

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANADOLU PROPOLİSLERİNDEN ELDE EDİLEN
UÇUCU YAĞLARIN KİMYASAL KOMPOZİSYONU VE *İN VİTRO*
ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

SELAM GÜLGEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**OCAK
2016**

Tezin Başığı: **Anadolu Propolislerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal
Kompozisyonu ve *İn Vitro* Antikanser Özelliklerinin
Araştırılması**

Tezi Hazırlayan: Selam GÜLGEN

Sınav Tarihi: 15.01.2016

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Prof. Dr. İsmet YILMAZ

Prof. Dr. Fikret KARATAŞ

Prof. Dr. Burhan ATEŞ (Danışman)

Prof. Dr. Alaattin ESEN

Enstitü Müdürü

Silem é

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “**Anadolu Propolislerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonu ve *İn Vitro* Antikanser Özelliklerinin Araştırılması**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Selam GÜLGEN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU PROPOLİSLERİNDEN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN KİMYASAL KOMPOZİSYONU VE *İN VİTRO* ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Selam GÜLGEN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

viii+ 69 sayfa

Danışman: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

Propolis, arıların kovanlarını korumak için ürettiği bir karışım olup biyolojik özellikleri nedeniyle çok yönlü kullanım alanlarına sahiptir. Propolisin kimyasal içeriği üretildiği bölgenin coğrafik özelliğine göre tamamen değişmektedir. Son yıllarda bitkisel kaynaklı uçucu yağlara ve onların biyolojik etkilerinin araştırılmasına büyük bir ilgi vardır. Bu bağlamda çalışma Anadolu'nun farklı illerinden (Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye) temin edilen propolis örneklerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal içeriği ve *in vitro* antikanser özelliklerinin belirlenmesini içermektedir.

Propolis uçucu yağ bileşenleri GC-MS ile belirlenmiş olup en fazla belirlenen uçucu yağ bileşenleri sırasıyla, Ankara'da kurkumen (%24,90), Bingöl'de α -bisabolol (%9,44), Kastamonu'da δ -selinen (%7,54), Kırklareli'nde α -bisabolol (%25,45), Konya'da γ -selinen (%19,88), Malatya'da naftalin-1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil) (%1,54), Muğla'da β -pinen (%16,11) ve Osmaniye'de cembrene (%0,59) olarak tespit edilmiştir.

MCF-7 meme kanser hücresinde antikanser özellikleri incelenen propolis uçucu yağlarının IC_{50} değerleri 108,61-751,40 ve IC_{30} değerleri 44,89-411,84 $\mu\text{g/mL}$ aralığında tespit edilmiştir. En düşük IC_{30} ve IC_{50} değeri Konya iline ait propolis uçucu yağlarında sırasıyla 44,89 ve 108,61 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre en yüksek antikanser aktiviteyi Konya iline ait propolis uçucu yağlarının sergilediği belirlenmiştir. Bu aktivitede sadece Konya ili propolis uçucu yağlarında yüksek oranda tespit edilen γ -selinen (%19,88) bileşiğinin önemli katkı sağladığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak propolis içeriğinin toplanma bölgesine göre farklılık göstermesi uçucu yağ çeşitlerinin ve oranlarının da farklanmasına yol açmıştır. Ayrıca bu çalışma ile Anadolu propolislerine ait uçucu yağların antikanserojen aktivitesi ve içerik ilişkisi ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Propolis, uçucu yağ, MCF-7, antikanser

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* ANTICANCER PROPERTIES OF ESSENTIAL OIL OBTAINED FROM ANATOLIA PROPOLIS

Selam GÜLGEN

Inonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

viii+ 69 pages

Supervisor: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

Propolis, a mixture produced by bees to protect their hives, has multiple uses due to its biological characteristics. Chemical composition of propolis completely varies according to the geographical features of the area is produced. In recent years, there are great interest for plant-derived essential oil and investigation of their biological activity. In this context, this study consist of the determination of chemical content and *in vitro* anticancer properties of essential oils derived from propolis samples supplied from different city of Anatolia (Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla and Osmaniye).

Maximally measured essential oil components of propolis were determined by using GC-MS as curcumene (24.90%) in Ankara, α -bisabolol (9.44%) in Bingol, δ -selinene (% 7.54) in Kastamonu, α -bisabolol (25.45%) in Kırklareli, γ -selinene (19.88%) in Konya, naphthalene-1,2,3,4-tetrahydro-1,6 dimethyl-4- (1-methylethyl) (1.54%) in Malatya, β -pinene (16.11%) in Muğla and cembrene (0.59%) in Osmaniye, respectively.

IC₅₀ values range from 108.61 to 751.40 μ g/ml and IC₃₀ values range from 44.89 to 411.84 μ g/mL of propolis essential oils were determined form MCF-7 breast cancer cells for anticancer properties. The lowest IC₃₀ and IC₅₀ values were calculated for essential oils of Konya propolis as 44.89 and 108.61 μ g/mL, respectively. According to these results, the highest anticancer activity was determined from essential oil of Konya propolis. In this activity, it is considered that γ -selinene (19.88%) only detected from essential oil of Konya propolis has an important contribution.

As a result of, difference of the propolis content according to collecting area has led to differentiation of the types and proportions of essential oil. In addition, the anticancer activity of essential oils of the Anatolian propolis and content relationship has been revealed by this study.

Key Words: Propolis, essential oil, MCF-7, anticancer

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, her türlü araştırmam için deneyimleri ile beni aydınlatan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Burhan ATEŞ'e

Tezimin deneysel aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Selim ERDOĞAN'a ve Arş. Grv. Mehmet Sina İÇEN'e

Eğitimim boyunca manevi desteğini esirgemeyen sevgili hocam Doç. Dr. Süleyman KÖYTEPE'ye,

Çalışmalarım boyunca yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen her daim yanımda olan canım arkadaşım Dr. Merve Gökşin KARAASLAN'a ve Emine Sürâ KAZMAZ MENDEŞ'e,

Deneysel katkılarından dolayı Arş. Grv. Ünzile KELEŞTEMUR'a ve Sevgi BALCIOĞLU'na, çalışmalarım süresince yanımda olan fizikokimya laboratuvarı çalışma ARKADAŞLARIM'a,

Her zaman ve her koşulda yanımda olup desteğini hep üzerimde hissettiğim, varlığı ile bu sürecin kolaylaşmasını sağlayan Burhan BOZKURT'a,

Hayatım boyunca yanımda olup maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili AİLEM'e

Teşekkür ederim.

Bu çalışmayı gerçekleştirmemde 2013/152 nolu ve “Anadolu Propolislerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonu ve İn Vitro Antikanser Özelliklerinin Araştırılması” başlıklı proje ile finansal destek sunan, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-------------|
| ONUR SÖZÜ | i |
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| ŞEKİL DİZİNİ | vi |
| TABLO DİZİNİ | vii |
| SİMGE DİZİNİ | viii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Propolis | 3 |
| 2.2. Kimyasal Bileşimi | 4 |
| 2.3. Uçucu Yağlar | 5 |
| 2.3.1. Uçucu yağların biyolojik aktiviteleri | 6 |
| 2.3.1.1. Antioksidan aktivite | 6 |
| 2.3.1.2. Antibakteriyel aktivite..... | 7 |
| 2.3.1.3. Antiviral aktivite | 9 |
| 2.3.1.4. Antiinflamatuvar aktivite | 9 |
| 2.3.1.5. Antifungal aktivite | 10 |
| 2.3.1.6. Antimutajen aktivite..... | 11 |
| 2.3.1.7. Antikarsinojenik aktivite | 12 |
| 2.3.1.8. Sitotoksosite | 13 |
| 2.3.1.9. Propolis uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri | 16 |
| 2.3.2. Uçucu yağ elde etme yöntemleri..... | 19 |
| 2.3.2.1. Distilasyon yöntemi | 19 |
| 2.3.2.2. Ekstraksiyon yöntemi | 21 |
| 2.3.2.3. Mekanik yöntem..... | 22 |
| 2.3.3. Uçucu yağların kimyasal yapıları | 22 |
| 2.3.3.1. Terpenler | 22 |
| 2.3.3.2. Aromatik Bileşikler | 26 |

| | |
|---|-----------|
| 3. MATERYAL VE METOD | 28 |
| 3.1. Kullanılan Materyaller | 28 |
| 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler | 28 |
| 3.3. Kullanılan Araç-Gereçler | 28 |
| 3.4. Uçucu Yağların Eldesi | 29 |
| 3.5. Kimyasal Bileşenlerinin Aydınlatılması | 30 |
| 3.6. <i>İn Vitro</i> Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi | 30 |
| 3.6.1. Hücre kültürü besi yerinin hazırlanışı | 30 |
| 3.6.2. Stok hücrelerin ekimi | 31 |
| 3.6.3. Hücrelerin ekimi | 31 |
| 3.6.4. MTT testi | 31 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI | 33 |
| 4.1. GC/MS Sonuçları | 33 |
| 4.2. MCF-7 Hücreleri Üzerinde Propolis Uçucu Yağlarının <i>İn Vitro</i> Antikanser Özellikleri | 41 |
| 4.2.1. Ankara ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 41 |
| 4.2.2. Bingöl ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 42 |
| 4.2.3. Kastamonu ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 43 |
| 4.2.4. Kırklareli ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 44 |
| 4.2.5. Konya ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 45 |
| 4.2.6. Malatya ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 46 |
| 4.2.7. Muğla yöresi propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 47 |
| 4.2.8. Osmaniye ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği | 48 |
| 4.2.9. Anadolu'nun farklı illerine ait propolislerden elde edilen uçucu yağlarının MCF-7 hücre hattındaki antikanser özelliklerinin karşılaştırılması | 49 |
| 5. TARTIŞMA | 51 |
| 6. KAYNAKLAR | 56 |
| ÖZGEÇMİŞ | 64 |

ŞEKİL DİZİNİ

| | | |
|------------|--|----|
| Şekil 2.1. | A) Propolisin arılarda depo şekli, B) Propolisin arılar tarafından işlendikten sonra kovandan toplanmış hali | 3 |
| Şekil 2.2. | İzoprenin moleküler modeli | 22 |
| Şekil 2.3. | Seskiterpenler | 24 |
| Şekil 2.4. | Diterpenler | 25 |
| Şekil 2.5. | Triterpenler | 25 |
| Şekil 2.6. | Uçucu yağlarda bulunan önemli aromatik bileşikler | 26 |
| Şekil 3.1. | Propolis uçucu yağlarının eldesinde kullanılan Clevenger cihazı ile hidrodistilasyon | 29 |
| Şekil 4.1. | Ankara ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 41 |
| Şekil 4.2. | Bingöl ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 42 |
| Şekil 4.3. | Kastamonu ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 43 |
| Şekil 4.4. | Kırklareli ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 44 |
| Şekil 4.5. | Konya ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 45 |
| Şekil 4.6. | Malatya ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 46 |
| Şekil 4.7. | Muğla ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 47 |
| Şekil 4.8. | Osmaniye ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri | 48 |
| Şekil 4.9. | Anadolu'nun değişik yörelerine ait propolislerden elde edilen uçucu yağlarının MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılmalı grafiği. A) 50 µg/mL propolis uçucu yağı, B) 100 µg/mL propolis uçucu yağı, C) 200 µg/mL propolis uçucu yağı, D) 400 µg/mL propolis uçucu yağı | 49 |

TABLO DİZİNİ

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tablo 2.1. | Propoliste tanımlanan kimyasal bileşen içeriği ve sayısı | 4 |
| Tablo 2.2. | Çeşitli bitki örneklerinin uçucu yağ bileşenlerinin MCF-7 hücre hattındaki sitotoksik özellikleri | 14 |
| Tablo 2.3. | Çeşitli bitki örneklerinin uçucu yağ bileşenlerinin Hela hücre hattındaki sitotoksik özellikleri | 15 |
| Tablo 2.4. | Farklı coğrafik bölgelerden elde edilen propolis uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri | 18 |
| Tablo 2.5. | Monoterpen türevleri ve çeşitleri | 23 |
| Tablo 4.1. | GC/MS sonuçlarına göre Anadolu'nun farklı illerine ait propolis uçucu yağların % bileşenleri | 35 |
| Tablo 4.2. | Propolis uçucu yağ bileşenlerine ait <i>in vitro</i> antikanserojen aktivite sonuçları | 50 |

SİMGE DİZİNİ

| | |
|------------------|--|
| DMSO | Dimetilsülfoksit |
| FBS | Fetal Sığır Serumu |
| GC-MS | Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi |
| IC ₅₀ | %50 İnhibisyon Konsantrasyonu |
| IC ₃₀ | %30 İnhibisyon Konsantrasyonu |
| MCF-7 | Meme Kanseri Hücre Hattı (Michigan Kanseri Vakfı-7) |
| MTT | (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromit) |
| PBS | Fosfat Tampon Çözeltisi |
| RPMI 1640 | Roswell Park Memorial Institute besi yeri |

1. GİRİŞ

Propolis arılar tarafından çeşitli bitkilerin tomurcuk, yaprak ve benzeri kısımlarından toplanan bileşenlerin metabolizması sonucu oluşan bir karışımdır. Kovan iç yüzeyinin kaplanması, yarık ve çatlakların kapatılması, peteklerin kenarlarının sertleştirilip onarılması, kovan giriş deliğinin kolaylıkla savunacakları duruma getirilmesi ve ayrıca kovanda ölen canlıları mumyalama amacı ile propolis arılar tarafından kullanılır. 10°C'nin altında sert ve kırılğan, 15-25°C arasında mumsu bir yapıda elastiki yapı göstermektedir. 30°C ile 40°C arasında yapışkan yumuşak bir madde halini almaktadır (Ghisalberti, 1979; Marccuci, 1995).

Propolis farmakolojik özelliklerinden dolayı eski çağlardan beri insan sağlığı için kullanılmaktadır. Propolisin antimikrobiyel, antiülseratif, antiviral, antiinflamatuvar, antitümör, antikanserojen özellikleri birçok çalışma ile ortaya konmuştur (Burdock, 1998). Son yıllarda yapılan çalışmalarda propolisin ekstraktlarının in vitro çalışmalarda üst solunum yolu enfeksiyonlarına karşı bakterileri öldürücü etkisi incelenmiş, ayrıca dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek antiinflamatuvar özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Dobrowolski vd., 1991). Ayrıca apiterapi, biyokozmetik ve gıda alanında yaygın bir hammadde olarak kullanılmaktadır (Kumova, 2002). Bu bağlamda günümüzde propolisli kremler, diş macunları, öksürük şurupları, tabletleri ve gıda katkı maddeleri olarak ilaç ve gıda endüstrisinde de yaygın bir kullanımı vardır. Bu kullanım alanları ile dikkat çeken propolis yeni ürün geliştirme kapsamında birçok araştırmaya konu olmaktadır.

