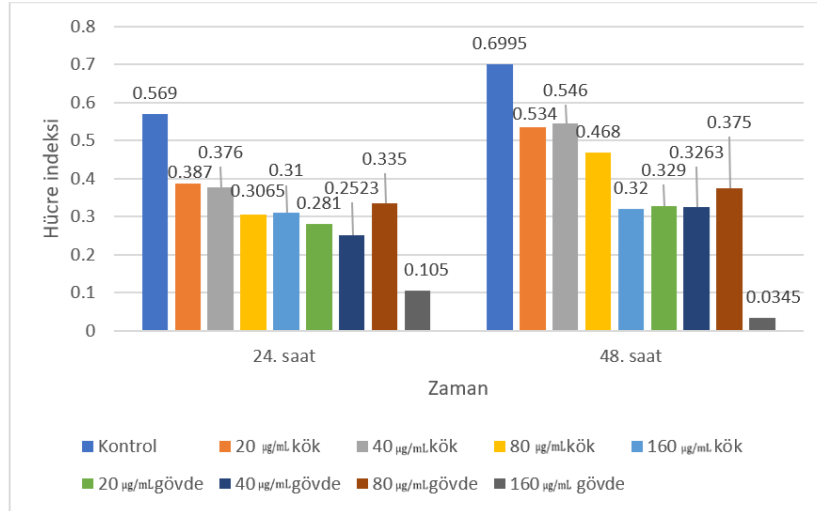
Şekil 4.15. *A. floribundum* gövde özütünün farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücre üzerine uygulandıktan 24. ve 48. saat sonundaki hücre indeksi değerleri.

20, 40, 80, 160 µg/mL konsantrasyonları arasında *A. floribundum*'un gövde özütüne maruz kalan DU-145 hücre hattının nispi % inhibisyon değerleri Şekil (4.16)'da gösterilmiştir.



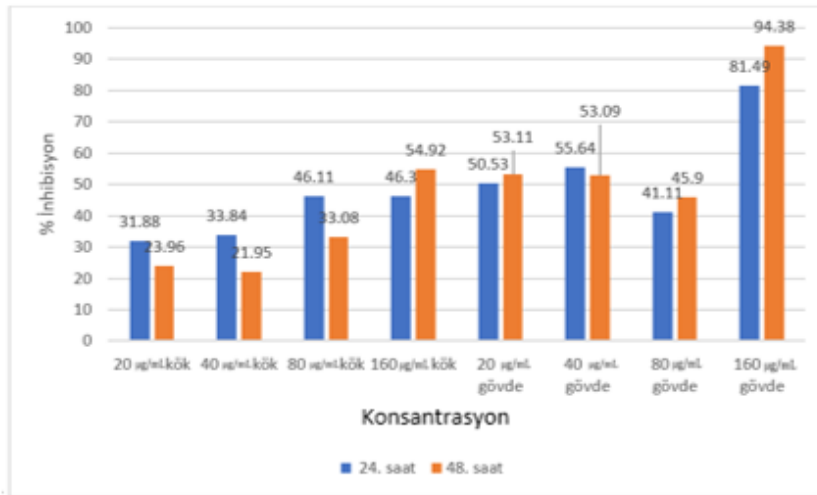
Şekil 4.16. 20, 40, 80, 160 µg/mL konsantrasyonları arasında *A. floribundum*'un gövde özütüne maruz kalan DU-145 hücre hattının nispi % inhibisyon.

A. floribundum doz gruplarının farklı zamanlarda hücre indeksi karşılaştırması Şekil (4.17)'de.



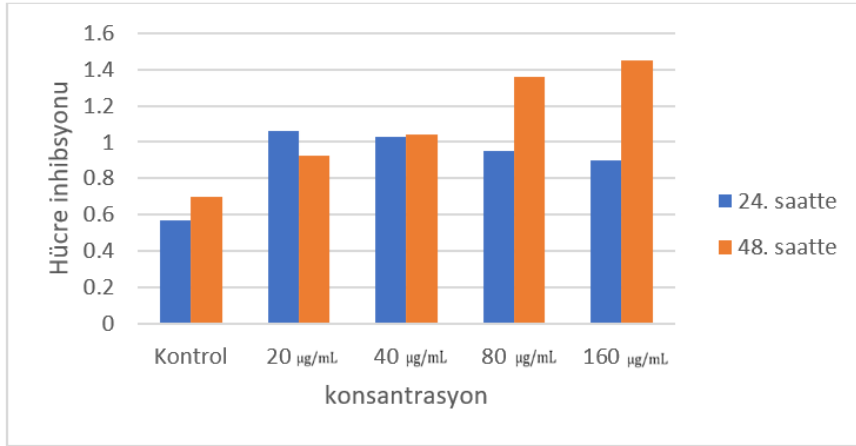
Şekil 4.17. *A. floribundum* doz gruplarının farklı zamanlarda hücre indeksi karşılaştırması.

Farklı konsantrasyonlardaki *A. floribundum* kök ve gövde özütleri 24. ve 48. saat sonundaki % inhibisyon değerleri muamaele edilen DU-145 hücrelerinin inhibisyonu etkisi (Şekil 4.18)'de gösterilmiştir.



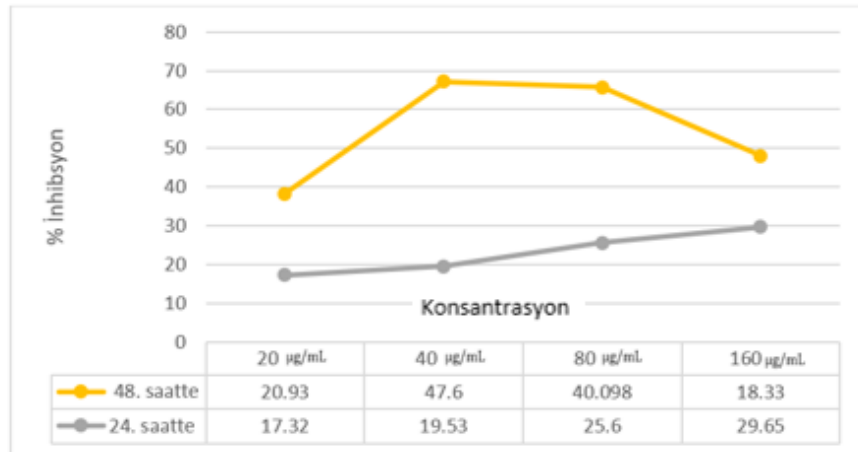
Şekil 4.18. Farklı konsantrasyonlardaki *A. floribundum* kök ve gövde özütleri 24 ve 48 saat sonundaki % inhibisyon değerleri muamaele edilen DU-145 hücrelerinin inhibisyonu etkisi.

A. floribundum yaprak özütlerinin konsantrasyonu doz gruplarının hücre indeksi karşılaştırması (Şekil 4.19).



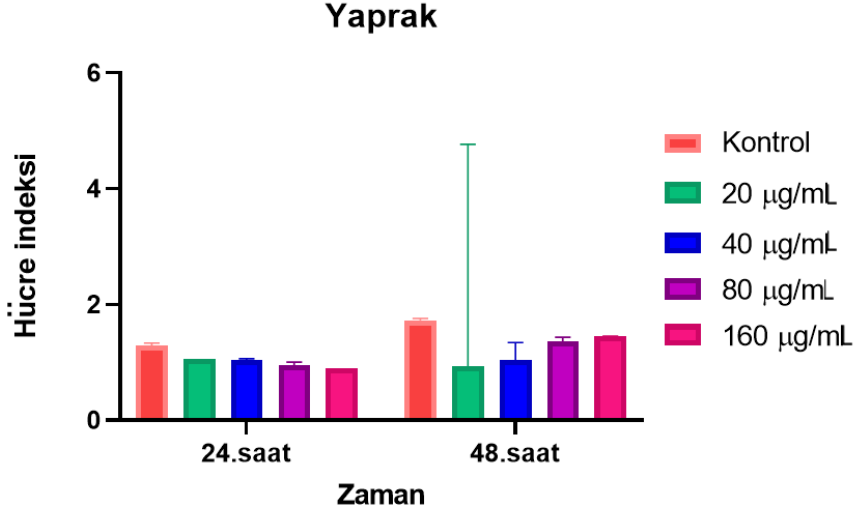
Şekil 4.19. *A. floribundum* yaprak özütlerinin konsantrasyonu doz gruplarının hücre indeksi karşılaştırması.