Propolisin kimyasal bileşimi ve biyolojik özelliklerinin coğrafi farklanma göstermesi yapılan çalışmalarda vurgulanmakta ve bu nedenle propolisler elde edildiği ülkenin veya coğrafyanın ismine göre adlandırılmaktadır (Engür 2007; Castaldo ve Capasso 2002). Bu nedenle Anadolu bölgesine ait propolislerin hem kimyasal içerik hem de biyolojik özellikler açısından araştırılması gerekliliği mevcuttur. Bu bağlamda Anadolu'nun arıcılık yetiştiriciliği ile ünlü bölgelerinde elde edilen propolis örneklerinin çeşitli özellikleri bizim ve farklı araştırmacıların ilgisini çekmiştir.

Güçlü kokuları ile karakterize edilebilen uçucu yağlar ikincil metabolitler olarak bitkiler tarafından oluşturulan uçucu, doğal, kompleks bileşiklerdir. Bitkinin bütün dokularında bulunabildiği gibi bazen de sadece özel organ ve dokularında meydana gelmektedir.

Bitki türlerine göre çeşitli tür ve miktarlarda bulunan uçucu yağlar bitkilerin korunmasında ve atık metabolizmasında önemli rol oynamaktadır (Bakkali vd., 2008).

Bu bağlamda çalışma ile Anadolu'nun farklı illerinden temin edilen propolis örneklerinden uçucu yağ ekstraktlarının eldesi, uçucu bileşenlerinin belirlenmesi ve hücre kültür sisteminde *in vitro* antikanser özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye illerinden temin edilen propolis örneklerinden ekstrakte edilen uçucu yağların içeriği GC-MS ile belirlenmiştir. Propolis uçucu yağ ekstraktlarının hücre kültür laboratuvarımız da MCF-7 meme kanser hücreleri üzerinde *in vitro* antikanser özellikleri incelenmiştir.

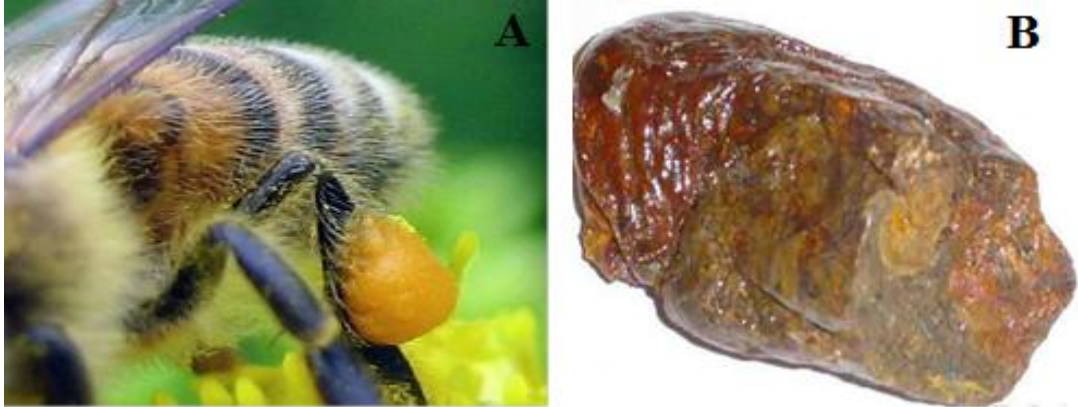
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Propolis

Yunanlılar tarafından bulunan propolis çok eski çağlardan beri doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Propolis kelimesi “pro” savunma ve “polis” şehir kelimelerinin birleşmesinden oluşmuştur ve şehir veya kovanın savunması anlamında kullanılmaktadır (Burdock, 1998).

Arılar propolisi, çeşitli ağaçların kozalak ve kabuklarından, bitkilerin tomurcuk ve filizlerinden topladıkları polenleri, yağları ve reçineleri baş ve toraksı arasında bulunan bezlerden salgıladıkları enzimler ile muamele etmesi sonucu oluşturmaktadır (Ghisalberti, 1979; Marccuci, 1995).

Arılar propolisi, kovanı dış etkilere korumak, kovan içerisinde oluşan delikleri kapatmak, çeşitli hastalıklardan koloniyi korumak ve oluşabilecek hastalık etmenlerini etkisiz hale getirerek gelişmesini önlemek amacı ile kullanır (Pietta vd., 2002). Ayrıca yarık ve çatlaklardan suyun buharlaşmasını engellemek amacı ile yavru yetiştirme döneminde de kullanılmaktadır. Propolisin arılar için en önemli özelliği kimyasal bir silah olarak kovan içerisinde mikroorganizmalara karşı kullanılmasıdır (Kujumgiev vd., 1999).



Şekil 2.1. A) Propolisin arılarda depo şekli, B) Propolisin arılar tarafından işlendikten sonra kovandan toplanmış hali

Propolis biyolojik aktivitelerinden dolayı eski çağlardan beri insan sağlığı için kullanılmıştır. Farmokolojik özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyel özelliği, antiülseratif, antiviral, antiinflamatuvar, antitümör, antikanserojen biyolojik aktiviteye (Burdock, 1998) sahip olduğundan dolayı tıpta kardiyovasküler ve dolaşım sistemi

hastalıklarında, dermatolojide, kanser tedavisinde ve koruyucu etkisi dikkate alınarak karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanımı bilinmektedir (Silici ve Kutluca, 2005). Ayrıca apiterapi, biyokozmetik ve gıda alanında yaygın bir hammadde olarak kullanılmaktadır (Kumova, 2002).

2.2. Kimyasal Bileşimi

Propolis, arı türüne, coğrafik bölgenin özelliklerine, iklim şartlarına, bitki çeşitliliğine ve toplanma tipine göre değişkenlik gösteren kimyasal bir bileşime sahiptir. Kimyasal içeriği farklı kompozisyonlara sahip olan propolis, genel olarak %50-55 reçine, %30 bal mumu, %10 uçucu yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik bileşikler ve minerallerden oluşmaktadır (Engür 2007; Castaldo ve Capasso 2002).

Propolisin kimyasal bileşimindeki farklılıklarını anlamak için bitki kökeninin incelenmesi gerekmektedir. Propolis üretimi için arılar, bitkilerin farklı bölgelerinde botanik süreç çeşitliliğinden kaynaklı materyalleri kullanmaktadır. Bunlar aktif olarak bitkilerde yara bölgelerinden dışarı atılan maddeler olabildiği gibi yaprak ve yaprak tomurcuklarındaki zambak, reçine, lateks gibi lipofilik maddeler de olabilmektedir (Bankova vd., 2014).

Tablo 2.1. Propoliste tanımlanan kimyasal bileşen içeriği ve sayısı

| Kimyasal bileşen | Kimyasal bileşen sayısı (adet) |
|---|---------------------------------------|
| Flavonoidler | 38 |
| Hidroksiflavonlar | 27 |
| Hidroksiflavononlar | 11 |
| Kalkonlar | 2 |
| Benzoik Asit ve Türevleri | 12 |
| Asitler | 8 |
| Esterler | 4 |
| Benzaldehit Türevleri | 2 |
| Sinamil ve Sinamik Asit ile türevleri | 14 |
| Alkoller, Ketonlar, Fenoller | 8 |
| Heteroaromatik Bilesikler | 12 |
| Terpen ve Seskiterpen ve Türevler | 7 |
| Alifatik Hidrokarbonlar | 6 |
| Seskiterpen ve Triterpen Hidrokarbonlar | 11 |
| Steroller ve Steroid Hidrokarbonlar | 6 |
| Mineraller | 22 |
| Şeker | 7 |
| Aminoasitler | 24 |

Kimyasal kompozisyonu toplama bölgesinin yerel bitki örtüsüne ve o bölgenin coğrafik ve iklim özelliklerine göre değişen propolisin ılıman bölgelerde ana kaynağı kavak ağacının tomurcuklarıdır (Bankova vd., 2000). Bu nedenle bu bölgelerden toplanan propolisler kavak ağacında bulunan flavonoidleri ve bunların esterleri olan fenolik bileşikler içerir. Kavak ağaçları sadece ılıman bölgelerde yaygın olduğundan arılar diğer habitatlarda propolisin eldesinde farklı bitki kaynaklarını kullanmak zorundadır. Bu bağlamda farklı bitki kaynaklarının kullanılması ile elde edilen propolisin kimyasal kompozisyonu değişeceğinden dolayı biyolojik aktiviteleri de farklılıklar gösterecektir (Bankova, 2005).

Genel olarak ham propolisin içeriği incelendiğinde doğal maddelerin son derece komplike bir karışımı olduğu görülmektedir. İçeriğinde yaklaşık olarak 150'den fazla kimyasal bileşik, mineral madde, bal mumu, reçine, balzam ve polen bulunmaktadır. Propolisin reçine ve balzam içeren kısmını terpenler, polisakkaritler ve kafeik asit gibi bileşenler oluştururken balmumu kısmını yağ asitleri ve vitaminler oluşturmaktadır. Organik kısmın büyük bir bölümünde ise biyolojik aktivitelerde önemli bir etmen olan serbest radikallere karşı antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler bulunmaktadır. Ayrıca propolis içeriğinde %5-10 oranında düşük yoğunlukta önemli biyolojik aktiviteye sahip olan uçucu yağların varlığıda bilinmektedir (Thomson, 1990) (Tablo 1).

Propolisin uçucu özellikteki bu bileşenleri arasında yüksek oranda mono ve seskiterpenoidlerin olduğu tanımlanmıştır (Kumova vd., 2002). Bunun yanı sıra ılıman bölge propolislerinin kimyasal kompozisyonunda sıcak bölgelerde varlığı tespit edilemeyen ledol, spatulenol ve germakren gibi seskiterpenoidlerin olduğu da bilinmektedir. Propolis içeriğindeki kimyasal kompozisyon farklılığı propolise farklı biyolojik aktivite özelliği katmaktadır. Bu bağlamda propolis uçucu bileşikleri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda farklı bölgelere ait propolislerin farklı mikroorganizmalar ve bakterilere karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Bankova, 2014).

2.3. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar ikincil metabolitler olarak aromatik bitkiler tarafından üretilen, güçlü kokuları ile karakterize edilebilen, kompleks yapıdaki doğal bileşiklerdir. Bitkilerin tomurcuk, çiçek, yaprak, dal, meyve, kök, kabuk gibi tüm organlarında sentezlenebilmekte ve salgı hücreleri, kavite ve kanallarda depolanmaktadır.

Bitki türlerine göre çeşitli tür ve miktarlarda bulunan uçucu yağlar bitkilerin korunmasında önemli rol oynamaktadır (Bakkali vd., 2008).

2.3.1. Uçucu yağların biyolojik aktiviteleri

Uçucu yağlar yaydıkları koku sayesinde bitkileri koruyucu etki gösteren ve artık ürünlerin atılmasında yani detoksifikasyon olayında rol oynayan önemli bileşiklerdir. Bitkilerden elde edilen bu bileşiklerin antibakteriyel, antioksidan, antikarsinojenik, antimitojenik, antiviral, antiinflamatuar ve antifungal olarak biyolojik aktiviteye katkı sağladığı bilinmektedir (Shaaban vd., 2012).

2.3.1.1. Antioksidan aktivite

Canlı organizmada normal metabolizma sırasında ya da patolojik yollarla ortaya çıkan serbest radikal ürünleri canlı organizmaların yapısında bulunan hemen hemen bütün sınıflara dâhil bileşiklerle reaksiyona girerek tersinir veya tersinmez hasarlar meydana getirmektedir (Cross vd., 1987). Canlı organizma çeşitli nedenlerden ötürü oluşan bu serbest radikal ürünlerini ve reaksiyonlarını inhibe eden güçlü bir savunma sistemine sahiptir (Mccord ve Fridowich, 1969). Bazı durumlarda serbest radikal ürünlerinin artması ve savunma sistemi ile arasındaki dengenin bozulması dışarıdan alınabilecek antioksidan özellikteki maddelere ihtiyacı doğurmaktadır. Böylece serbest radikal ve antioksidan savunma sistemi arasındaki denge yeniden kurulabilmektedir. Bu bağlamda uçucu yağlar antioksidan özellikteki fenolik bileşiklerin varlığı ile dikkatleri üzerine çekmektedir. (Zarkovic, 2003).

Son zamanlarda birçok araştırmacı doğal antioksidanlar bulmak amacıyla farklı uçucu yağların antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Yapılan ilk çalışmalar uçucu yağ bileşenlerinin yapısında yer alan fenolik grupların serbest radikallerin oluşumunu azalttığı dolayısıyla güçlü antioksidan aktivite gösterdiği yönündedir. Bu bağlamda Farag ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karaman kimyon, kekik, adaçayı, karanfil, kimyon ve biberiye uçucu yağların da linoleik asit oksidasyonunu inceleyerek bu bitki türlerinin antioksidan özelliklerini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda bitkilerin uçucu yağ içeriklerine göre antioksidan özelliklerinin de farklılıklar gösterdiği saptanmıştır (Farag vd., 1989). Sokmen ve arkadaşları ise *Thymus spathulifolius* endemik bitkisinin uçucu yağ bileşenlerinin antioksidan özelliklerini incelemiştir.

Thymus spathulifolius uçucu yağının yüksek oranda timol (36.5%) ve karvakrol (29.8%) bileşiklerini içermesine bağlı olarak yüksek antioksidan aktivite sergilediği sonucuna varılmıştır (Sokmen vd., 2004). Yapılan bir başka çalışmada 25 adet uçucu yağ arasından kekik uçucu yağının en iyi antioksidan aktiviteyi sergilediği ve onu sırasıyla karanfil yaprağı, tarçın yaprağı, okaliptüs ve fesleğen uçucu yağlarının takip ettiği bildirilmiştir (Wei ve Shibamoto, 2010). Ayrıca terpen ve terpenoid gibi uçucu yağ bileşiklerinin de antioksidan aktiviteye katkıda bulunduğu belirlenmiştir (Wei ve Shibamoto, 2010). Çay ağacında (*Melaleuca alternifolia*) α -terpinen, β -terpinen ve β -terpinolen; siyah kimyon, tarçın kabuğu ve zencefil de timol, öjenol ve linalol (El-massry ve El-Ghorab, 2006); kekik ve karanfil yaprağında timol ve öjenol (Wei ve Shibamoto, 2010) bileşiklerinin olduğu tespit edilmiştir. Buna ilaveten *Thymus caespititius*, *Thymus kafurates* ve *Thymus mastichina* yüksek miktarda linalol ve 1,8-sineol içeren uçucu yağlarının α -tokoferol ile karşılaştırılabilir düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Mimica-Dukic vd., 2004).

Uçucu yağların *in vitro* araştırmalarının yanı sıra *in vivo* antioksidan aktiviteleri ile ilgili çalışmalarda mevcuttur. Yapılan bir çalışmada kekik otu yağının tavşanlara diyet ile takviyesi sonucunda lipit oksidasyonunu geciktirdiği ve dokuların antioksidan kapasitesini arttırdığı tespit edilmiştir (Botsoglou vd., 2004). Papageorgiou ve arkadaşları ise kekik otu yağının hindi beslenmesinde α -tokoferil asetat ile beraber kullanıldığında lipit oksidasyonu etkisini azalttığını gözlemlemiştir (Papageorgiou vd., 2003).

Tüm bu bilgiler ışığında uçucu yağların doğal antioksidanlarca zengin olduğu ve serbest radikallerin etkisi sonucu oluşan çeşitli dejeneratif hastalıkları önlemede sentetik antioksidanlara alternatif oluşturabileceği sonucuna varılmaktadır.

2.3.1.2. Antibakteriyel aktivite

Mikroorganizmaların aktivitelerini azaltmak, büyümesini kontrol etmek veya önlemek, mikroorganizmanın neden olduğu birçok hastalığın önüne geçilmesi açısından antibakteriyel ajanlar oldukça önemlidir. Bu nedenle özellikle gıda ürünlerinde mikroorganizmaların gelişimini önlemek amacıyla sentetik antibakteriyel kullanımı tercih edilmektedir. Ancak kimyasal yollarla elde edilen bu maddelerin toksik etki yaratması tüketicileri sentetik ürünlerin yerini alabilecek doğal antibakteriyel özelliğe sahip ürünlere yönlendirmektedir.

Bu bağlamda doğal bitkilerde bulunan antibakteriyel bileşikler yıllardan beri gıdalarda patojenleri kontrol etmek amacıyla koruyucu katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. (Shaaban vd., 2012).

Özellikle son yıllarda çoğu uçucu yağ, sentetik koruyucular için alternatif olabileme potansiyelleri nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuştur. (Bajpai vd., 2008). Yapılan çalışmalarda uçucu yağların, gıda bozulma ve zehirlenmelerine neden olan *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, ve *S. Typhimurium* bakterilerine karşı antibakteriyel özellik gösterdiği kanıtlanmıştır (Hulin vd., 1998). Uçucu yağların bileşenleri arasından izomerik fenol sınıfına dahil olan karvakrol ve timol'ün *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis* ve *S. Typhimurium* üzerine antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Burt, 2004).

Al-Hwiriny, *Salvia lanigera* (tüylü adaçayı) bitkisi üzerine yaptığı çalışmada ise uçucu yağın ekstrakte ettiği bitki içeriğinde ana uçucu yağ bileşenleri olarak 1,8 sineol (%36,2), α -pinen (%10,7), terpin-4-ol(%7,5), β -pinen (%6,5), limonen (%5,6) ve bornil asetat (%4,5) bileşenlerinin varlığını tespit etmiş ve antibakteriyel özelliklerini incelemiştir. Uçucu yağ ekstraktının *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans* ve *Candida vaginalis* mikroorganizmalarına karşı oldukça iyi inhibitörük etki gösterdiğini, ancak *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmalarının uçucu yağ ekstraktına karşı dirençli olduğunu rapor etmiştir.

Nostro ve arkadaşları (2004) inceledikleri çalışmada *Origanum* yağının etkisinin yanı sıra ana bileşenlerinden karvakrol ve timol'ün etkisini araştırarak antibiyotiğe dayanıklı birçok bakteriyel etmene karşı antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Gutierrez ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada fesleğen, melisa, mercanköşk, keklik otu, biberiye, adaçayı ve dağ kekiğinden elde etikleri uçucu yağ karışımlarının *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel etki sergilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca bazı bitkilerdeki uçucu yağların antimikrobiyel aktivite sıralaması keklik otu> karanfil> kişniş> tarçın> kekik> nane> biberiye> hardal> adaçayı şeklinde azaldığı belirtilmiştir (Burt, 2004).

2.3.1.3. Antiviral aktivite

Virüslerin hücre içerisinde gelişimini engelleyerek virüslerin neden olduğu viral enfeksiyonların önüne geçebilme hastalıkların daha hafif bulgularla atlatılması açısından oldukça önemlidir. Günümüzde insanlarda yaygın viral enfeksiyonlara neden olduğu bilinen Herpes simpleks virüsünün (HSV 1,2) tedavisi için sentetik antiviral ilaçların yanı sıra bitki ekstraktlarının antiviral etkisi araştırılmaktadır. Bu bağlamda HSV 1,2 neden olduğu viral hastalıkların bazı uçucu yağ bileşenleri ile tedavi edilebileceği yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir (Shaaban vd., 2012).

Armaka ve arkadaşları yaptıkları çalışmada monoterpen alkollerden yaygın olarak bilinen izoborneol HSV-1'e karşı antiviral aktivite gösterdiğini ve özellikle viral polipeptitlerin glikolizasyonunu inhibe ettiğini bildirmiştir (Armaka vd., 1999). Allahverdiyev ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada *M. officinalis L.* bitkisine ait uçucu yağ ekstraktının içeriğindeki sitral ve sitronellal bileşenlerinin HSV-2 virüsünün çoğalmasını inhibe ettiğini saptamıştır (Allahverdiyev vd., 2004). Garcia ve arkadaşları ise sekiz farklı aromatik bitkiden elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının antiviral özelliklerini inceledikleri çalışmada, *Lippia junelliana* ve *Lippia turbinata* türlerine ait uçucu yağ bileşenlerinin Junin virüsünü tamamen inhibe ettiği sonucuna varmışlardır. (Garcia vd., 2003).

Uçucu yağların güçlü antiviral aktive gösterdiği çalışmalar kayda değer ölçüde mevcuttur. Ancak HIV ve Hepatit C olarak bilinen çağımızın en büyük virüslerine karşı uçucu yağların aktiviteleri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. (Edris, 2007).

2.3.1.4. Antiinflamatuvar aktivite

Canlı dokunun herhangi bir yabancı etmene karşı verdiği özgül bir yanıt olan inflamasyon, yüksek tansiyon, kanser ve felç gibi çağımızın önemli hastalıkları ile yakından ilişkilidir. (Schmid-Scheonbein, 2006). Bu açıdan güçlü antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu bilinen uçucu yağların antiinflamatuvar ajan olarak kullanımı oldukça önemlidir. Bitki türleri arasında güçlü antiinflamatuvar aktivitesi nedeniyle Aloe vera dikkat çekmektedir. Aloe vera antiinflamatuvar aktiviteleri ile ilgili birçok çalışmaya konu olmasına rağmen uçucu yağları ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır (Reynolds ve Dweck, 1999; Shelton, 1991).

Wei ve Shibamoto farklı bitki türlerine ait uçucu yağların antioksidan ve lipoksigenaz inhibitör aktivitesini inceledikleri çalışmada, 0,5 µg/mL konsantrasyonda Aloe vera bitkisinin en yüksek (%96) lipoksigenaz inhibitör aktivitesi sergilediği bildirilmiştir. Ayrıca aynı konsantrasyonda Aloe vera yağını sırasıyla kekik yağı (%86) ve bergamot yağı (%85) nın izlediği saptanmıştır (Wei ve Shibamoto, 2010). Tanaka ve Shibamoto, meyan kökü uçucu yağının antioksidan ve antiinflamatuvar etkisini araştırdıkları çalışma sonucunda meyan kökü uçucu yağının da yüksek lipoksigenaz inhibitör aktivitesi sergilediği ve güçlü antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir (Tanaka ve Shibamoto, 2008).

2.3.1.5. Antifungal aktivite

Birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinen uçucu yağların gıda kaynaklı patojen mantarlar üzerine öldürücü etkiye sahip olması antifungal özellik sergilemesine neden olmaktadır. Bitki ekstraktlarının antifungal etkisi uçucu yağların biyolojik aktivitesinde rol oynayan bileşiklerin miktar ve dağılımı açısından farklılık göstermektedir (Bayaz, 2014). Adam ve arkadaşları *Origanum vulgare* ve *Lavandula angustifolia* bitki uçucu yağların antifungal etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, uçucu yağ ekstraktının ana bileşenleri olan karvakrol, linalol, 1,8-cineol, kafur ve α -terpinen bileşenlerinden karvakrol uçucu yağ bileşeninin yüksek antifungal etki gösterirken, diğer bileşenlerin tek başlarına kullanıldığında oldukça düşük oranda antifungal etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (Adam vd., 1998).

Bazı bitkilerin uçucu yağları üzerine yapılan bir çok çalışma sonucunda adaçayı (*Salvia officinalis*) tuyon, kafur ve karyofilen (Pinto vd., 2007), defne ağacında (*Laurus nobilis*) öjenol, mirsen ve limonen (Guynot vd., 2003), tarçında (*Cinnamomum zeylanicum*) öjenol ve trans-sinmaldehit (Wang vd., 2009), kekikte (*Thymus vulgaris*) timol, öjenol, p-simen ve 1,8-sineol (Rasooli vd., 2006), limon otu yağında limonen, sitral, sitronellal (Tzortzakis ve Economakis, 2007), ısırgan otunda bütoksi propanol, 4-vinil fenol, karvon, dihidroaktinidiolid, metil miristat, loliolid, heksahidrofarnesil aseton, neofitadien, benzil salisilat, metil palmitat, etil palmitat, fitol ve gama-sitosterol (Sahin vd., 2004) fesleğende karyofilen ve neril asetat (Nguefack vd., 2009) gibi uçucu yağ bileşenlerin antifungal aktivitede etkili olduğu bildirilmiştir.

Razzaghi-Abyaneh ve arkadaşları çalışmalarında karvakrol ve timol uçucu yağ bileşenlerinin *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* gibi gıda ile taşınan mantarlara karşı etkili olduğunu saptamıştır.

Aspergillus parasiticus büyümesi ve aflatoksin üretilmesinin de incelendiği çalışmada, *Thymus vulgaris* (kekik) ve *Citrus aurantifolia* (tatlı limon)'dan elde edilen uçucu yağların mantar büyümesi ve aflatoksin üretilmesini inhibe ettiğini *Mentha spicata* L. (nane), *Foeniculum miller* (rezene) ve *Artemisia dracunculus* (Tarhun) uçucu yağlarının sadece mantar büyümesini inhibe ettiğini, *Carum carvi* (kimyon) uçucu yağının ise mantar büyümesi üzerinde etkisi olmaksızın aflatoksin üretimini kontrol ettiği belirlenmiştir (Razzaghi-Abyaneh vd., 2009).

Karanfil ve tarçın yağlarından ekstrakte edilen timol, sinnamik aldehit ve öjenol antifungal aktivite sergilediği ve ekstrakte edilen oleoresinin mikotoksin üreten *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerini inhibe ettiği bildirilmiştir (Davidson ve Naidu 2000). Buna ilaveten tatlı fesleğen ve vanilyadan çıkarılan linalol, metil kavikol ve vanilinin de aflatoksin üretimi üzerinde aynı inhibitör aktiviteyi sergilediği saptanmıştır (Davidson ve Naidu 2000).

2.3.1.6. Antimutajen aktivite

Mutajenik etki, hücre çekirdeğindeki DNA üzerinde herhangi bir kimyasal ajan tarafından veya kendiliğinden oluşan kalıcı yapı değişimleridir. Herhangi bir maddenin mutajenik etkinliği, DNA'nın hatasız bir şekilde onarımını sağlayarak veya hata eğilimli DNA onarımını inhibe ederek etkili olan antimutajenik bileşikler ile önlenebilir (Kada ve Shimoi, 1987). Son zamanlarda mutasyon kaynaklı hastalıkların artması, mutajenite ve karsinojenitenin birbiri ile ilişkilendirilmesi antimutajen maddelere yönelik araştırmaların artmasına neden olmuştur. Yapılan birçok araştırma, özellikle uçucu yağların, hücre de meydana gelen mutasyonlara karşı antimutajenik etki sergilediği yönündedir. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, aromatik bitkilerden ekstrakte edilen α -terpinen, α -terpineol, 1,8-sineol, d-limonen, kamfor, sitronelal ve sitral gibi uçucu yağ bileşiklerinin promutajen veya prokarsinojen ksenobiyotik biyotransformasyonunu etkileyerek karaciğerde monooksijenaz aktivitesini azalttığı yönünde sonuçlanmıştır (De-Oliveira vd., 1997).

Evandri ve arkadaşları, *Lavandula angustifolia* (lavanta) yağının mutajenik ve antimutajenik etkilerini inceledikleri çalışmalarında uçucu yağ ekstraktının herhangi bir mutajenik etkisinin olmadığını, ancak güçlü bir antimutajenik aktiviteye sahip olduğunu belirlemiştir (Evandri vd., 2005).

Vukovic-Gacic ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, monoterpen bileşiklerince zengin *Salvia officinalis* L. (adaçayı) uçucu yağının antimutajenite özelliğini, UV ışınına maruz kalan *E.coli* hücrelerinin üzerinde incelemiştir. *Salvia officinalis* L. (adaçayı) uçucu yağının ana bileşenlerini oluşturan monoterpenlerin DNA tamir sistemini düzenleyerek etki gösterdikleri sonucuna varılmıştır (Vukovic-Gacic vd., 2006). Ayrıca Bakkali ve arkadaşları UV ışınlarına maruz kalındığında meydana gelen mutasyonlara karşı uçucu yağların etkili olduğunu bildirmiştir (Bakkali vd., 2008; 2006).