20, 40, 80, 160 µg/mL konsantrasyonları arasında *A. floribundum* yaprak özütüne maruz kalan DU-145 hücre hattının nispi % inhibisyon Şekil (4.20)'da gösterilmiştir.

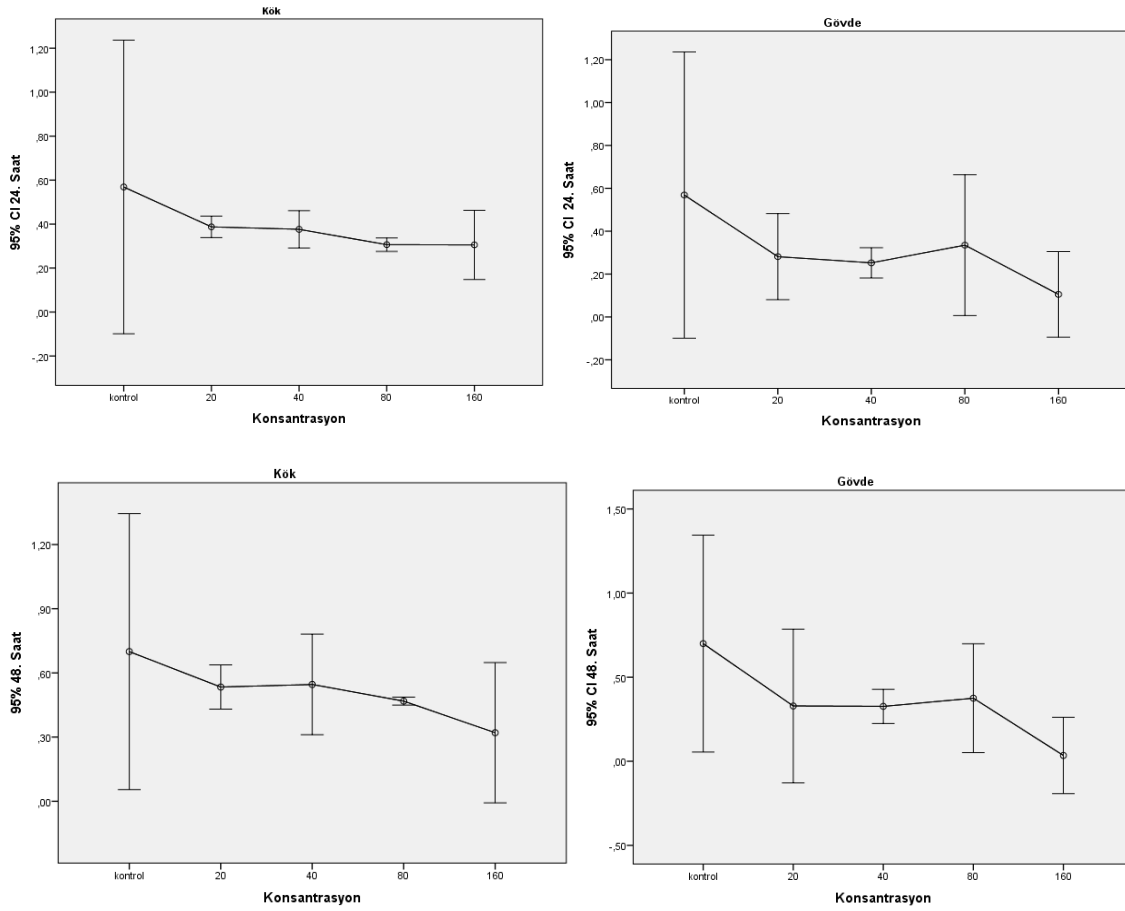


Şekil 4.20. 20, 40, 80, 160 µg/mL konsantrasyonları arasında *A. floribundum* yaprak özütüne maruz kalan DU-145 hücre hattının nispi % inhibisyon.

A. floribundum yaprak özütünün farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücre üzerine uygulandıktan 24. ve 48. saat sonundaki hücre indeksi değerleri Şekil (4.21)'de gösterilmiştir.



Şekil 4.21. *A. floribundum* gövde özütünün farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücre üzerine uygulandıktan 24. ve 48. saat sonundaki hücre indeksi değerleri.



Şekil 4.22. Farklı zamanlarda *A. floribundum* bitkinin özütlerinin hücre indeksi düzeyleri.

Kök ve gövde arasında saatler bakımından istatistiksel farklılıklar Tablo (4.14)'te gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Kök ve gövde arasında istatistiksel farklılıklar.

Zaman dilimi (Saat)	p
24.	0.206**
48.	0.049*

*Her sütunda yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamlıdır ($p < 0.05$).

** Her sütunda iki yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamsızdır ($p > 0.05$).

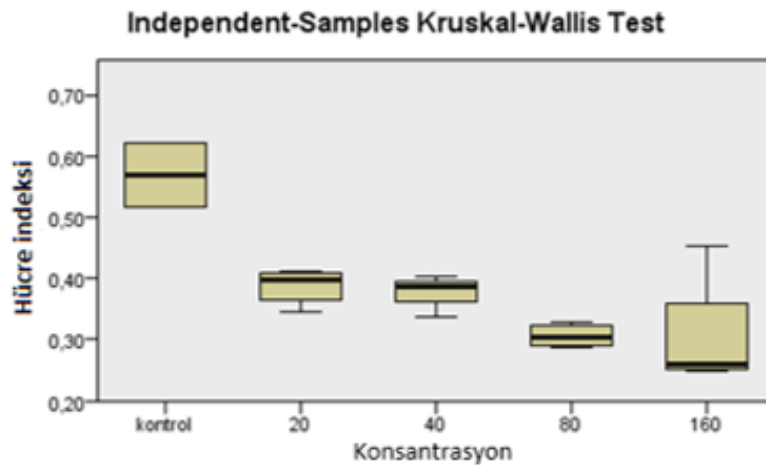
Farklı konsantrasyonda kök özütleri arasında saatler bakımından istatistiksel farklılıkları Tablo (4.15)'te göstermiştir.

Tablo 4.15. Farklı konsantrasyonda kök özütleri arasında saatler bakımından istatistiksel farklılık çoklu karşılaştırma (Independent Kruskal Wallis -Test) sonuçları.

Zaman dilimi (saat)	p
24. saat	0.045*
48. saat	0.096**

*Her sütunda yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamlıdır ($p < 0.05$).

** Her sütunda iki yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamsızdır ($p > 0.05$).



Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonda kök özütleri arasında istatistiksel farklılık çoklu karşılaştırma (Kruskal Wallis) sonuçları.

24. saatta Farklı konsantrasyonda kök özütleri arası bakımından istatistiksel farklılıklar Tablo (4.16)'da göstermiştir.

Tablo 4.16. Farklı konsantrasyonda kök özütleri arasında 24. saat bakımından istatistiki farklılık sonuçları.

Sample1- Sample2	p
20 µg/mL-Kontrol	0.253**
40 µg/mL-Kontrol	0.181**
80 µg/mL-Kontrol	0.12*
160 µg/mL-Kontrol	0.010*
160-20 µg/mL	0.080**
160-40 µg/mL	0.187**
160-80 µg/mL	0.944**
80-40 µg/mL	0.210**
80-20 µg/mL	0.093**
40-20 µg/mL	0.762**

*Her sütunda yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamlıdır ($p < 0.05$).

** Her sütunda iki yıldız taşıyan ortalamalar arası fark anlamsızdır ($p > 0.05$).

4.2. TARTIŞMA

Kanser, hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve anormal hücrelerin yayılması ile karakterize bir hastalıktır. Yüksek mortalitesi nedeniyle kanser, tüm dünyada ve ülkemizde en önemli sağlık sorunlarından biridir.

Kanser türlerinde ölüm oranının oldukça yüksek olması nedeni ile mevcut ilaç uygulamalarının yan etkileri sebebiyle araştırmacılar yeni yöntem arayışına girmişlerdir [5].

Yapılan çalışmalarla bitkisel kökenli gıdaların tüketimiyle kanser oluşumu arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Bitkilerde bulunan flavonoid bileşiklerin kanser hücrelerinin antiproliferasyonu üzerine yüksek bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [6].

Günümüzde önemli sorunlardan biri olan topraktaki ağır metal kirliliğinin önlenmesi açısından Brassicaceae familyası ve *Alyssum* cinsi hakkındaki araştırmalar büyük önem kazanmaktadır. Bu bitki türleri iyi bir çevre dostu olmasının yanında çevredeki ağır metallerin zararlı etkilerini azaltıcı özelliklerinden ve son zamanlarda antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarında olumlu sonuçlar vermesinden dolayı bu türdeki bitkiler üzerindeki çalışmalar önem kazanmaktadır [11].

Brassicaceae familyasına ait olan tür *Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa. *A. floribundum*'un Türkiye'de yetişen endemik bir bitki türüdür. *Alyssum* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçekleri temel biyoaktif kimyasal bileşikler, lifler ve mineraller bakımından oldukça zengindir.

Alyssum cinsinin diğer türleri ile ilgili antitümör aktivite, toplam fenolik madde tayini ve fitokimyasal bileşiklerin tanımlanması ile ilgili çalışmalar bulunmasına rağmen *A. floribundum* Boiss & Balansa (Brassicaceae) bitkisindeki toplam fenolik maddelerin tayini fitokimyasal bileşiklerin tanımlanması ve antikanser aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Özay ve Mammadov yapmış oldukları çalışmada, *Alyssum L.* cinsine ait 3 bitki türünün (*A. Foliosum* var. *Megalocarpum*, *A. simplex* ve *A. strigosum* subsp. *Strigosum*) metanol özütlerini elde etmişler ve bu elde ettikleri özütlerin fenolik madde miktarını tayini etmişlerdir. En yüksek fenolik madde miktarının *A. simplex* özütlerinde olduğu saptanmıştır. Buna göre *A. simplex* toplam fenolik içeriği 40.8 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Daha sonra elde edilen *A. simplex* özütlerinden MCF-7, HELA ve H1299 hücreleri üzerine sitotoksik etkilerini incelenmiş, IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 216.15, 63.05 ve 235.08 µg/mL olduğu rapor edilmiştir [89].

Bu çalışma ile *Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisinin çeşitli kısımlarından (kök, gövde, yaprak ve çiçek) elde edilmiş olan özütlerin toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi, özütlerdeki bileşiklerin kimyasal yapısının aydınlatılması ve farklı

konsantrasyonlarda hazırlanan bu özütlerin, DU-145 prostat kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Literatürler incelendiğinde fenolik madde tayini, GC/MS ile fitokimyasal bileşiklerin tanımlanması ve sitotoksikite tayinlerinde, çözücü olarak etanol, aseton, etil asetat ve metanol kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda fenolik bileşiklerin tayininde en verimli sonuçlar etanol çözücü kullanılarak elde edilmiştir.

Kılınçarslan'ın, Brassicaceae familyası ve *Erysimum* cinsi üzerine yapmış olduğu çalışmada, *Erysimum*'un çeşitli kısımlarından soxhlet ekstraksiyonu ile özütler elde etmiş ve bu elde ettiği özütlerden toplam fenolik madde miktarlarını Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) kullanılarak analiz etmiştir. Özütlerin toplam fenolik madde içeriği değerleri 1 g örnek başına sırasıyla en fazla su ekstraktlarında 4.883 ± 0.47 , aseton ekstraktlarında 4.069 ± 0.28 ve etanol ekstraktlarında 3.798 ± 0.29 mg gallik asit eşdeğeri olarak tespit edilmiştir [74].

Keçebaş, yapmış olduğu bir çalışmada taze ve haşlanmış brokolilerin ve haşlama sularının toplam fenolik madde içeriklerini incelemiş ve taze brokolilerin ortalama toplam fenolik madde içeriği 1807 mg/kg, haşlanan brokolilerin ise 579 mg/kg ile 1549 mg/kg arasında olduğunu saptamıştır [90].

Zhou ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada Brassicaceae familyasına ait olan farklı bitkilerde (kıvırcık lahanası, brokoli) toplam fenolik madde miktarlarını incelemişlerdir. Bu bitki özütlerinin toplam fenolik madde miktarları hesaplanarak sırayla 16.3-8.8 mg GAE/g, 9.4-0.6 mg GAE/g olduğunu rapor etmişlerdir [91].

Akagün, yapmış olduğu bir çalışmada Brassicaceae familyasına ait olan *Alabaş* (*Oleracea* var. *Gongyloides*) bitkisinin etanol, metanol, aseton ve su ile yapılan ekstraksiyonlar sonunda bitkinin kurutulmuş yaprak ve gövdesinden ekstrakte edilebilen maddelerin yüzde veriminin; sırasıyla % 3.05-8.619 olduğunu rapor etmiştir [92].

Özay yapmış olduğu bir çalışmada Brassicaceae familyasına ait olan *Alyssum L.* taksonlarının toplam fenolik madde miktarlarını incelemiştir. *Alyssum L.* taksonlarının özütlerinin (*A. corsicum*, *A. cypricum*, *A. discolor*, *A. foliosum*, *A. fulvescens*, *A. murale*, *A. sibiricum*, *A. simplex*, *A. strigosum*, *A. virgatum*) toplam fenolik madde miktarı değerleri sırayla $36,11 \pm 0,02$ mg GAE/g, $37,01 \pm 0,03$ mg GAE/g, $40,53 \pm 0,05$ mg GAE/g, $40,53 \pm 0,05$ mg GAE/g, $23,19 \pm 0,01$ mg GAE/g, $35,03 \pm 0,04$ mg GAE/g, $35,64 \pm 0,03$ mg GAE/g, $33,45 \pm 0,06$ mg GAE/g, $41,03 \pm 0,08$ mg GAE/g, $34,12 \pm 0,02$ mg GAE/g, $37,12 \pm 0,04$ mg GAE/g olduğunu belirlemiştir [4].

Jahangir ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada Brassicaceae familyasına ait olan farklı bitkilerin (Çin lahanası, brokoli, karnabahar, beyaz lahanası) toplam fenolik madde miktarlarını incelemişler ve bu bitki özütlerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri hesaplanarak sırayla; 1189 ± 125 µg GAE /g, 822 ± 89 µg GAE/g, 278 ± 15 µg GAE/g, 153 ± 21 µg GAE/g olarak belirlemişlerdir [12].

Tajbakhsh ve ark., yapmış oldukları bir çalışmada, ilk kez *Alyssum spp.* bitkisinin metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik içeriğini araştırmışlardır. Bu *Alyssum spp.*'nin metanol ekstraktlarında tespit edilen toplam fenolik madde 221 ± 2.5 mg GAE/g olduğu rapor edilmiştir [93].

Yapmış olduğumuz çalışmada Folin-Ciocalteu yöntemi ile *A. floribundum* örneklerinin (kök, gövde, yaprak ve çiçek) farklı kısımlarından toplam fenolik maddeler gallik asit değeri cinsinden eşdeğerliliği belirlenmiştir. Buna göre *A. floribundum* bitki özütlerinin toplam fenolik madde miktarı kökte 12.6 ± 0.4 , gövdede 8.2 ± 0.1 , yaprakta 4.9 ± 0.5 , çiçekte 5.7 ± 0.55 mg GAE/g olarak saptanmıştır. En yüksek fenolik madde miktarları sırayla kök>gövde>çiçek>yaprak şeklinde belirlenmiştir. Bununla birlikte, aynı familyanın diğer türlerine kıyasla önemli miktarda fenolik bileşiğe sahip olduğu bu çalışma ile gösterilmiştir.

Kılınçarslan, yapmış olduğu çalışmada Brassicaceae familyasına ait bir bitki türü olan *Erysimum kotschyanum* özütlerinin bazı biyolojik aktivitelerini araştırmış ve buna göre, bitki ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesini % 80.47 ± 1.83 , toplam fenolik 4.883 ± 0.47 ve flavonoid madde miktarlarını 93.322 ± 1.57 olarak belirlemiştir [74].

Valadbeigi ve Lemraski yaptıkları bir çalışmada, *Alyssum homalocarpum* (Fisch. & C.A.Mey.) Boiss tohum özütlerinden nanopartiküllerini sentezlemişlerdir. Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak özütlerin toplam fenolik miktarı tayinini yapmışlar ve toplam fenolik madde miktarlarının 154.68 ± 3.22 g/100 g olarak rapor etmişlerdir. GC/MS Analizi ile çalıştıkları bu bitki türünde 9,12,15-octadekatrien 1-ol, n-heksadekanoik asit, 2-pirazolin, 2,4-dekadienal ve linoleik asit, gamma-sitosterol ve 1-naftalenamine gibi önemli bileşikler tespit etmişlerdir [94].