2.3.1.7. Antikarsinojenik aktivite

Çağımızın en büyük sorunlarından biri olan kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve çoğalması olarak tanımlanır. Kanser vakalarının sayısında görülen ani artışının temelinde yemek alışkanlıkları, tütün ve alkol kullanımı, kronik enfeksiyonlar, zararlı radyasyona ve kimyasala maruz kalma ve çevre kirliliğinin neden olduğu düşünülmektedir. Günümüzde hastalığın tedavisine yönelik yöntemler bulunmasına rağmen uygulanan tedavilerin istenilen yanıtı vermemesi, yüksek maliyet ve istenmeyen yan etkiler oluşturması alternatif yaklaşımların araştırılmasına yönlendirmektedir. Güncel yaklaşımlar arasında bitkiler sahip oldukları kimyasal kompozisyon nedeniyle umut verici olup (Cragg ve Newman, 2005), bitki uçucu yağ ekstraktlarının antikanser özellikleri üzerine çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (Yu vd., 2011, Mitoshi vd., 2012). Yapılan bir çok çalışmanın sonucu uçucu yağların kanser tedavisi sırasında (kemoterapi ve radyoterapi) kullanılmasıyla ilaçların yan etkilerinde belirgin bir azalmanın olduğu yönündedir (Gautam vd., 2014).

Uçucu yağ bileşenlerinden karvakrol (Jayakumar vd., 2012), limonen (Elegbede vd., 1984), geraniol (Carnesecchi vd., 2001; 2002; 2004) mirsen (Mitic-Culafic vd., 2009), α -humulene (Silva vd., 2008), β -karyofillen (Legault ve Pichette, 2007), timol (Deb vd., 2011; Jaafari vd., 2012), sitral (Chaouki vd., 2009) yapılarının antikanser aktivitesine sahip olduğu yapılan çalışmalar ile bildirilmiştir.

Ayrıca terpinen-4-ol gibi terpen analoglarında antikanser özelliklere sahip olduğu belirlenmiş ve izoprenoidlerin kanser oranının azaltmasında önemli rol oynadığı çeşitli deneylerle kanıtlanmıştır (Trichopoulou vd., 2000; Greenwald vd., 2001). Birçok turuncgil uçucu yağlarının önemli bileşeni olan limonen kemo-önleyici ve ratlarda meme kanseri ve insan mide kanserinin yayılmasına karşı terapötik etki sergilediği belirlenmiştir (Abdalla vd., 2007).

2.3.1.8. Sitotoksosite

Yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde içeriğindeki aktif bileşenler nedeniyle bitkilerin ilaç olarak kullanımı büyük önem arz etmektedir. Bu bağlamda bitkilerin içeriğindeki aktif bileşenleri bünyesinde barındıran uçucu yağlar, sahip oldukları biyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve etkinliğinin araştırılması yönüyle birçok çalışmaya konu olmuştur.

Günümüzde bitkilerden elde edilen uçucu yağlardan terapötik ajanları keşfetmek sitotoksik çalışmalarda önemli bir konu haline gelmiştir. *In vitro* hücre kültür sistemlerinde bir sitotoksik bileşik büyüme oranını etkilemekte veya hücre ölümüne neden olmaktadır (Horvath, 1980). *In vitro* sitotoksosite veya hücre canlılığı ölçümleri için farklı tip deneyler geliştirilmiştir (Myers, 1998; Cook ve Mitchell, 1989; Borenfreund ve Puerner, 1985). Sitotoksosite deneyleri ile ölçülen parametre hücre ölümünün derecesini orantılı olarak temsil etmektedir. MTT testi (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromid; Tiazolil mavi) sitotoksosite değerlendirmesinde geleneksel radyo-izotop metodunun yerini almış olup en çok kullanılan kantitatif analiz yöntemidir (Bhardwaj vd, 2013). Hücrelere aktif olarak absorbe olan MTT (tetrazolyum tuzu), mitokondriyal redüktaz enzimine özgü davranarak suda çözünmeyen formazana indirgenir. Formazan bileşiğinin çözünür hale getirilmesiyle oluşan mavi-mor renk dönüşümü spektrofotometrik yöntemle ölçülebilen bir absorbans vermektedir. Analiz sonucunda ölçülen absorbans değeri canlı hücre sayısı ile doğru orantılı olarak değerlendirilmektedir (Bhardwaj vd, 2013).

Uçucu yağlar lipofilik olarak davrandığından dolayı hücre duvarı ve sitoplazmik membran içerisinden geçmekte ve polisakkarit, yağ asitleri ve fosfolipitlerin oluşturduğu hücresel tabakanın bozunmasına sebep olmaktadır. Ayrıca ökaryotik hücrelerde Ca^{+2} döngüsünü ve diğer iyonik kanalları etkileyen membran

potansiyelini düşürerek iyonik mitokondriyal membranın depolarizasyonundan sorumludur (Richter ve Schlegel, 1993; Novgorodov ve Gudz, 1996). Bunlar pH gradientini azaltma ile birlikte aynı zamanda proton pompasını ve ATP havuzunu da etkiler.

Ayrıca uçucu yağların membran akışkanlığını artırdığı tespit edilmiş ve bu artışın proteinin ve iyonların sızmasına yol açarak apoptozis ve nekroz ile hücre ölümünü tetiklediği ortaya konmuştur (Yoon vd., 2000; Armstrong, 2006).

Tablo 2.2 ve Tablo 2.3’de çeşitli bitkilerden elde edilen uçucu yağ bileşenlerinin farklı kanser hücre hatlarında sitotoksik değerlendirmeleri gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Çeşitli bitki örneklerinin uçucu yağ bileşenlerinin MCF-7 hücre hattındaki sitotoksik özellikleri

| Bitki Kaynağı | Uçucu yağ/Bileşeni(%) | Hücre hattı | Kaynak |
|--|--|----------------------|-----------------------|
| <i>Foeniculum vulgare</i> (Rezene) | L-limonen (%11,967) | Meme kanseri (MCF-7) | Mohamad vd., 2011 |
| <i>Satureja sahendica</i> | Timol (%40), γ-terpinen (%28), ρ-simen (%22) | Meme kanseri (MCF-7) | Morteza vd., 2012 |
| <i>Helichrysum gymnocephalum</i> | 1,8-Sineol (%47,4), Bisikloeskuifellandren (%5,6), γ-kurkumen (%5,6), α-amorfen (%5,1) Bisiklogermakren (%5) | Meme kanseri (MCF-7) | Misra vd., 2013 |
| <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> | Sitronellal Geraniol | Meme kanseri (MCF-7) | Shahabipour vd., 2012 |
| <i>Libanotis transcaucasica</i> | Germakren B (%20,2) Germakren D (%9,2), Kessane (%5,5) | Meme kanseri (MCF-7) | Zarai vd., 2011 |
| <i>Dorema ammoniacum</i> <i>D.Don</i> (Çadır kuşağı) | (Z)-Osimenon (%22,3) (E)-Osimenon (%18,1) β-Siklositral (%9,9) Kurkumen (%6,4) | Meme kanseri (MCF-7) | Zarai vd., 2012 |

Tablo 2.3. Çeşitli bitki örneklerinin uçucu yağ bileşenlerinin Hela hücre hattındaki sitotoksik özellikleri

| Bitki Kaynağı | Uçucu yağ/Bileşeni(%) | Hücre hattı | Kaynak |
|----------------------------------|--|--------------------|-------------------------|
| <i>Rosmarinus officinalis L.</i> | 1,8-sineol (%27,23), α -pinen (%19,43), β -pinen (%6,71) | Servikal (HeLa) | Wang vd., 2012 |
| <i>Ocimum basilicum Linn.</i> | Metil sinnamat(%70,1), Linalol (%17,5), β -elemen (%2,6), Kafur (%1,52) | Servikal (HeLa) | Kathirvel ve Ravi, 2012 |
| <i>Anemopsis californica</i> | Simen, Limonen, Piperiton Timol α -pinen, 1,8-sineol Mirtenol Metilöjenol, İzoöjenol ve Elemisin | Servikal (HeLa) | Silva vd., 2008 |
| <i>Eucalyptus benthamii</i> | α -pinen (%6,82), Globulol (%20,54), Aromadendren (%15,94), γ -terpinen (%5,51) | Servikal (Hela) | Afoulous vd., 2011 |
| <i>Marrubium vulgare L.</i> | β -sitronellal (%9,90) Sitronellil format(%9,50) Germakren-D (%9,37) γ -Eudesmol (%11,93) | Servikal (Hela) | Yousefzadi vd., 2011 |
| <i>Ricinus communis L</i> | α -pinen (%16,88), Kafur (%12,98), Kamfen (%7,48), 1,8-sineol (%30,98), α -thujone (%31,71) | Servikal (Hela) | Sadeghi vd., 2013 |

2.3.1.9. Propolis uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri

Propolisin kimyasal kompozisyonunu oluşturan bileşenlerin coğrafi bölgenin bitki örtüsüne göre çeşitlilik kazanması propolis uçucu bileşenlerin türleri ve düzeylerinin de farklanmasına neden olmaktadır. Bu bağlamda propolisden elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının biyolojik aktivitelerinde çeşitli özellikler görülmektedir. Günümüzde propolisden elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının biyolojik etkinliğinin incelendiği çalışmaların çoğu antioksidan, antimikrobiyel ve antibakteriyel özelliklerinin araştırılmasına yöneliktir. Farklı bölgelerden elde edilen propolis uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışmalar Tablo 2.4'de verilmiştir (Bankova vd., 2014).

Melliou ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Yunanistan'ın beş farklı bölgesinden toplanan propolisin, uçucu yağ ekstraktlarında 94 adet uçucu yağ bileşeni tespit etmiştir. Uçucu yağı ekstrete ettikleri propolisin içeriğinde ana uçucu yağ bileşenleri olarak junipen, α -pinen, manoil oksit, trans- β -terpineol, α -eudesmol, n-dekanal, guaiol, δ -kadinen, α -muurolene, sedrol, n-nonanal ve manool bileşenlerinin varlığı gözlenmiş ve bu bileşenlerin bulunma yüzdelerinin bölgeler içerisinde farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca uçucu bileşenlerin antimikrobiyal aktiviteleri Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerinde ve insan-patojen mantarlarında incelenmiştir. En yüksek etkinliğin mantarlara karşı olduğu gözlemlenmiş ve en güçlü mantar öldürücü etki Arta bölgesine ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında saptanmıştır (MIC değeri 0,50–5,20 mg/mL). Ayrıca Arta bölgesine ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının *E. cloaceae* ve *E. coli* bakterilerine karşı yüksek aktivite gösterdiği ve MIC değerlerinin sırası ile 3.10 mg/ml ve 3.40 mg/ml olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak farklı bölge propolislerinden elde edilen uçucu yağ bileşenlerinin farklılık gösterdiği ve farklı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Melliou, 2007).

Brezilya propolisleri ile gerçekleştirilen çalışmada ise uçucu yağların antifungal aktiviteleri Ioshida ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Analizi gerçekleştirilen propolis uçucu yağ ekstraktlarında yüksek miktarda bulunan bileşikler α -pinen (%18,3), β -pinen (%6,5), germakren D (%6,4) ve δ -kadinen (%7,0) dir. Uçucu yağların antifungal aktivitesi *C. cladosporioides* ve *C. sphaerospermum* mantarları kullanılarak yapılmıştır. Analizler nistatin ve mikonazol pozitif kontrolleri ile karşılaştırılmıştır.

Sonuç olarak *C. cladosporioides* ve *C. sphaerospermum* mantarlarının gelişimini inhibe eden uçucu yağ konsantrasyonu 5,0 µg olarak belirlenmiştir (Ioshida, 2010).

Brezilya propolislerinden elde edilen uçucu yağlar üzerine gerçekleştirilen bir başka çalışmada, Gram-pozitif (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*) ve Gram-negatif (*E. coli*) bakterileri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Brezilya propolislerinin sahip olduğu uçucu bileşenlerin bir etkisi olarak antibakteriyel özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Oliveria, 2010).

Sımionatto ve arkadaşları Brezilya'nın güneyindeki üç bölgenin propolisinden elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının içeriğindeki monoterpenlerin varlığını enantiyomerik kompozisyonların farklı yüzdeleri ile belirlemiştir. α-pinen (%57-63), β-pinen (%12,5-30,8) ve limonen (%1,5-11,2) her üç bölgede de ortak olarak tespit edilen monoterpenler olduğu bildirilmiştir. Kiral analizi sonucunda (-)-β-pinen enantiyomerinin (%95,9-97,4) en fazla olduğu belirlenmiştir. Monoterpenlerin en fazla tespit edildiği Santiago bölgesi propolis uçucu yağlarının (α-pinen %62,0, β-pinen %29,2, limonen %1,5) antimikrobiyal özellikleri *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* üzerinde incelenmiş ve bakteri türlerinden *P. aeruginosa*'nın yüksek direnç gösterdiği gözlenirken, *S. aureus*'nın büyük ölçüde inhibe olduğu görülmüştür (Sımionatto, 2012).

Kocabaş ve arkadaşları ise, Erzincan, Yeşilyurt ve Sarıçiçek propolislerden elde edilen uçucu yağların bileşenlerini belirleyerek antimikrobiyel ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Yeşilyurt yöresi propolislerinde fenil etil alkol (%7,7), benzil alkol (%7,4), dekanal (%6,7), etil benzoat (%6,5), nonanal (%5) ve sedrol (%4,1) uçucu yağ bileşenlerinin yüksek miktarda bulunduğu saptanmıştır. Sarıçiçek yöresi propolisinde yüksek miktarda belirlenen bileşik sedrol (%15,6) iken Erzincan yöresi propolisinde belirlenen bileşenler α-bisabolol (%14,3), sedrol (%7), δ-kadinen (%5,6) ve α-eudesmol (%3,6) olduğu bildirilmiştir. Propolis örneklerinin antioksidan aktiviteleri incelendiğinde 4,95 µg/mL IC₅₀ değerine sahip olan Yeşilyurt propolis uçucu yağının gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca propolis uçucu yağ ekstraktlarının uygulandığı *Bacillus cereus* (0,60-0,12 mg/mL) patojenine karşı en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi Yeşilyurt bölgesine ait propolis örneklerini gösterdiği belirtilmiştir (Kocabaş vd., 2013).