Özay'ın yapmış olduğu bir çalışmada HPLC cihazı ile Brassicaceae familyasına ait olan *Alyssum L.* cinslerinin *Alyssum* ekstraktlarından fenolik asit ve flavonoidlerin analizi gerçekleştirilmiştir. Her bir *Alyssum* ekstraktlarında fenolik bileşik türleri gallik asit, proto kateşuik asit, 4-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, rutin, ferulik asit, kuersetin, sinnamik asit, kamferol olduğu tespit edilmiştir [4].

Matthaus B. ve ark. bazı *Nigella* türlerinin tohum yağlarının lipit bileşimlerini incelemişlerdir. Tohumların toplam yağ içeriğinin % 28.0 ile % 36.4 arasında değiştiği saptanmıştır. *Nigella* tohum yağlarının GC/MS yağ asidi kompozisyon analizi ile linoleik asit içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Diğer belirgin yağ asitleri ise oleik, palmitik ve stearik asitler ve tokoferol gibi bileşikler olarak belirlenmiştir. Sterol fraksiyonlarının kompozisyonları, gaz sıvı kromatografisi ile belirlenmiştir. Toplam sterol miktarı ana bileşeni β -sitosterol, avenasterol, kampesterol ve stigmasterol olduğunu rapor etmişlerdir [95].

Genel olarak GC/MS, uçucu madde, uzun zincirli, dallanmış zincirli hidrokarbonlar, alkol asitleri, esterler, alkanler, alkenler, alkoller vb. bileşenlerini tanımlamak için kullanılan en iyi tekniklerden biridir. *A. floribundum* özütlerinin tümör aktivitesinin, bunun başlıca fenolik

bileşikler, steroidler ve flavonoidler gibi fitokimyasal bileşiklerin varlığından kaynaklandığı gösterilmiştir. Dolayısıyla, bu bitki alternatif bir antikanser ilaç kaynağı olarak değerlendirilebilir.

Yapmış olduğumuz bu çalışmamızda Brassicaceae familyasına ait olan *A. floribundum* bitkisinin ana bileşikleri GC/MS kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen bileşikler, palmitik asit, linolenik asit, linoleik asit, elaidolinolenik asit, fitol, loliolide, 6-metil-2-fenil indol, neoftadien, skopoletin (kumarin), gama sitosterol, benzoik asit türevleri, yağ asitlerinin esterleri (palmitik asidin etil ester, stearik asit etil ester, linoleik asit etil ester, linolenik asit etil ester), alkanlar (ikozan, dikoza, tetrakozan, oktakoza, oktodekan, tetrakozan, heptadekan, heptakoza), alkenler (nonadekan, pentakos-3-en, 5-oktadekan) vb. olarak belirlenmiştir. Bu fitokimyasal bileşiklerin tanımlanması; tepe alanı, alıkonma süresi (zamanı) ve moleküler formüle dayanarak doğrulanmıştır.

Yalçın'ın yapmış olduğu bir çalışmada, xCELLigence cihazı ile MCF-7 hücre hattı üzerine kuersetin (125, 150, 175, 200, 225, 250 μM) ve hesperetin (10, 50, 100, 125, 150, 175 μM) sitotoksik etkisini incelemiş ve MCF-7 hücre hattı üzerine kuersetin uygulanan ve hesperetin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını inhibi ettiğini belirlenmiştir. Buna göre 175 μM hesperetin 72. saatten sonra, MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını kontrole göre ortalama % 48.8 oranında engellerken, 144. saatte % 80.8 oranında inhibe etmiştir ($p < 0.026$). 250 μM kuersetin 72. saatten sonra, MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını kontrole göre ortalama % 63.4 oranında inhibe ederken, 144. saatte % 88.6 oranında inhibe ettiği saptanmıştır ($p < 0.000$) [6].

Samancıdursun xCELLigence yöntem ile toksisite değerlendirme metotları ve gerçek zamanlı hücre elektronik algılama sistemi kullanarak hesperetin olduğu çalışmada 72. saatte hesperetin en yüksek inhibitör etkisini 175 μM konsantrasyonda gösterdiğini belirlemiştir. [96].

Marzouk'un yapmış olduğu bir çalışmada Brassicaceae familyası ait olan *Erucaria hispanica* metanol özütlerinin kanser hücre hattında monolayer yöntemi ile sitotoksik etkisini araştırmak için 4 farklı kanser hücre hattı (HEPG2, MCF-7, HELA, HCTH6) kullanılmış ve oluşan renk yoğunluğu Elisa cihazı ile ölçülmüştür. Hazırlanan özütlerin farklı konsantrasyonları (0, 25, 50 ve 100 $\mu\text{g/mL}$) HEPG2, MCF-7, HELA, HCTH6 hücre hattlarına uygulanarak 48. saattan sonra hücre proliferasyonu incelenmiş ve IC_{50} değerleri sırasıyla $\text{IC}_{50} = 18, 20.8, 14.7, 20.4 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Aynı konsantrasyonlar HELA hücre hattına uygulanarak *Erucaria hispanica* bitkisinden saf olarak izole edilen bileşikler (luteolin 6,8-di-C-b-glucopyranosid, luteolin 8-C-b-glucosid, kuercetin 7-O-b-glucopyranoside ve agathisflavone 7,7,4,4-tetra metil eter) kullanılmış ve 48. saat sonunda IC_{50} değerleri sırasıyla 20.7, 15.6, 16.4, 20.3 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir [97].

Moradi R. ve ark.'ının yapmış olduğu bir çalışmada Brassicaceae familyası ait olan *Rorippa nasturtium aquaticum* özütlerinin MTT analiz yöntemi kullanılarak kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini araştırmışlar ve bu çalışmada 2 farklı kanser hücre hattı (HELA ve Fibroblast)

kullanmışlardır. 0.625 ila 2 mg/mL konsantrasyonlardaki HELA ve Fibroblast'a uygulanan özütlerin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyondan sonra hücre ölüm oranları incelenmiştir. Kanserli HELA hücrelerinin hayatta kalma oranı zamanla azalmış ve bitkinin özütlerinin konsantrasyonları arttıkça daha fazla antikanser aktivites gösterdiği gözlemlenmiştir. 24, 48 ve 72. saatten sonra IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 373, 349 ve 333 µg/mL olarak belirlenmiştir [98].

Özay'ın yapmış olduğu bir çalışmada Brassicaceae familyasına ait olan *Alyssum L.* taksonlarının *Alyssum* özütlerinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini araştırmak için 3 farklı kanser hücre hattı (MCF-7, H1299 ve HELA) kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktlar (1000, 500, 250, 100, 50, 10 ve 1 µg/mL) hücrelere uygulandıktan sonra 0. ve 72. saatlerdeki hücre proliferasyonu luminometrik olarak ölçülmüştür. MCF-7, H1299 ve HELA hücre hatlarında kontrole oranla yüzde sağkalım oranları ve IC₅₀ inhibisyon değerleri hesaplanarak sırasıyla; IC₅₀ değeri *A. corsicum*'da 114,12- 98,02- 54,16 µg/mL, *A. cypricum*'da 115,45- 223,15- 44,13 µg/mL, *A. cypricum* 115,45- 223,15- 44,1 µg/mL, *A. discolor* 64,12- 85,17- 98,07 µg/mL, *A. foliosum* 262,11- 250,32- 119,35 µg/mL, *A. fulvescens* 120,05 -128,05- 114,11 µg/mL, *A. murale* 134,12- 95,54- 56,01 µg/mL, *A. sibiricum* 203,01- 210,03 - 121,06 µg/mL, *A. simplex* 216,15- 235,08- 63,05 µg/mL, *A. strigosum* 277,02- 264,0 - 125,18 µg/mL, *A. virgatum* 123,17- 87,06- 35,45 µg/mL olarak belirlenmiştir [4].

Bu çalışmada xCELLigence cihazı ile DU-145 hücre hattı üzerine farklı konsantrasyonlarda 20, 40, 80, 160 µg/mL hazırlanan kök, gövde ve yaprak özütlerinin sitotoksik etkisini incelemiştir. Elde edilen sonuçları *A. floribundum* kök, gövde ve yaprak özütlerinin DU-145 hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiği belirlenmiştir. Buna göre kök özütlerinde 20 µg/mL konsantrasyonda bitki özütü 24. saatten sonra, DU-145 hücre hatlarının çoğalmasını kontrole göre % 31.88 oranında engellerken, 48. saatte % 23.96 oranında inhibe ettiği gösterilmiştir. 40 µg/mL konsantrasyondaki bitki özütü 24. saatten sonra, DU-145 hücrelerinin çoğalmasını kontrole göre % 33.84 oranında inhibe ederken, 48. saatte % 21.95 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. 80 µg/mL konsantarsyonda 24. saatten sonra, DU-145 hücrelerinin çoğalmasını kontrole göre % 46.11±2.93 oranında inhibe ederken, 48. saatte % 33.08±1.36 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. 160 µg/mL konsantrasyondaki kök özütü 24. saat sonunda kanser hücrelerinin proliferasyonunu kontrole göre % 46.3±11.97 oranında engellerken 48. saat sonunda % 54.92±17 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. Tablo (4.10) ve Şekil (4.7)'e göre ise gövde özütlerinde 20 µg/mL konsantarsyonda 24. saatten sonra, DU-145 hücre hatlarının çoğalmasını kontrole göre 50.53±12.6 oranında engellerken, 48. saatte 53.11±23.5 oranında inhibe etmiştir. 40 µg/mL konsantarsyonda 24. saatten sonra, DU-145 hücrelerinin çoğalmasını kontrole göre % 55.64±4.1 oranında inhibe ederken, 48. saatte % 53.09±3.8 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. 80 µg/mL konsantarsyonda 24. saatten sonra, DU-145 hücrelerinin çoğalmasını kontrole göre % 41.11±21.5 oranında inhibe ederken, 48. saatte % 45.90±17.5 oranında inhibe ettiği saptanmıştır.

160 µg/mL konsantrasyonda gövde özütü 24. saat sonunda kanser hücrelerinin proliferasyonunu kontrole göre % 81.49±2.8 oranında engellerken 48. saat sonunda % 94.38±2.78 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. Bu çalışma, *A. floribundum*'un neredeyse tüm kök ve gövde özütlerinin DU-145 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisiye sahip olduğunu göstermektedir. Sonuçlar, *A. floribundum* özütlerinin DU-145 hücrelerinin proliferasyonunu, doz ve zamana bağlı olarak inhibe ettiğini göstermiştir. DU-145 hücre hattı üzerine en düşük sitotoksik etkiye sahip olan dozun 20 µg/mL konsantrasyondaki kök ve gövde özütlerinin olduğu belirlenmiştir. *A. floribundum* özütlerinin inhibitör etkisi en fazla 160 µg/mL konsantrasyonda gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızın literatürlerden en önemli farkı da kullanılan *A. floribundum* özütlerinin inhibitör etkilerinin RTCA sistemiyle belirlenmiş olmasıdır. 24. ve 48. saatler sonunda DU-145 hücre hattına uygulanan kök özütleri IC₅₀ değerleri sırayla 192.1-157.4 µg/mL, gövde özütleri IC₅₀ değerleri sırayla 29.12-26.73 µg/mL ve yaprak özütleri ise IC₅₀ değerleri sırayla; 226.4-80.23 µg/mL olarak saptanmıştır. IC₅₀ değerinin düşük olması sitotoksik etkinin yüksek olduğu anlamını taşımaktadır. 24. saat sonunda *A. floribundum* özütlerinin IC₅₀ değerleri sırayla; yaprak>gövde>kök olarak belirlenmiştir. 48. saat sonunda ise *A. floribundum* özütlerinin IC₅₀ değerleri sırayla; kök>yaprak >gövde olarak belirlenmiştir. IC₅₀ değerlerindeki farklılık, *A. floribundum* özütlerinin in vitro sitotoksik aktivite üzerine doğrudan bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmaya göre gövde özütleri kök özütlerine kıyasla daha fazla etki göstermiş ve IC₅₀ değeri daha düşük saptanmıştır. Hazırlanan yaprak özütlerinin DU-145 hücre hattına karşı düşük sitotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aynı bitki cinsi ile yapılan çalışmalarla uyumlu sonuçlar göstermiştir.

İstatistiksel sonuçlara göre Tablo (4.14)'e göre normal dağılımı inceledikten sonra ikili karşılaştırmalar için Independent Samples T-test (two-tailed) kullanılmıştır. Kök ve gövde konsantrasyonları dikkate alınmadan sadece kök ve gövde arasındaki farklılıklar incelendiğinde canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.206). 48. saatte kök ve gövde arasındaki farklılıklar incelendiğinde canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.04).

Tablo (4.15)'e göre çoklu karşılaştırma için Independent Kruskal Wallis kullanılmıştır. 24. saat sonunda kök özütlerinin konsantrasyonları arasında istatistiksel farklılıklar incelendiğinde canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.045). Bu farklılığın hangi gruplar arasından kaynaklandığını incelediğimizde ise 160 µg/mL ile kontrol arasında anlamlı istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0.01). 80 µg/mL ile kontrol arasında anlamlı istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0.012). Diğer konsantrasyonlar arasında ise anlamlı istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p>0.05). 48. saat sonunda analiz sonuçları değerlendirildiğinde ise herhangi anlamlı bir istatistiksel farklılık bulunmamıştır (p=0.096) (Tablo 4.16). Gövdede ise çoklu karşılaştırma için Independent Kruskal Wallis kullanılmıştır. 24. ve 48. saatler sonunda

konsantrasyonlar arası anlamlı farklılık olup olmadığına baktığımızda gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Dünya’da ilaç, kozmetik, parfümeri ve gıda sektörlerinde bitkisel ürünlere olan talep sürekli artış göstermektedir. Bu eğilim “Doğaya Dönüş” olarak adlandırılmaktadır. Tıbbi-aromatik bitkilerin önemi fonksiyonel özelliklerinin anlaşılması ve sağlıklı beslenme bilincinin artmasına paralel olarak tüketim sürekli olarak artmaktadır. Ülkemiz, farklı iklim ve ekolojik koşulları ile doğadan toplanan tıbbi-aromatik bitkiler açısından oldukça zengindir [3]. Sebze, meyve, çay gibi bitkisel kökenli içeceklerin, bitkisel kaynaklı ilaçların ve gıda takviyelerinin içerisinde bol miktarda bulunan fenolik bileşikler antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitümör gibi birçok etkiye sahiptir.

Bazı bitkiler detoks mekanizması ile vücudu maligniteden koruyabilmektedir. Biyolojik yanıtı modifiye eden tıbbi bitkiler kanser gelişimini de hormon ve enzim aktivitelerini modifiye ederek engelleyebilirler. Bu yüzden günümüzde geleneksel tedavi yöntemleri önem kazanmış ve böylelikle bitkilerin tıbbi amaçlı kullanımı artmıştır.

Brassicaceae familyası üyeleri; antioksidan ve antikanser özellikleri ile ilgili olarak fenolik asitler, flavonoidler ve vitaminler gibi çeşitli biyolojik aktif bileşikler bakımından zengindir ve çeşitli kanser türlerinde tümör oluşumunu inhibe etme özellikleri vardır [4]. Brassicaceae familyasından biri *Alyssum* cinsidir. *Alyssum L.* cinsi, Türkiye Florası’nın da büyük cinsleri arasında yer almakta ve 90 türle temsil edilmektedir. Bu türlerin 54’ü endemik olup, *Alyssum* cinsi tek, iki veya çok yıllık bitkilerden oluşmaktadır [4].

Çalışmamızda *Alyssum* cinsine ait olan ve ülkemizde yayılış gösteren *A. floribundum* bitkisinden elde edilen kök, gövde, yaprak ve çiçek özütlerinin toplam fenolik madde miktarı ve antikanser aktiviteleri belirlenmiştir. Literatür çalışmalarına göre bu türlerin genel anlamda iyi birer antikanser kaynağı oldukları söylenebilir.

Toplam fenolik madde tayini sonuçlarına göre, *A. floribundum* bitkisinden elde edilen kök, gövde, çiçek ve yaprak özütlerinin gallik asit değeri cinsinden eşdeğerliliği belirlenmiştir. Özellikle bitkinin kök kısmının diğer kısımlara ait özütlerle kıyasla oldukça yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu gösterilmiştir.