Tablo 2.4. Farklı coğrafik bölgelerden elde edilen propolis uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri

| Coğrafi köken | Ana bileşenler | Biyolojik aktivite | Kaynak |
|---|--|--|-------------------------|
| Polonya (Güney Bölgesi) | farnesol, dihidro eudesmol, guaiol | Antibakteriyel | Patricio vd., 2002 |
| Yunanistan | α -pinen (%7,9-45,8), trans- β -terpineol (%2,2-6,6), junipen (%1,5-11,7), δ -kadinen (%0,3-8,4) | Antibakteriyel | Melliou vd., 2007 |
| Brezilya | β -karyofillen (%12,7), asetofenon (%12,3) | Antibakteriyel | Oliveria vd., 2010 |
| Brezilya (Rio de Janeiro Eyalet) | α -pinen (%18,3), β - pinen (%6,5), δ -kadinen (%7,0) | Antifungal | Ioshida vd., 2010 |
| Brezilya (Rio Grande do Sul Eyalet) | α -pinen (%57,0- 63,0), β -pinen (%12,5-30,8), limonen (%1,5-11,2) | Antibakteriyel | Simionatto vd., 2012 |
| Brezilya | longipinen (%24,9), α -eudesmol (%6,9), β -eudesmol (%6,1), β -karyofillen (%5,3) | Terapötik etkisi anksiyete üzerinde | Li vd., 2012 |
| Türkiye (Kuzeydoğu Anadolu) | sedrol (%7,0-15,6), α -bisabolol (%14,3), δ -kadinen (%2,7-5,6) | Antimikrobiyel, antioksidan | Kocabaş vd., 2013 |
| Türkiye (Doğu Anadolu) | Fenil etil alkol (%7,7), benzil alkol (%7,4), dekanal (%6,7), etil benzoat (%6,5) | Antimikrobiyel, antioksidan | Kocabaş vd., 2013 |

Naik ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, hint kökenli propolisden elde edilen uçucu yağ ekstraktlarında 32 adet uçucu yağ bileşenini GC/FID cihazı ile tespit etmiştir. Belirlenen uçucu yağların bir balarısı çeşidi olan *Apis flore*'ya karşı doza bağlı kovucu aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Ortalama iticilik (ΔR) uçucu yağ konsantrasyonu 24 $\mu\text{g/mL}$ ye kadar artış göstermiş ve daha yüksek konsantrasyonlarda sabit kaldığı saptanmıştır. Sonuç olarak ekin alanlarında uygulanan pestisit işleminden bal arılarını uzak tutmada propolis örneklerinin kullanılabilceği ifade edilmiştir (Naik, 2013).

2.3.2. Uçucu yağ elde etme yöntemleri

Uçucu yağları ısı ve suya hassasiyetleri, yoğunlukları, sudaki ve organik çözümlerdeki çözünürlüklerine bağlı olarak birçok farklı yöntemlerle elde etmek mümkündür. Bu yöntemleri üç ana başlık altında toplayabiliriz (Tanker ve Tanker, 2003).

-Distilasyon yöntemi

-Ekstraksiyon yöntemi

-Mekanik yöntem

2.3.2.1. Distilasyon yöntemi

Uçucu yağların elde edilmesinde genellikle tercih edilen yöntem distilasyon yöntemidir. Bu yöntemde uçucu yağların su buharı ile sürüklenbilme özelliğinden yararlanılarak diğer uçucu olmayan bileşiklerden ayrılması sağlanır. Distilasyon zamanının süresi, distilasyon sıcaklığı, çalışma basıncı ve bitki materyalinin tipi ve kalitesi uçucu yağ miktarını değiştirmektedir (Kırimer vd., 1999; Viljoen vd., 2004).

Distilasyon ile uçucu yağ eldesinde kullanılan yöntemler:

-Su distilasyonu (Hidro-distilasyon)

-Buhar distilasyonu

-Su-Buhar distilasyonu

-Hidrodiffüzyon

Su Distilasyonu

Su distilasyonu kurutulmuş olan ve ısıtma ile bozulmayan bitki materyalinin su ile birlikte kaynatılması yöntemidir (Tanker ve Tanker, 2003).

Kaynama sırasında buharlaşan su ve uçucu yağ, Florentin denilen toplama kabında yoğunluklarının farklı olması nedeniyle birbirinden ayrılır. Kaynayan suyun dokulara nüfuz etmesi ile polar bileşikler çözülür ve ısı etki ile buharlaşır. Daha sonra apolar bileşikler destillenir ve toplama kabına geçer. Bu yöntemin dezavantajı uçucu yağların ısı etkisi ile bozunması ve parçalanmasıdır. (Coşkan, 2013).

Buhar Distilasyonu

Endüstriyel anlamda en yaygın olarak kullanılan bu yöntem taze materyale uygulanır. Buhar distilasyonunda materyal delikli bir ızgara üzerine yerleştirilir ve başka bir yerde üretilen doymuş su buharı materyal üzerine püskürtülür. Su buharı ile birlikte uçucu yağ sıvı hale dönüştürülecek bir soğutma sisteminden geçirilerek ayrılır (Kırimer vd., 1999).

Su-buhar Distilasyonu

Su-buhar distilasyonu, su distilasyonu ve buhar distilasyonunun birleşimi şeklindedir. Bu yöntemde materyal su ile doğrudan temas etmez kabın cidarlarından iletilen ısı yardımı ile buharlaşma meydana gelir. Yöntemde buharın neminden dolayı elde edilen uçucu yağda ıslanır ve destilasyon hızı yavaşladığından dolayı dezavantajlıdır. Su destilasyon yöntemine oranla uçucu yağ elde etme verimi daha yüksek olan bir yöntemdir (Başer, 2009).

Hidrodifüzyon

Distilasyon işlemi sırasında buhar hücre membranına tam olarak nüfuz etmeyebilir. Uçucu yağlar materyalin yüzeyinde bulunduğu gibi iç dokularda da bulunur. Difüzyon işleminden sonra iç kısımlarda bulunan uçucu yağlar yüzeye ulaşır ve buhar ile birlikte sürüklenir. Bu yöntemin verimi buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlardan daha yüksektir. Fakat bu yöntemde uçucu olmayan veya uçuculuğu az olan lipit, klorofil, yağ asitleri ve kumarinler gibi suda çözünebilen bileşiklerin yağa geçmesi bir dezavantajdır. Bundan dolayı endüstriyel olarak kullanımını yaygın değildir (Albay, 2008).

2.3.2.2. Ekstraksiyon yöntemi

Uçucu yağları elde etmede kullanılan diğer bir yöntem ekstraksiyon metodudur.

- Organik çözücü ile ekstraksiyon
- Sabit yağ ile ekstraksiyon
- Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyonu

Organik çözücü ile ekstraksiyon

Taze bitkisel materyaller petrol eteri, heksan, diklormetan, benzen, aseton gibi saf çözücülerle ekstrakte edilir. Bu yöntem ile ısıya karşı hassas ve buhar destilasyonu ile elde edilemeyecek kadar küçük miktarda bulunan yağlar elde edilir. Ancak uçucu yağlar ile beraber mum ve boya gibi diğer maddelerde organik çözücüye geçeceğinden dezavantajlıdır. Diğer bir dezavantajı da elde edilen madde de çözücü artığının kalması ve bunun toksik risk oluşturmasıdır (Linskens ve Jackson, 1997).

Sabit yağ ile ekstraksiyonu

Bu yöntemde sabit yağ olarak genellikle kokusuz, renksiz ve uygun kıvamda olan domuz yağı kullanılır. İnce bir yüzey üzerine yayılan sabit yağ doymun hale gelinceye kadar üste yayılan materyal sürekli yenilenir. Elde edilen ürün alkol ile özütlendikten sonra çözünmüş durumda olan yağ süzülerek alkol düşük basınçta destilasyon ile uzaklaştırılır. Uçucu yağ miktarının az olduğu durumlarda bu yöntem kullanılır (Thapa, 1989).

Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyonu

Bu yöntemde kullanılan çözücünün kolay bulunabilmesi, saflık oranının yüksek olması ve çevreye olan etkisinin en az olması nedeni ile en çok tercih edilen ekstraksiyon maddesi sıvılaştırılmış CO₂'dir (Porta,1999).

Basınç uygulanarak sıvı hale getirilen CO₂ bitki ile muamele edildikten sonra buharlaştırılarak saf uçucu yağ elde edilir. CO₂ inert olduğundan uçucu yağlar yüksek saflıkta elde edilir ve ortamdan uzaklaştırıldığında kalıntı bırakmaz (Kaufmann and Christen, 2002).

2.3.2.3. Mekanik yöntem

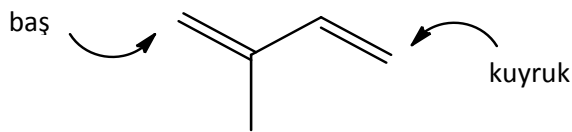
Distilasyon yönteminde bozunmaya uğrayan maddeleri elde etmek için kullanılan bir yöntemdir. Bitki keskin ve çıkıntılı bez bir torbaya koyularak uçucu yağları taşıyan salgı ceplerinin parçalanması sağlanır. Daha sonra basınç uygulanıp sıkılarak uçucu yağ elde edilir. Bu yöntem genelde limon, bergamot, greyfurt, mandalina ve portakal gibi meyvelerde bulunan uçucu yağları elde etmede kullanılır (Ceylan, 1983).

2.3.3. Uçucu yağların kimyasal yapıları

Uçucu yağlar genellikle terpen kökenli hidrokarbon ve hidrokarbonların oksijenli türevleri olan alkoller, asitler, esterler, aldehitler, fenol ve fenol eterleri, kinonlar, laktonlar, furan türevleri, oksitler, aminler ve kükürtlü bileşiklerden meydana gelmektedir. Ayrıca uçucu yağların çok az bir kısmında aromatik benzen türevleri de bulunmaktadır (Bakkali, 2008).

2.3.3.1. Terpenler

Uçucu yağların en önemli kısmını oluşturan terpenler yapısal ve işlevsel özelliklerine göre farklı sınıflar oluşturmaktadır. Bu gruplar 5 karbonlu izopren (2-metil-1,3-bütadien) halkasının farklı kombinasyonları şeklinde oluşmaktadır. İzopren baş ve uç kısım olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Dallanmanın meydana geldiği kısım baş kısımdır (Covan, 1999; Masango, 2005).



Şekil 2.2. İzoprenin moleküler modeli

Terpenler izopren gruplarının sayılarına göre sınıflandırılmaktadır. İki izopren ünitesinin birleşmesi ile oluşan monoterpenler uçucu yağların %90'ını meydana getirir. Oksijenlenmiş haline monoterponoid denir.

Monoterpenlerin asiklik, bisiklik ve monosiklik gibi çeşitli türevleri mevcuttur. Tablo 2.5’de çeşitli monoterpen ve türevleri verilmiştir.

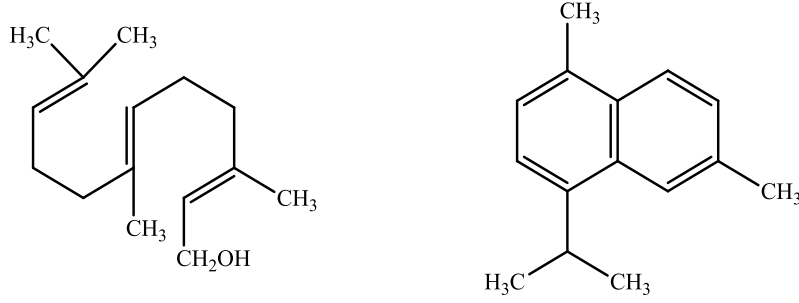
Birçok uçucu yağın ana bileşeni olan monoterpenler tatlandırıcı ve parfümeride büyük öneme sahiptir (Wang, 2006).

Tablo 2.5. Monoterpen türevleri ve çeşitleri

| | Asiklik | Monosiklik | Bisiklik |
|--------------------|---|--|---|
| Karbürler | Mirsen Osimen | Terpinen P-Simen Fellandren | Pinen 3-karen Kamfen Sabinen |
| Alkoller | Geraniol Linalol Sitronellal Lavandulol Nerol | Menthol α -terpineol Karveol | Borneol Fenhol Chrysanthenol Thuyan-3-ol |
| Aldehitler | Geranial Neral Sitronellal | | |
| Keton | Tageton | Mentones Karvon Pulegon Piperiton | Kafur Fenkon Thuyone Ombellulone Pinokarvon |
| Esterler | Linalil Asetat Sitronellil Asetat | α -Terpenil asetat | İzobornil asetat |
| Eterler | 1,8-sineol | Mentofuran | |
| Peroksitler | Askaridol | | |
| Fenoller | Timol Karvakrol | | |

$C_{15}H_{24}$ kapalı formülüne sahip seskiterpenler üç izopren ünitesinin birleşmesinden oluşmaktadır. Alkol, keton, lakton, aldehit, asit gibi oksijenli türevleri seskiterpenoid olarak adlandırılır.

Yapısı ve fonksiyonları bakımından monoterpenlere benzemekle beraber bu bileşenler genellikle yiyecek ve içeceklerde tat, ilaç ve kozmetikte koku amaçlı olarak kullanılır (Lockwood, 2001).

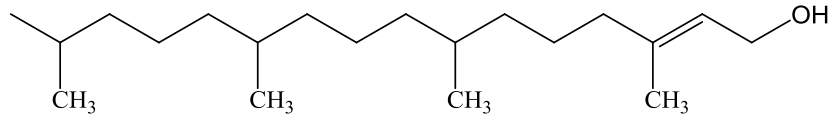


Farnesol (Asiklik)

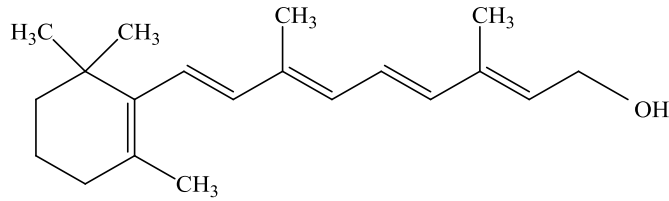
Kadalen (Bisiklik)

Şekil 2.3. Seskiterpenler

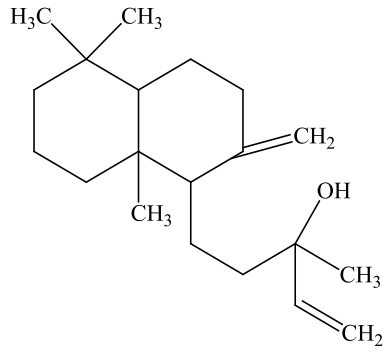
$C_{20}H_{32}$ kapalı formülüne sahip diterpenler dört izopren ünitesinin birleşmesi ile oluşur. Diterpenler bitkilerde monoterpen ve seskiterpenlere nazaran daha az miktarlarda bulunur (Tarjan vd., 2002).