Antikanser aktivitesi tayini ise xCELLigence yöntemi ile referans olarak kontrol (kansere hücreyi+besiyeri) kullanılarak inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır. Gerçek zamanlı hücre analizine göre, *A. floribundum*’un kök ve gövde özütlerinin 20, 40, 80, 160 µg/mL konsantrasyonlarının 24. ve 48. saat sonunda DU-145 prostat kanser hücresi üzerindeki sitotoksik ve sitostatik etkileri belirlenmiştir. Uygulanan *A. floribundum* özütlerinin zamana bağlı olarak DU-145 hücre canlılığında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Bu nedenle *A.*

floribundum özütlerinin DU-145 hücrelerinde 48. saat sonunda sitostatik etki gösterdiği bulunmuştur. Hazırlanan gövde özütlerinin DU-145 hücre hattına karşı en yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, 24. ve 48. saatler arasında *A. floribundum*'un gövde özütlerinin IC₅₀ değerinin düşük olması onun güçlü bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak en yüksek sitotoksik etki sırasıyla gövde, kök ve yaprak özütlerinde tespit edilmiştir. Zaman ve konsantrasyon arttıkça, DU-145 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkinin arttığı gözlemlenmiştir.

Sitostatik ilaçlar, antitümör etkilerini kanser hücrelerinin spesifik hücre yapılarını veya metabolik yollarını bozarak göstermektedirler [99]. Sitotoksik ajanların ve bitkisel özlerin sitotoksik aktivitesi genellikle DNA hasarına ve apoptoza neden olmaktadır [99]. Sitostatik reaksiyonların yanısıra, kanser hücrelerinin çoğalmasını önleme ile hücre döngüsünün bloke olmasını ya da gecikmesini sağlamak için doğal ilaçlar kanser tedavilerinde kullanılabilir [99].

GC/MS sonuçlarına göre elde edilen bileşikler, fitol, loliolide, neoftadien, skopoletin (kumarin), gama sitosterol, benzoik asit türevleri, yağ asitleri, yağ asitlerinin esterleri, alkanlar, alkenler vb. olarak belirlenmiştir.

Mersin'in Erdemli ilçesi Müğlü deresi köyü civarında toplanan ve endemik bir bitki türü olan *A. floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisinin çeşitli kısımlarından elde edilen etanollü özütlerin fenolik madde miktarları, kimyasal içerikleri ve sitotoksikite çalışmaları ilk defa bu tez çalışması ile belirlenmiştir. Bu bağlamda bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağını ve bundan sonra *A. floribundum* bitkisi ile yapılması düşünülen birçok çalışmaya da yol gösterici olacağını düşünmekteyiz. *A. floribundum* bitkisinin etki mekanizmasının tam olarak açıklanabilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.2. Öneriler

A. floribundum bitkisi ile yapılacak olan bundan sonraki çalışmalarda Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) ile fonksiyonel grupların tayini ve HPLC vasıtasıyla bu özütlerin içeriğindeki maddeler araştırılarak; etken madde tespiti yapılabilir. Bu bitkideki biyoaktif maddelerin izolasyonu gerçekleştirilerek bu maddelerin kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olup olmadığının belirlenmesi ile yapılması düşünülen hedef odaklı çalışmalara yol göstereceği düşünülmektedir. Tripan mavisi, mikro çekirdek ve comet yöntemiyle *A. floribundum* bitkisinin kanser hücre hattı yollarındaki etkilerini belirlemek için sitotoksikite tayinini yapılabilir. Nanopartiküllü *A. floribundum*'un özütlerinin biyolojik etkilerinin araştırılması tavsiye edilmektedir. Ayrıca, bu konudaki araştırmaların kapsamı genişletilerek in vivo, in vitro ve klinik çalışmalarla desteklenmelidir.

Kaynaklar

- [1]. Macdonald, F., Ford, C. H. J., Casson, A.G., *Molecular Biology of Cancer*. 2th.; © Garland Science/Bios Scientific, New York, 2004; p. 44-46.
- [2]. Althweini, A. N., Naseef, S.S., Karanfil ekstraktının AMN3 ve REF hücre hatları üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi. *Irak Bilim Dergisi*, **2010**, 51, (3), 460-464.
- [3]. Gölükcü, M., Tokgöz, H. M. A., Çelikyurt, M. A., Tuğrul Ay, S., *Tıbbi ve Aromatik Bitki İşletmelerinin Yapısal Analizi*. 1.; Batem, Antalya, 2012; p. 5-6.
- [4]. Özay, C., Ege Bölgesi'ndeki Bazı Alyssum L. Taksonlarının Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi ve Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2015.
- [5]. Tarançı, Ö., Bazı Bitki Ekstraktlarının Kanser Hücrelerinde Antioksidan, Antikanserojenik ve Apoptotik Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi Biyoloji, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2014.
- [6]. Yalçın, G., Flavonoidlerin Kanser Hücrelerine Etkisi. Yüksek lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2013.
- [7]. Mohamed, A., Hüseyin, S. M., Abdül El Wahab, A. İ., Ham maydanoz etil ekstraktlarının AMN-3 hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri. *Mühendislik ve Teknoloji Dergisi*, **2011**, 29, (13), 543-553.
- [8]. Takım, K., Kiraz Yaprağı Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesinin ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 2010.
- [9]. Anulika, N. P., Ignatius, E. O., Raymonde, S., Osasere, O.I., Abiola A.H., The chemistry of natural product: plant secondary metabolites. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research*, **2016**, 4, (8), 2347-4289.
- [10]. Cristiana, F., Elena, A., *Reactive Oxygen Species (Ros) in Living Cell*. 1th ed; IntechOpen, UK, 2018; p. 3-5.
- [11]. Salık, Y., *Alyssum Floribundum Bioss. & Balansa* (Brassicaceae) Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 2019.
- [12]. Jahangir, M., Kim, H. K., Choi, Y. H., Verpoorte R., Health-affecting compounds in Brassicaceae. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf*, **2009**, 8, 1-43.
- [13]. Liu, H., Dong, Y., Gao, Y., Du, Z., Wang, Y., Cheng, P., Chen A., Huang, H., The fascinating effects of baicalein on cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, **2016**, 17, (10), 1681.
- [14]. Ahmed, N., *Clinical Biochemistry*. 1th ed.; ©Oxford University Press, New York, 2011; p. 550-570.
- [15]. Sirdaarta, J. P., Phytochemical Study and Anticancer Potential of High Antioxidant Australian Native Plant. Thesis PhD Doctorate School of Natural Sciences Griffith University, Brisbane, 2016.
- [16]. Bashor, D. M., The Role of Human Kallikrein 2 in Prostate Cancer Detection and Comparing it with other Diagnostic Biomarker. Biochemistry and Microbiology Faculty of Pharmacy, Damascus, 2015.
- [17]. Doğan, Z. Ö., Hücre Dışı Plazma DNA'nın Prostat Kanseri Kantitatif Tayini ve Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2006.
- [18]. Hamutoğlu, R., Önder, O., Fizyolojik ve patolojik koşullarda anjiyogenezin rolü. *FNG & Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi*, **2017**, 2, (2), 56-62.
- [19]. Attia, M. A., Hazzaa, S. M., Essa, S. A., Seleim, M. F., Pro akut miyeloid lösemili Mısırlı hastalarda çözünür anjiyopoitein-2 ve çözünür tie-2'nin prognostik değeri. *Turk J Hematol*, **2010**, 27, (4), 282-288.
- [20]. Seillier, M., Peugot, S., Dusetti, N. J., Alice Carrie A., *Antioxidant Role of P53 and of Its Target TP53INP1*. 1th ed; Intech Open, UK, 2012; p. 117-129.
- [21]. Bütüner, B. D., Kantarcı, G., Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, **2006**, 35, (2), 149-170.