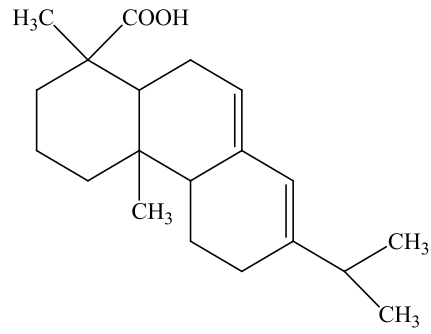
Fitol (asiklik)



Vitamin A (monosiklik)



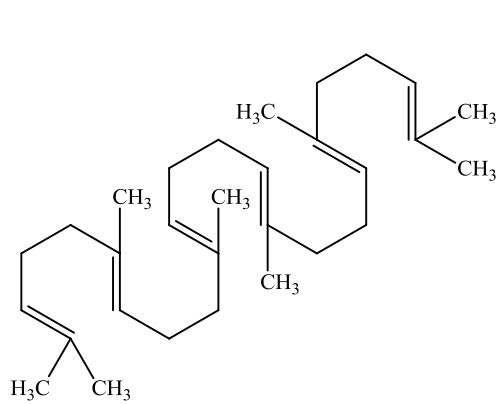
Manool (bisiklik)



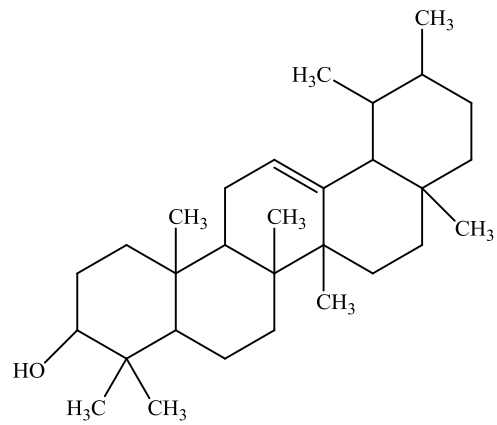
Abietik asit (trisiklik)

Şekil 2.4. Diterpenler

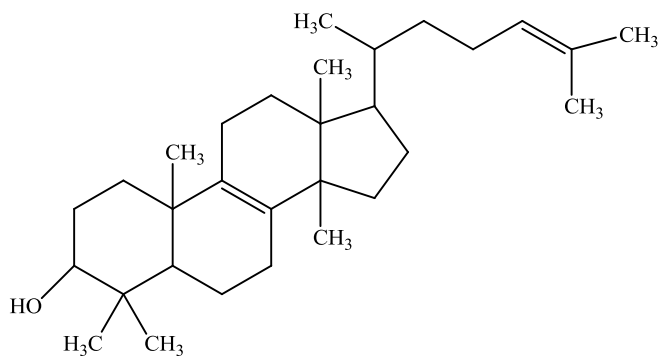
Altı izoprenli triterpenler genellikle iki seskiterpen ünitesinin birleşmesi ile oluşur (Masango, 2005).



Skualen



Amirin

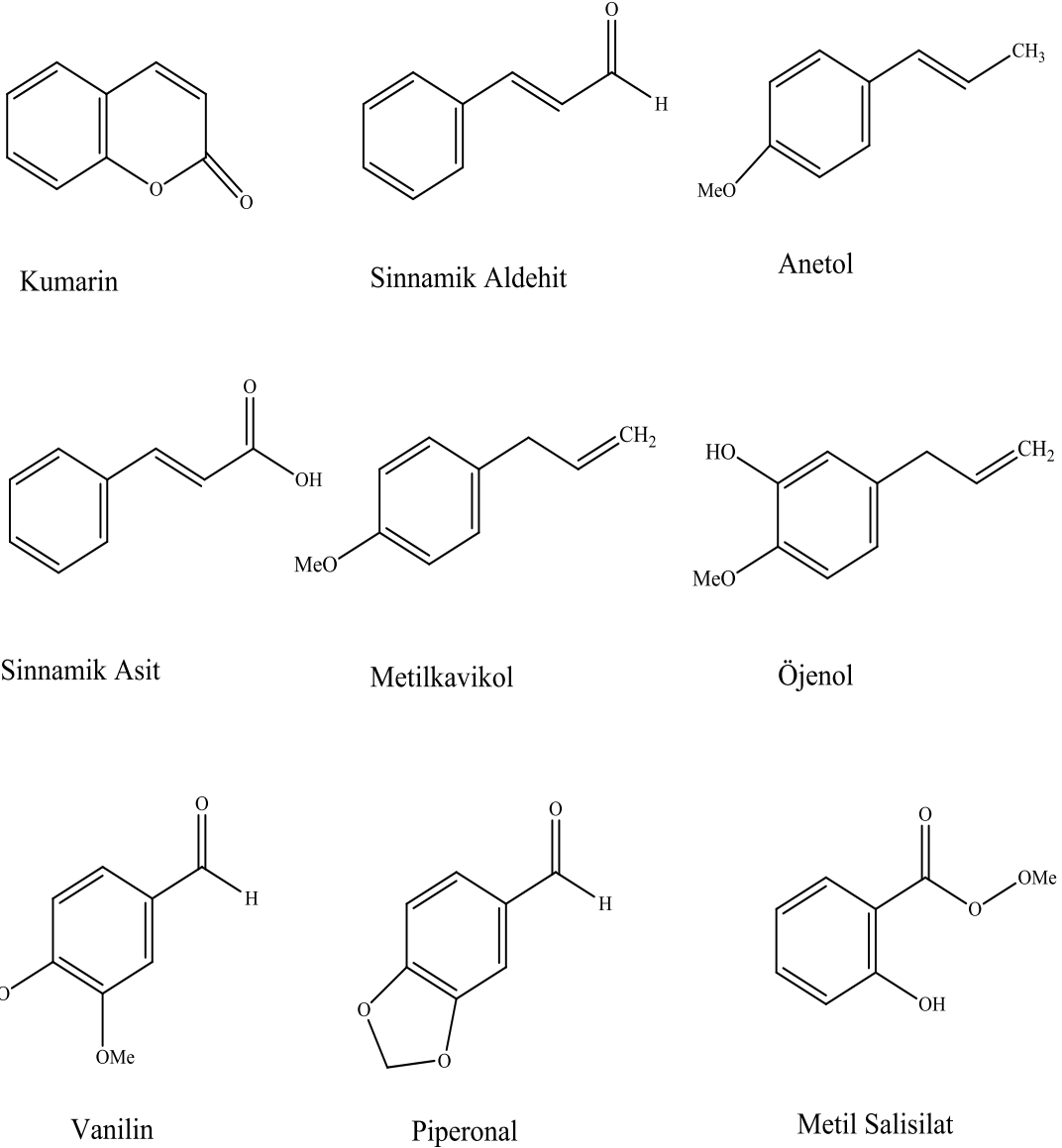


Lanosterol

Şekil 2.5. Triterpenler

2.3.3.2. Aromatik Bileşikler

Fenilpropan türevleri olan aromatik bileşikler terpenlere göre daha az miktarda bulunur. Amino asit mekanizmasının yan ürünleri olan fenilpropanlar fenol gibi aromatik halkaya sahiptir (Bakkali, 2008).



Şekil 2.6. Uçucu yağlarda bulunan önemli aromatik bileşikler

Propolisin farklı biyolojik aktiviteler göstermesinde bitki kökeninin farklılaşmasının yanı sıra içeriğindeki uçucu yağları önemi büyüktür. Bu nedenle uçucu yağların ayrılması, tanımlanması veya bileşenlerin tek tek izolasyonu için etkili kromatografik teknikler gereklidir (Lockwood, 2001).

Son zamanlarda yapılan araştırmalara göre uçucu yağların analizinde kullanılan analitik metodlar arasında gaz kromatografisi (GC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve süperkritik akışkan kromatografisi (SFC) yöntemleri kullanılmasının yanısıra GC-MS, HPLC-MS gibi birleştirilmiş kromatografik tekniklerde kullanılmaktadır. Ayrıca herhangi bir n ayırma yapılmaksızın uçucu yağların tanımlanabilmesi için MS spektrometresi ve özellikle ¹³C-NMR spektroskopisi de kullanılan teknikler arasındadır (Merfort, 2002).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Materyaller

Tez kapsamında kullanılan propolis örnekleri Anadolu'nun Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye illerinde bulunan arı yetiştiricilerinden yaş olarak tedarik edilmiştir. Ankara ve Konya İç Anadolu, Bingöl ve Malatya Doğu Anadolu, Kastamonu Karadeniz, Kırklareli Marmara ve Muğla Ege bölgesinde bulunmaktadır.

Propolis örnekleri sonbahar mevsiminde bu illerde bulunan farklı arı kovanlarından toplanmıştır. Ayrıca çalışmada propolis uçucu yağ ekstraktlarının *in vitro* antikanser aktivitelerinin incelenmesi için MCF-7 meme kanseri hücreleri kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez kapsamında kullanılan kimyasallar; n-hegzan, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromit), penisilin, streptomisin, tripsin, diazo boya, DMSO, RPMI, FBS ve metanol Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir.

3.3. Kullanılan Araç-Gereçler

Propolis örneklerinden uçucu yağları elde etmek amacıyla Clevenger tipi hidrodistilasyon apareyi kullanılmıştır. Elde edilen uçucu yağlar sonraki analizlerde kullanmak amacıyla +4°C'de koyu renkli viallerde muhafaza edilmiştir.

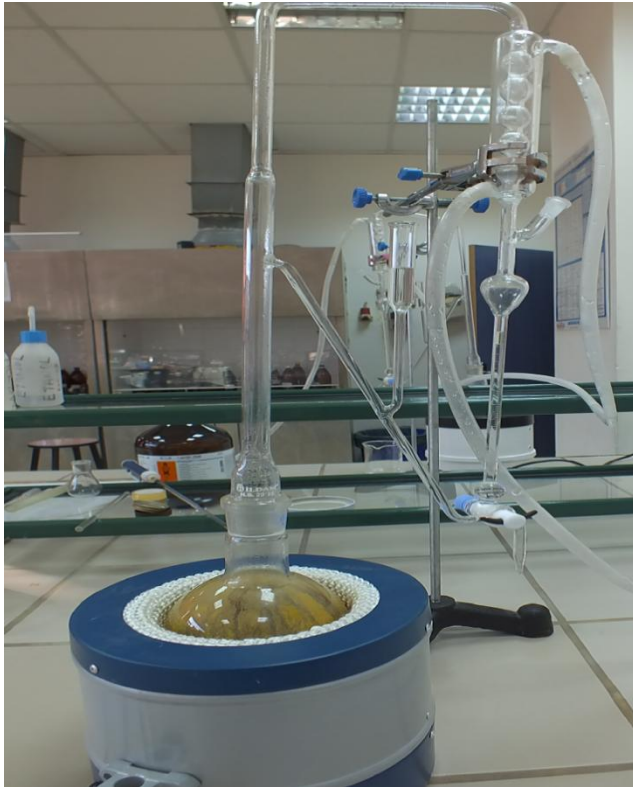
Propolis uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerinin aydınlatılması amacı ile Agilent 6890 GC spektrometresine bağlı 5973N Mass Selective Dedektör'den oluşan GC-MS cihazı kullanılmıştır.

Uçucu yağların *in vitro* antikanser aktivitelerini incelemek için hücre kültür sisteminde Chemocell LRCX-UV kabin, Nüve NF 800R santrifüj, BioTek Eon Eliza Mikroplate spektrofotometresi, ESCO CO₂ inkübatör, WiseBath WB-6/-11/-22 Dijital su banyosu ve Olympus Mikroskop kullanılmıştır.

3.4. Uçucu Yağların Eldesi

Uçucu yağları, ısı ve suya hassasiyetleri, yoğunlukları, sudaki ve organik çözümlerdeki çözünürlüklerine bağlı olarak birçok farklı yöntemlerle elde etmek mümkündür. Uçucu yağ elde etmede yaygın olarak kullanılan yöntem hidrodistilasyon yöntemidir.

Anadolu'nun Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye illerinde arı yetiştiricilerinden sonbahar mevsiminde yağ olarak temin edilen propolis örnekleri kurutulmuştur. Kurutulan propolisler öğütülerek yaklaşık 100 g tartılmış ve 250 mL saf su ilave edilerek şilifli balonlara koyulmuştur. Uçucu yağlar Clevenger tipi hidrodistilasyon düzeneğinde (Şekil 3.1) üç saat boyunca distilasyon yapılarak elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağlar n-hekzanda çözülerek havadan ve ışıktan etkilenmemeleri için koyu renkli viallerde ağzı kapalı şekilde +4°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Propolis uçucu yağlarının eldesinde kullanılan Clevenger cihazı ile hidrodistilasyon

3.5. Kimyasal Bileşenlerinin Aydınlatılması

Uçucu yağlar n-hekzanda çözülerek Agilent 6890 GC spektrometresine bağlı 5973N Mass Selective Dedektör'den oluşan GC-MS cihazı kullanılarak bileşenler analiz edilmiştir. GC-MS analiz koşulları:

| | |
|--------------------------|---|
| Basınç | : 27,54 psi |
| Split oranı | : 30:1 |
| Split akışı | : 51,0 mL/dk |
| Taşıyıcı gaz | : He |
| Gaz akışı | : 1,7 mL/dk |
| Kolon | : Kapiler kolon, Agilent 19091N-136 HP- INNOWax Polietilen glikol (60,0m*250µm*0,25 µm) |
| Kolon maksimum sıcaklığı | : 260°C |
| Başlangıç sıcaklık | : 60°C |
| Toplam süre | : 88 dk |
| Elektron enerjisi | : 70 eV |
| Kütle aralığı | : 50-550 m/z |

3.6. *İn Vitro* Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada uçucu yağların *in vitro* antikanser özellikleri MCF-7 meme kanseri üzerinde incelenmiştir.