- [22]. Mustafa, ö. (2018). *Kanser nedir? neden ve nasıl oluşur? kısaca tüm süreç ve biyoloji*. 25 Şubat 2019 tarihinde www.drozdogan.com/kanser-nedir-neden-ve-nasil-olusur-ozetle-tum-surec/.htm adresinden erişildi.
- [23]. Khan, H., Determinants of Prostate Cancer: The Birmingham Prostatic Neoplasms Association Study. Doctor of Philosophy, The University of Birmingham, Birmingham, 2011.
- [24]. Vydehi Institut of Medical Science & Research Center. (2018). *Prostate cancer – an overview*. 25 Şubat 2019 www.vims.ac.in/blog/prostate-cancer/.htm adresinden erişildi.
- [25]. Keskinç, B., Gültekin, M., Karaca A. S., Öztürk, Ö., Boztaş G., Karaca, M. Z., Utku E. Ş., Hacıkamiloğlu, E., Dede, H. T. İ., DüNDAR, S., *Türkiye Kanser Kontrol Programı*. 1.; T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı, Ankara, 2016; P. 22-45.
- [26]. Cancer Research UK. (2019). *Prostate cancer incidence statistics*. 25 Şubat 2019 www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/prostate-cancer/incidence#heading=Two.htm adresinden erişildi.
- [27]. Koç, L. Y., Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkileriyle, Kanserli Dokularda Adenozin Deaminaz Enzimi Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2012.
- [28]. Özcan, E., Prostat Kanseriyle İlişkilendirilmiş Tümör Baskılayıcı Genlerin Multiplex Ligationdependent Probe Amplification (MLPA) Yöntemi ile Metilasyon Paternlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2013.
- [29]. Alteri, R., Brooks, D., Chambers, W., Chang, E., Cotter, J., Desantis, C., Drope, J., Their friends. American cancer society. *Cancer facts & figures*. ©2018, American Cancer Society, Inc., **2018**, 6, (18), 1-70.
- [30]. Noyan, T., Başkent Üniversitesi Adana Uygulama. ve Araştırma Merkezi. (2019). *Prostat kanseri*. 23 Şubat 2019 www.baskenthastaneleri.com/uploads/images/adana/prostat.pdf.htm adresinden erişildi.
- [31]. Şığva, Z. Ö. D., Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Paklitaksel ile Bitkisel Etkin Maddelerin ve Endemik Bitki Ekstrelerinin Sinerjistik Etkisinin Hücre Döngüsü ve Apoptoz Sinyal İletim Yolakları Üzerine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2012.
- [32]. Konaç, E., Sözen, S., Prostat kanserinin tanı ve tedavisinde moleküler biyolojinin kullanım alanları. *Üroonkoloji Bülteni*, **2014**,13, 228-235.
- [33]. Türkeri, L., Kronik prostatit, enflamasyon ve prostat kanseri. *Üroonkoloji Bülteni*, 2007, 3, 11-15.
- [34]. Sfanos, K. S., Adams, K. C., Hempe, H., Yu, S. H., Simons, B. W., Schaeffer, A. J., Schaeffer, E. M., Nelson, W. G., Marzo, A. M. D., Bacterial prostatitis enhances 2-amino-1-methyl-6 phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP)-induced cancer at multiple sites. *Cancer Prev Res (Phila)*, **2015**, 8, (8), 683-692.
- [35]. Braun, M., Prostat organı nedir. *Türk Tanısal ve Girişimsel Radyoloji Dergisi (Official Journal of the Turkish Society of Radiology)*, **2018**, 8, (4), 582-586.
- [36]. Esen, H. H., Prostat Adenokarsinomlarında PSA Değerlerinin Gleason Skor ve Klinik Evre ile İlişkisi. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Konya, 2005.
- [37]. Aydın, H., Prostat Biyopsilerinin Histopatolojik Değerlendirmesi. Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ankara, 2005.
- [38]. Şar, A., Lokalize Prostatik Adenokarsinomda Tümör Volümü (TV), Non Tümör Volümü (NTV), TV/NTV, Fibronektin Dağılımı, βHCG ve PSA. Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, 2005.
- [39]. www.kursunkalem.com. (2019). *Desmoplazi*. 23 Şubat 2019 tarihinde www.kursunkalem.com/veteriner-terimi/desmoplazi/.htm adresinden erişildi.
- [40]. Ekşisozluk. (2011). *Asiner*. 18 Şubat 2019 tarihte www.eksisozluk.com/asiner--2747147.htm adresinden erişildi.
- [41]. NND. (2018). *Asiner*. 02 Nisan 2019 tarihinde www.nedirnedemek.com/asiner-ne-demek.htm adresinden erişildi.

- [42]. BAYDAR, D. E. (2010). *Gleason derecelendirme sistemi*. 19 Şubat 2019 tarihinde www.turkpath.org.tr/pdf/SMYRNA/16%20kurs/debaydar.pdf.htm adresinden erişildi.
- [43]. Humphrey, P. A., Diagnosis of adenocarcinoma in prostate needle biopsy tissue. *J Clin Pathol*, **2007**, 60, 35-42.
- [44]. Prostat Kanseri Derneği. (2013). *Prostat kanseri tümör evre ve derecelendirmesi ne demektir?*. 20 Şubat 2019 tarihinde www.prostatkanseriderneği.org/prostat-kanseri/prostat-kanseri-tumor-evre-ve-derecelendirmesi-ne-demektir.htm adresinden erişildi.
- [45]. Baydar, D. E., Prostat kanser patolojisi. *Türk Radyoloji Derneği*, **2017**, 5, 370-82.
- [46]. Kılıçaslan İ, Güllüoğlu MG, Özcan F, Esen T, Kaya A, Uysal V., Prostat karsinomunda patolojik evre ve grade ile anjiogenetik aktivitenin ilişkisi. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası*, **1999**, 62, (3), 325-330.
- [47]. Söğüt, F., İmipramine'in Prostat Kanserinde Potasyum Kanal Kinetikleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 2013.
- [48]. Eroğlu, P., Meme Kanserinde Tamoksifen'in Potasyum Kanal Gen Ekspresyonu Üzerine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin, 2013.
- [49]. Ergüney, S., *Ajcc Kanser Evreleme Atlası*. Nobel Matbaacılık, İstanbul, 2012, p. 9.
- [50]. Makoto, M.D., Thomas, M., Wheeler, M.D., and Peter, T., Scardino, M.D., The New american joint committee on cancer and international unionagainst cancer tnm classification of prostate cancer. *Cancer*, **1994**, 74, (1), 104-106.
- [51]. Yencilek, F., Koca, O, Kuru, M., Prostat kanserinde tanı. *Nucl Med Semin*, **2018**, 4, (3), 163-173.
- [52]. Çetin, Ö., Türkiye Fıbiğia Medık. (CRUCIFERAE) Cinsi Üzerine Moleküler ve Mikromorfolojik Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2009.
- [53]. Orcan, N., Binzet, R., A study of Alyssum floribundum (Brassicaceae). *Phytologia Balcanica*, **2004**, 10, (2-3), 217-225.
- [54]. Sanlier, N., Saban, M. G., The benefits of Brassica vegetables on human health. *Journal of Human Health Research Res*, **2018**, 1, (1), 104.
- [55]. Defteriniz.com. (2016). *Kuduz otu (Alyssum) üretimi*. 14 ocak 2018 tarihinde www.defteriniz.com/kuduz-otu-alyssum-yetistiriciligi-cruciferae-familyasi-bitkileri-eyzaj/22743/.htm adresinden erişildi.
- [56]. Çalik, İ., Alyssum Virgatum Nyar. Sulu Ekstrelerinin Antisitotoksik ve Antimutajenik Özelliklerinin Allium ve Ames Testi ile Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2013.
- [57]. Topcu, Ş., Çölgeçen, H., Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, **2015**, 8, (2), 09-29.
- [58]. Kılınçarslan, Ö., Erysimum Kotschyanum'un Ağır Metal İçeriği ile Ekstraktlarının Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2016.
- [59]. Uzunhan, S., Heliotropium Hirsutissimum' dan Elde Edilen Farklı Ekstrelerin Fitokimyasal Analizi ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2014.
- [60]. Gökçen, İ. S., Nurhan Keskin N. Kunter B. Cantürk S. Karadoğan B., Üzüm fitokimyasalları ve Türkiye'de yetiştirilen üzüm çeşitleri üzerindeki araştırmalar. *n. Keskin Et Al/Turkish Journal of Forest Science*, **2017**, 1, (1), 93-111.
- [61]. Alruwaih, N., Chemical Profiling and Comparative Evaluation of Bioactive Compounds in Lyophilized and Tray-dried Rocket (Eruca sativa), degree of Master of Science, Department of Food Science and Agricultural Chemistry Macdonald Campus, McGill University, Montreal, 2016.
- [62]. Dereli, S., Sideritis Bilgerana P. H. Davis Bitkisinin Fitokimyasal Analizleri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 2016.
- [63]. Muhsiroğlu, Ö., Flavonols, cardiovascular/cerebrovascular diseases and cancer. *Bes Diy Derg*, **2017**, 45, (2), 178-184.