3.6.1. Hücre kültürü besi yerinin hazırlanışı

500 ml RPMI-1640 besi yeri içerisine

- %10 FBS,
- %1 penisilin-streptomisin
- %1 L-Glutamin çözeltileri

eklenerek hazırlanan besi yeri +4°C'de kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

3.6.2. Stok hücrelerin ekimi

Hücre kültür çalışmalarından önce kullanılacak malzemeler ve kabin %70'lik etanol ile steril edilmiştir.

- -80°C'de muhafaza edilen dondurulmuş hücrelerin 37°C'de çözünmesi sağlanmıştır.
- Flask içerisine alınan stok hücreler üzerine 5 mL besi yeri koyularak 37°C'de %70 konflent olacak şekilde çoğalmaya bırakılmıştır.

3.6.3. Hücrelerin ekimi

- %70 konflent olan hücelere pasajlama işlemi uygulanmıştır.
- Hücreler üzerindeki besi yeri atılarak hücre tabakasına pipet değdirilmeden PBS (pH:7.4) ile birkaç kez yıkama işlemi yapılmıştır.
- Üzerine 3 ml tripsin ilave edilen hücreler, inkübatörde (%5 CO₂), 5 dakika inkübasyona bırakılarak hücrelerin kalkması sağlanmıştır (Mikroskopta hücrelerin flaskdan kalkıp kalkmadığı kontrol edilir).
- İnkübasyon sonrası tripsinin etkisini kaldırmak için içerisinde tripsin inhibitörleri bulunan besi yeri eklenerek (5 mL) hücrelerin birbirinden ayrılmasını sağlamak amacı ile pipetaj işlemi uygulanmıştır.
- Çözelti falkon tüpü alınarak 5 dakika boyunca 1500 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası süpernatant atılarak pellet yeni besi yerine alınmıştır.
- Plate ekim yapılmadan önce hücre sayımı gerçekleştirilmiştir.
- 96-kuyucuklu plate kabına ekilen kültüre edilmiş kanser hücreleri (10.000 hücre/mL) 24 saat 37°C'de, %5 CO₂'de inkübasyona bırakılmıştır.
- Uçucu yağların antikanser özelliğini incelemek amacı ile MTT testi uygulanmıştır.

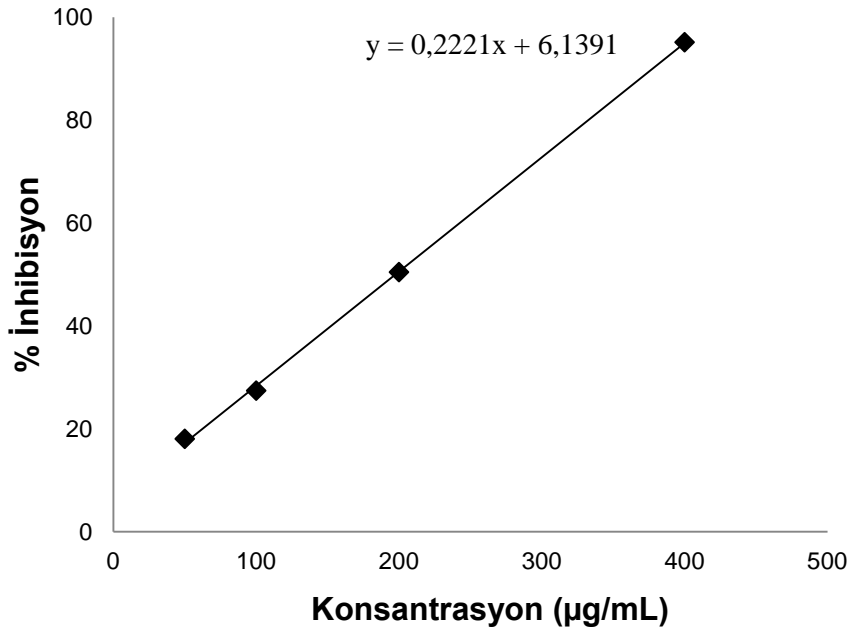
3.6.4. MTT testi

Hücelere aktif olarak absorbe olan MTT (tetrazolyum tuzu), mitokondriyal redüktaz enzimine özgü davranarak suda çözünmeyen formazana indirgenir. Formazan bileşiğinin çözünür hale getirilmesiyle oluşan mavi-mor renk dönüşümü spektrofotometrik yöntemle ölçülebilen bir absorbans vermektedir.

Analiz sonucunda ölçülen absorbans değeri canlı hücre sayısı ile doğru orantılı olarak değerlendirilmektedir.

MTT testi için uçucu yağ ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (50, 100, 200, 400 µg/mL) besi yerinde hazırlanmıştır. Ekimi gerçekleştirilen MCF-7 hücrelerinin inkübasyon süresi bitiminde üzerindeki besi yerleri atılmış ve uçucu yağ ekstraktları 100 µL/kuyucuk olacak şekilde kuyucuklara pipetlenerek bir gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda örnek ekstraktları kuyucuklardan atılmış, kuyucuklara 10 µL MTT (5mg/mL, PBS, pH 7.4 içerisinde) ve 90 µL besi yeri eklenmiş ve 3 saat süresince 37°C’de inkübe edilmiştir. Uygulama sonrasında kuyucuklardaki süpernatant atılarak formazon kristallerinin çözünmesi için 100 µL DMSO eklenerek 570 nm’de mikropate okuyucuda absorbans değerleri ölçülmüştür.

Kontrol kuyucuklarının absorbans değerleri %100 canlı olarak kabul edilmiş ve numunelerin % inhibisyon değerleri kontrol grubu karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. Uygulanan propolis uçucu yağ ekstraktlarının konsantrasyonlarına karşı % inhibisyon değerleri grafiğe geçirilerek elde edilen doğrunun denkleminde IC_{30} ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Malatya iline ait konsantrasyon/% inhibisyon grafiği örnek hesaplama olarak aşağıda verilmiştir.



Grafikten elde edilen doğru denklemine göre ($y = 0,2221x + 6,1391$) Malatya ili propolis uçucu yağ ekstraktlarının IC_{30} ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Çalışmamızda, sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Propolisin kimyasal kompozisyonunu oluşturan bileşenlerin coğrafi bölgelere göre farklılaşması birçok biyolojik aktiviteyi bünyesinde barındırmasına neden olmaktadır. Bu bağlamda propolisden elde edilen propolis uçucu yağ ekstraktlarının içerdiği uçucu bileşenlerin antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antimikrobiyel, antifungal ve antikarsinogenik gibi özelliklerinin belirlenmesi ve etkinliğinin araştırılması birçok hastalığın tedavisinde alternatif olacaktır. Günümüzde propolisden elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının biyolojik etkinliğinin incelendiği çalışmalar var olmakla birlikte antikanserojen etkisinin incelendiği çalışmalar oldukça sınırlıdır. Ayrıca Anadolu'dan toplanan propolislerden elde edilen uçucu yağlara yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda literatürdeki boşluğun doldurulması amacı ile ilgili tez kapsamında Anadolu'nun farklı illerinden toplanan propolis örneklerinde var olan uçucu yağlar hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının bileşenleri GC/MS'de belirlenmiş ve *in vitro* antikanser özellikleri MCF-7 hücre hattı üzerinde MTT testi ile incelenmiştir.

4.1. GC/MS Sonuçları

Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırıkkaleli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye illerinden temin edilen propolis örneklerinden elde edilen uçucu yağ ekstraktları GC/MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda propolis uçucu yağlarından 74 adet uçucu bileşenin yapısı aydınlatılmıştır. Yapısı aydınlatılan bileşikler monoterpen, monoterpenoid, diterpen, seskiterpen, seskiterpenoid, benzen türevleri, izopren içermeyenler, aromatikler ve diğer bileşenler olmak üzere 9 grup halinde verilmiştir (Tablo 4.1).

Ankara iline ait propolis örneklerinde gerçekleştirilen GC-MS analiz sonuçlarına göre toplam 12 adet uçucu bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenler arasında yüksek oranda kurkumen (%24,90), 10s,11s-himachala-3(12),4-diene (%13,04), δ -selinen (%10,11), 2-izoprofenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-oktahidronaftalin (%10,11), guaiene (%8,04), heksadekanoik asit (%5,05) bulunmuştur (Tablo 4.1).

Bingöl iline ait propolis uçucu yağ ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler arasında yüksek oranda α -bisabolol (%9,44), β -karyofillen (%7,77), tetradekanoik asit (%7,66), farnesil aseton (%7,17), tetrakosan (%5,47) ve heptadekan (%3,28) bileşenlerinin varlığı tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Kastamonu iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında yüksek oranda bulunan uçucu bileşenlerin δ -selinen (%7,54), α -pinen (%7,04), β -karyofillen (%6,24), α -terpineol (%6,71), benzil benzoat (%3,52) ve borneol (%3,19) olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Kırklareli iline ait propolis örneklerinde gerçekleştirilen GC-MS analiz sonuçlarına göre toplam 29 farklı uçucu bileşen tespit edilmiştir. Belirlenen bu bileşenler arasında yüksek miktarda α -bisabolol (%25,45), neoizolongifolen (%14,14), (+)-valencene (%4,16), cyercene (%2,69), sedren (%2,58) ve cis-trans-nerolidol (%2,26) bulunmuştur (Tablo 4.1).

Konya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının GC-MS sonuçlarına göre yüksek oranda γ -selinen (% 19,88), cis-trans-nerolidol (%13,46), cyercene (%4,08), kurkumen (%3,05), α -kopaen-11-ol (%2,66) ve δ -kurkumen (%1,98) olmak üzere toplam 21 farklı bileşen tespit edilmiştir. (Tablo 4.1).

Malatya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının içeriğinde ise yüksek oranda naftalin-1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil) (%1,54), α -campholene aldehit (%0,87), β -kadinen (%0,55), nonanal (%0,43), β -mirsen (%0,28) ve α -kopaen (%0,26) uçucu bileşenlerinin varlığı belirlenmiştir. (Tablo 4.1).

Muğla iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında belirlenen bileşenler β -pinen (%16,11), α -pinen (%13,41), (+)-valencene (%8,88), karyofillen oksit (%5,30), β -karyofillen (%4,63) ve β - α -terpineol (%4,03)'dir (Tablo 4.1).

Osmaniye iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının içeriğinde ise cembrene (%0,59), β -karyofillen (%0,42), farnesil aseton (%0,55), kurkumen (%0,36), dekanal (%0,19) ve linalol (%0,26) uçucu bileşenlerinin olduğu belirlenmiştir. (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. GC/MS sonuçlarına göre Anadolu'nun farklı illerine ait propolis uçucu yağların % bileşenleri

| | RT (dak) | Ankara | Bingöl | Kastamonu | Kırklareli | Konya | Malatya | Muğla | Osmaniye |
|--------------------|-------------|--------|--------|-----------|------------|-------|---------|-------|----------|
| Monoterpen | | | | | | | | | |
| α -pinen | 7,09 | - | - | 7,04 | - | - | - | 13,41 | - |
| Kamfen | 8,45 | - | - | 0,46 | - | - | - | 0,69 | - |
| Mirsen | 10,17 | - | - | 0,29 | - | - | - | - | - |
| β -Pinen | 10,18 | - | - | 0,29 | - | - | - | 16,11 | - |
| Δ -3-Carene | 12,13 | - | - | - | - | - | - | 1,46 | - |
| Limonen | 14,41 | - | - | 0,89 | 0,04 | - | - | 1,56 | - |
| γ -Terpinen | 16,43 | - | - | - | - | - | 0,22 | 0,22 | - |
| p-Simen | 17,33 | 0,09 | - | - | - | - | - | 0,36 | - |
| β -Mirsen | 18,23 | - | - | - | - | - | 0,28 | - | - |
| Linalol | 26,15 | - | - | 0,61 | - | - | - | - | - |
| Geranil aseton | 36,49 | - | 1,07 | - | - | - | - | - | 0,13 |

Tablo 4.1. GC/MS sonuçlarına göre Anadolu'nun farklı illerine ait propolis uçucu yağların % bileşenleri (devamı)

| | RT (dak) | Ankara | Bingöl | Kastamonu | Kırklareli | Konya | Malatya | Muğla | Osmaniye |
|--|-------------|--------|--------|-----------|------------|-------|---------|-------|----------|
| Monoterpenoid | | | | | | | | | |
| Linalol | 26,13 | - | 0,36 | - | 0,66 | 0,54 | - | - | 0,26 |
| Borneol | 27,33 | - | - | 3,19 | - | 0,50 | - | - | - |
| Bornil asetat | 27,38 | - | 0,77 | 3,19 | - | 0,61 | 0,07 | - | - |
| α -Terpineol | 30,36 | - | - | 6,71 | 0,85 | - | - | 4,03 | - |
| α -Fellandren-8-ol | 31,17 | - | - | - | - | - | - | 0,35 | - |
| 2-sikloheksen-1-ol-2-metil-5-(1-metiletetil) (Karveol) | 36,60 | - | - | - | - | - | - | 0,37 | - |
| Diterpen | | | | | | | | | |
| Cembrene | 56,45 | - | - | - | - | - | - | - | 0,59 |

Tablo 4.1. GC/MS sonuçlarına göre Anadolu'nun farklı illerine ait propolis uçucu yağların % bileşenleri (devamı)

| | RT (dak) | Ankara | Bingöl | Kastamonu | Kırklareli | Konya | Malatya | Muğla | Osmaniye |
|---------------------------------|-------------|--------|--------|-----------|------------|-------|---------|-------|----------|
| Seskiterpen | | | | | | | | | |
| (+)-Valencene | 27,60 | - | 2,24 | - | 4,16 | - | - | 8,88 | - |
| Guaiene | 28,08 | 8,04 | - | - | - | - | - | - | - |
| β -Karyofillen | 28,23 | - | 7,77 | 6,24 | - | 1,12 | - | 4,63 | 0,42 |
| α -Farnesen | 29,75 | - | - | - | - | 1,32 | - | - | - |
| Zengiberen | 29,76 | - | - | - | - | 1,32 | - | - | - |
| α -Karyofillen | 30,27 | - | 2,72 | - | - | - | - | - | - |
| α -Sedren | 30,46 | - | - | - | 1,94 | 1,98 | - | - | - |
| 10s,11s-Himachala-3(12),4-diene | 32,02 | 13,04 | - | - | - | - | - | - | - |
| α -Bisabolen | 46,91 | - | - | - | - | 0,20 | - | - | - |
| α -Kopaen | 50,26 | - | - | - | 0,97 | - | 0,26 | - | - |
| Sedren | 50,70 | - | - | - | 2,58 | - | - | - | - |
| β -Panasinsene | 55,65 | - | 2,16 | - | - | - | - | - | - |
| δ -Selinen | 55,67 | 10,11 | - | 7,54 | - | - | - | - | - |
| γ -Selinen | 57,56 | - | - | - | - | 19,88 | - | - | - |
| β -Kadinen | 56,87 | - | - | - | - | - | 0,55 | - | - |
| δ -Kadinen | 57,15 | - | - | - | - | - | 0,23 | - | - |
| İzoaromadendren | 60,87 | - | - | - | - | - | - | 0,78 | - |