- [64]. Kahraman, A., Serteser, M., Koken, T., Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, **2002**, 3, 01-08.
- [65]. Nishiumi S., Miyamoto S., Kawabata K., Ohnishi K., Mukai R., Murakami A., Ashida H., Terao J., Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, **2011**, 3, (4),1332-1362.
- [66]. Nayir, S. M., Sütün Yoğurda Dönüşümü Sırasında İçerdiği Fenolik Antioksidan Maddelere Probiyotik Bakteri Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2008.
- [67]. Justino, J., *Flavonoids-From Biosynthesis to Human Health*. 1 th ed; Intech Open, UK, 2017, p. 287-290.
- [68]. Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (AÜBİBAM). (2017). *xCELLigence*. 08 Nisan 2018 tarihinde www.aubibam.anadolu.edu.tr/tr/cihaz-ve-donan%C4%B1mlar/xcelligence-ger%C3%A7ek-zamanl%C4%B1-h%C3%BCre-analiz-istemi-real-time-cell-analysis-system.htm adresinden erişildi.
- [69]. Evcimen, M., Aslan, R., Yaygın kullanıma sahip tıbbi aromatik bitkilerdeki bazı antioksidan fitokimyasalların fizyolojik etkileri. *Kocatepe Vet J*, **2015**, 8, (2), 65-78.
- [70]. Sağlık Bilgisi. (2008). *Oligomerik proantosiyanidinler*. 22 Haziryan 2019 tarihinde www.saglikbilgisi.gen.tr/proantosiyanidin---8211-guclu-flavonoid-alesinin-bir-parcasi/3669/ htm adresinden erişildi.
- [71]. Cin, P., Gezer, C., Fonksiyonel bir besin olarak turunçgiller ve metabolik sendrom ilişkisi. *Journal of Food and Health Science*, **2017**, 3, (2), 49-58.
- [72]. Harborne, J. B., *Phytochemical Methods*. 3th ed; Fakenham Press Limited Fakenham, Norfolk, London New York, 2016; p. 33-66.
- [73]. Nizamlioğlu, N. M., Nas, S., Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Teknolojik Araştırmalar: Gted*, **2010**, 5, (1), 20-35.
- [74]. Miadokova E., Isoflavonoids–an overview of their biological activities and potential health benefits. *Interdisciplinary Toxicology*, **2009**, 2, (4), 211-218.
- [75]. Dini I. (2019). *Functional and medicinal beverages*. 22 Haziran 2019 tarihinde www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/isoflavones.htm adresinden erişildi.
- [76]. G. Bultosa. (2016). *Food science*. 09 Eylül 2019 tarihinde www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/isoflavones.htm adresinden erişildi.
- [77]. Vogt, T., Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, **2010**, 3, (1), 2-20.
- [78]. Biala, W., Jasinski, M., The phenylpropanoid case–it is transport that matters. *Plant Sci*, **2018**, 9, 1610.
- [79]. Stefanachi, A., Leonetti, F., Pisani L., Catto, M., Carotti, A., Coumarin: a natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds. *Molecules*, **2018**, 23, (2), 250.
- [80]. Asif, M., Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. *International Scientific Organization*, **2015**, 1, (1), 35-52.
- [81]. Taşan, M., Fitosterollerin insan beslenmesindeki yeri ve sağlığa etkileri. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, Erzurum, 21-23 Mayıs 2008, pp. 195-198.
- [82]. Lomenick, B., Shib, H., Huang, J., Che, CH., Identification and characterization of β -sitosterol target proteins. *Bioorg Med Chem Lett. Author Manuscript*, **2016**, 25, (21), 4976-4976.
- [83]. Faradonbeh, D. A., Natural Drugs in The Treatment and Prevention of Prostate. Diploma thesis, Charles University in Prague Faculty of Pharmacy in hradek, Prag, 2015.
- [84]. Çelik, T. A., *Cytotoxicity*. 1th ed.; Intech Open, UK, 2018, p. 3-5.
- [85]. Şener, L.T., Albeniz, G., Dinç, B., Albeniz, I., icelligence Real-Time cell analysis system for examining the cytotoxicity of drugs to cancer cell lines (review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, **2017**, 14, 1866-1870.
- [86]. Ke, N., Abassi, Y., Focus application compound-induced cytotoxicity. *ACEA Biosciences, Inc., San Diego*, **2013**, 05.
- [87]. G-Biosciences. (2017). *Polyphenols (Folin Ciocalteu) assay*. 15 Haziran 2017 tarihinde www.gbiosciences.com/Cell_Health_Assay/Food_Analysis_Assays/Polyphenol_Folin-Ciocalteu_Assay.htm adresinden erişildi.

- [88]. Avcı, Ç. B., Süslüer Yılmaz, S., Şiğva Doğan, Ö., Söğütlü, F., Dündar, M., Gündüz, C., Rapamisinin prostat kanseri hücre hatlarındaki etkisi. *Ege Tıp dergesi*, **2013**, 52, (1), 7-14.
- [89]. Özay, C., Mammadov, R., Assessment of some biological activities of *Alyssum L.* known as madwort. *Acta Poloniae Pharmaceutica- Drug Research*, **2016**, 73, (5), pp. 1213-1220.
- [90]. Keçebaş, T., Farklı Haşlama Uygulamalar ile Saklamanın Kurutulmuş Brokkolinin Renk ve Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkile. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2007.
- [91]. Zhou, K. Yu. L., Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in colorado. *Lwt- Food Science and Technology*, **2005**, 48, 645-653.
- [92]. Akagün, G., Alabaş (Brassica Oleracea Var. Gongylodes) Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2009.
- [93]. Tajbakhsh, M., Mehri, N., Azimi, R., Phenolic Content, Antioxidant and Antibacterial Activities of Methanolic Extract of *Alyssum spp.* (Brassicaceae). Bojnourd, Kuzey Khorasan Tıp Bilimleri Üniversitesi, Doğal Ürünler ve Tıbbi Bitkiler NCN PMP Ulusal Konferansı, 2012.
- [94]. Valadbeigi, T., Lemraski, E. G., Evaluation of in vitro antimicrobial, antidiabetic and antioxidant potential of *Alyssum homalocarpum* and green synthesis of the silver nanoparticles, *Journal of Medicinal Plants and By-products*, **2018**, 1, 1-8.
- [95]. Matthaus, B., Özcan, M. M., Fatty acids, tocopherol, and sterol contents of some nigella species seed oil. *Czech J. Food Sci*, **2011**, 29, (2), 145-150.
- [96]. Samancıdursun, H., Tgf-B, Hesperidin ve Kuersetinin MCF-7 Hücresinin Upa Aktivitesi Üzerine ve PAI-1 Ekspresyonuna Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2015.
- [97]. Marzouk, M., Flavonoid constituents and cytotoxic activity of erucaria hispanica (L.) druca growing wild in egypt. *Arabian Journal of Chemistry*, **2010**, 9, 411-415.
- [98]. Moradi, R., Ebrahimi, S., Taravati, A., Asrardel, F., Khorasani, H. R., Aghajanpour, M., Rezaizad, M., Cytotoxic effects of the hydroalcoholic extract of rorippa nasturtium aquaticum on hela cell line. *Int. Biol. Biomed. J.*, **2017**, 3, (2), 73-79.
- [99]. Özkaya, D., Tricholoma Anatolicum H. H. Doğan & İntini'un Hepg2 Hücreleri Üzerinde H₂O₂ Kaynaklı Hasara Karşı Hepatoprotektif Etkilerin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2015.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : MARIAM ALZAIM

Doğum Tarihi : 25/04/1988

E-mail : maryialzaim@gmail.com

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Kimya Bölümü	Halep Üniversitesi	2006-2011
Yüksek Lisans	Kimya Bölümü	Mersin Üniversitesi	2017-2019

Görevler : Gönüllü eğitici

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
	Mahmut Arslan Anadolu lisesi	2017-2019