Tablo 4.1. GC/MS sonuçlarına göre Anadolu'nun farklı illerine ait propolis uçucu yağların % bileşenleri (devamı)

| | RT (dak) | Ankara | Bingöl | Kastamonu | Kırklareli | Konya | Malatya | Muğla | Osmaniye |
|------------------------------|---------------------|---------------|---------------|------------------|-------------------|--------------|----------------|--------------|-----------------|
| Seskiterpenoid | | | | | | | | | |
| Karyofillenoksit | 44,54 | - | 0,58 | 0,43 | - | - | - | 5,30 | - |
| cis- trans-Nerolidol | 49,08 | - | 0,38 | - | 2,26 | 13,46 | - | - | 0,12 |
| Guaiol | 52,03 | 1,76 | - | - | - | - | - | - | - |
| α - Bisabolol | 57,85 | - | 9,44 | - | 25,45 | - | - | - | - |
| β -Karyofillen epoksit | 61,92 | - | - | - | - | - | - | 1,25 | - |
| Farnesil aseton | 62,15 | - | 7,17 | - | - | - | - | - | 0,55 |
| Benzen türevleri | | | | | | | | | |
| Benzil benzoat | 67,37 | - | - | 3,52 | 0,84 | - | - | 0,62 | - |

Tablo 4.1. GC/MS sonuçlarına göre Anadolu'nun farklı illerine ait propolis uçucu yağların % bileşenleri (devamı)

| | RT (dak) | Ankara | Bingöl | Kastamonu | Kırklareli | Konya | Malatya | Muğla | Osmaniye |
|----------------------------------|-------------|--------|--------|-----------|------------|-------|---------|-------|----------|
| Non izoprenoid bileşikler | | | | | | | | | |
| Terpinil asetat | 14,43 | - | - | - | 0,04 | - | - | - | - |
| 1,3,8-p-Menthatriene | 16,49 | - | - | 0,44 | - | - | - | - | - |
| Oktanal | 18,10 | - | - | - | 0,11 | 0,19 | - | 0,33 | - |
| Nonanal | 21,86 | - | - | - | 0,29 | 0,39 | 0,43 | 0,56 | - |
| α -Campholene aldehit | 24,79 | - | - | - | - | - | - | 1,83 | - |
| Dekanal | 25,12 | - | 0,93 | - | 1,49 | 1,16 | 0,87 | - | 0,19 |
| δ -Kurkumen | 30,61 | - | - | - | - | 1,98 | - | - | - |
| Kurkumen | 33,25 | 24,90 | - | - | - | 3,05 | - | - | 0,36 |
| Oktanoik asit | 49,66 | - | - | - | 0,16 | 0,16 | - | - | - |
| Nonanoik asit | 55,29 | - | - | - | - | - | - | 1,26 | - |
| Dekanoik asit | 59,10 | - | - | - | 1,48 | - | - | - | - |
| Heptadekan | 66,36 | - | 3,28 | - | - | - | - | - | - |
| n-Oktadekane | 61,83 | - | 1,37 | - | 0,87 | - | - | - | - |
| Dodekanoik asit | 64,29 | - | 2,10 | - | 0,49 | - | - | - | - |
| Tetradekanoik asit | 68,34 | 1,21 | 7,66 | - | - | - | - | - | - |
| Hekzadekanoik asit | 72,70 | 5,05 | 2,74 | - | 0,42 | - | - | - | - |
| Oktadekanoik asit | 78,90 | 0,72 | - | - | - | - | - | - | - |

Tablo 4.1. GC/MS sonuçlarına göre Anadolu'nun farklı illerine ait propolis uçucu yağların % bileşenleri (devamı)

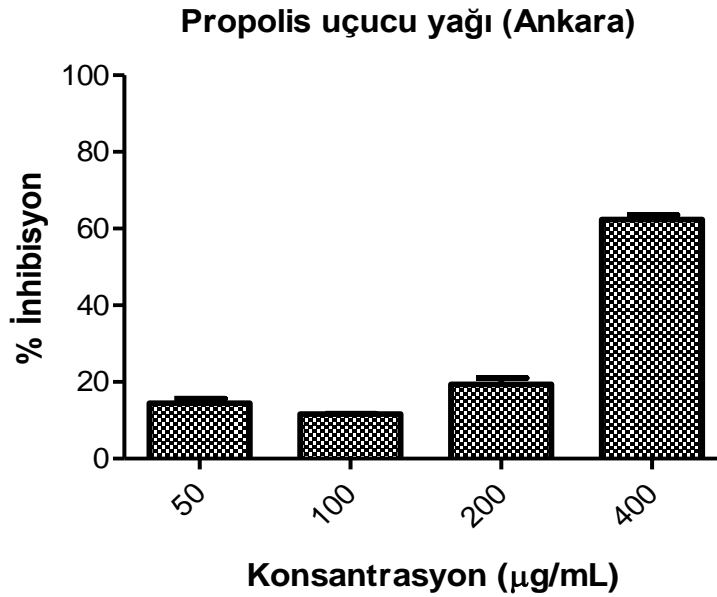
| | RT (dak) | Ankara | Bingöl | Kastamonu | Kırklareli | Konya | Malatya | Muğla | Osmaniye |
|---|-------------|--------|--------|-----------|------------|-------|---------|-------|----------|
| Aromatikler | | | | | | | | | |
| β -İonene | 41,23 | - | - | - | 0,36 | - | - | - | - |
| 1,7-dimetil naftalin | 45,25 | - | - | - | 0,17 | 0,34 | - | - | - |
| Diğer bileşenler | | | | | | | | | |
| Formosa kafur | 27,33 | - | - | 0,50 | - | 0,50 | - | - | - |
| Cyercene | 33,75 | - | - | 2,37 | 2,69 | 4,08 | - | - | - |
| Naftalin-1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil) | 35,99 | 2,29 | 0,87 | 1,93 | 2,23 | - | 1,54 | - | - |
| α -Kalakoren | 39,99 | 1,98 | 0,71 | 0,51 | 0,90 | 0,12 | - | - | - |
| α -Kopaen-11-ol | 48,48 | - | - | - | - | 2,66 | - | - | - |
| Sinnamil asetat | 54,74 | - | - | - | 0,68 | - | - | - | - |
| Heneicosane | 54,75 | - | 1,74 | - | - | - | - | - | - |
| Neozolongifolen | 55,83 | - | 2,16 | - | 14,14 | - | - | - | - |
| Eicosane | 61,64 | - | 1,37 | - | 0,87 | - | - | - | - |
| Heptakosan | 70,03 | - | - | - | 0,99 | - | - | - | - |
| Tetrakosan | 70,05 | - | 5,47 | - | - | - | - | - | - |
| 2-izoprofenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-oktahidronaftalin | 30,47 | 10,11 | - | - | - | - | - | - | - |
| (3E)-4-(2,6,6-trimetil-1-sikloheksen-1-il)-3-buten-2-on | 41,23 | - | - | - | 0,36 | - | - | - | - |

4.2. MCF-7 Hücreleri Üzerinde Propolis Uçucu Yağlarının *İn Vitro* Antikanser Özellikleri

Anadolu'nun Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye illerine ait propolis örneklerinden elde edilen uçucu yağların hücre kültür sisteminde antikanser özellikleri meme kanseri hücre hattı olan MCF-7 üzerinde araştırılmıştır. Hücre kültür sisteminde kullanılmak üzere propolis uçucu yağ ekstraktı 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlar ayrı ayrı illerin ve tüm illerin konsantrasyonunun kıyaslanmasını içerecek şekilde verilmiştir. Ayrıca bu değerlerden yola çıkılarak 24 saatlik inkübasyon sonunda IC_{30} ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

4.2.1. Ankara ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

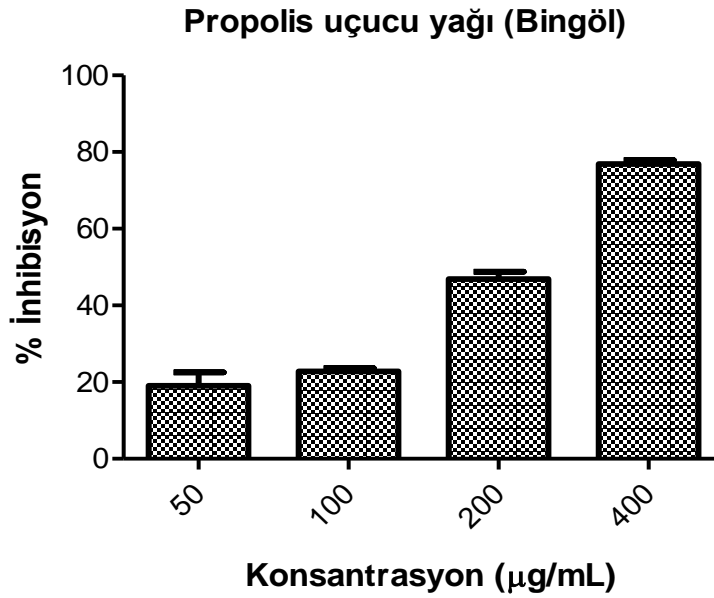
Ankara ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattındaki % inhibisyon değerleri Şekil 4.1'de verilmiştir. Uçucu yağ ekstraktının 50, 100, 200 ve 400 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonları için % inhibisyon değerleri sırasıyla $14,48 \pm 2,71$, $11,61 \pm 0,19$, $19,38 \pm 4,13$ ve $62,36 \pm 2,90$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu değerlerden yola çıkılarak IC_{30} ve IC_{50} değerleri 231,03 ve 341,04 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2).



Şekil 4.1. Ankara ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.2. Bingöl ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

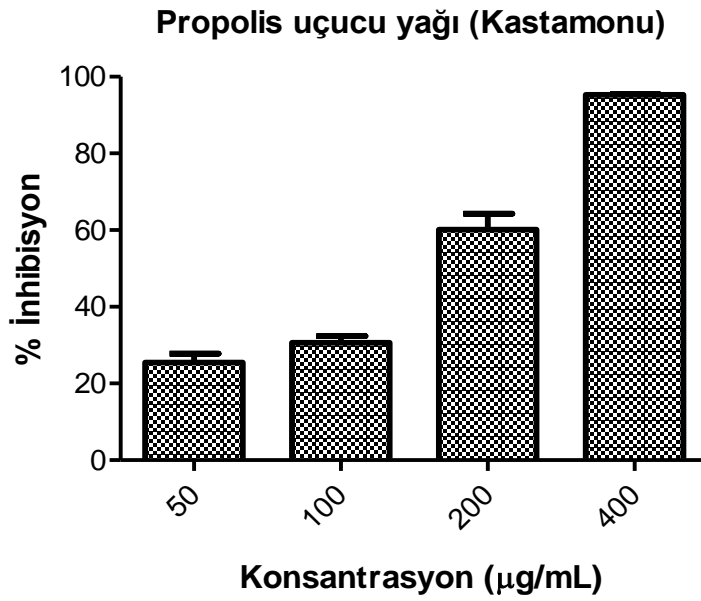
Doğu Anadolu bölgesinin arıcılık ile ünlü ili olan Bingöl propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattındaki % inhibisyon değerleri Şekil 4.2’de verilmiştir. 50, 100, 200 ve 400 µg/mL olarak uygulanan propolis uçucu yağ ekstraktı için % inhibisyon değerlerinin sırasıyla 19,01±8,75, 22,79±2,15, 46,87±4,81 ve 76,86±2,44 olduğu belirlenmiştir. Bingöl ili propolislerine ait uçucu yağ ekstraktlarının IC₃₀ ve IC₅₀ değerleri sırasıyla 121,04 ve 237,80 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2).



Şekil 4.2. Bingöl ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.3. Kastamonu ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

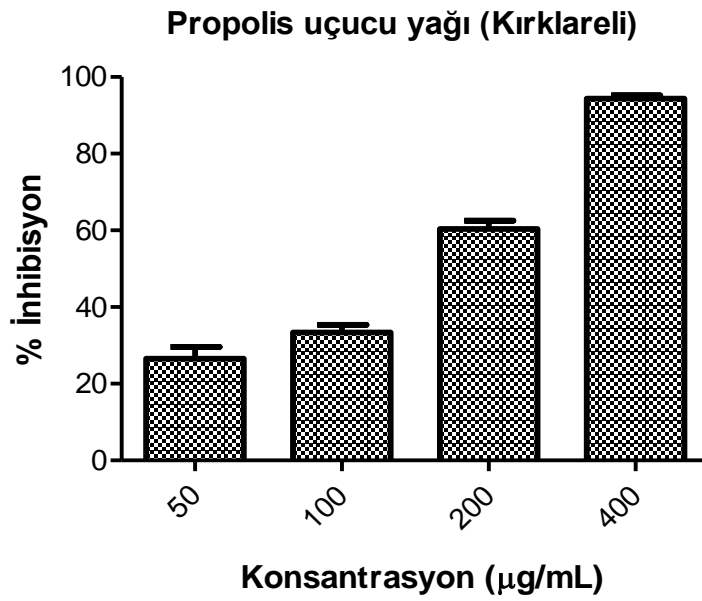
Kastamonu iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının *in vitro* hücre kültür sisteminde MCF-7 meme kanseri hücre hattındaki % inhibisyon değerleri Şekil 4.3'de verilmiştir. Bu %inhibisyon değerleri çalışılan konsantrasyonlar için sırasıyla $25,45 \pm 5,77$, $30,60 \pm 4,27$, $60,11 \pm 10,25$ ve $95,32 \pm 0,32$ olarak belirlenmiştir. Propolis uçucu yağ örneklerinin %inhibisyon değerlerine göre IC_{30} değeri $76,67 \mu\text{g/mL}$ ve IC_{50} değeri $173,62 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2).



Şekil 4.3. Kastamonu ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.4. Kırklareli ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

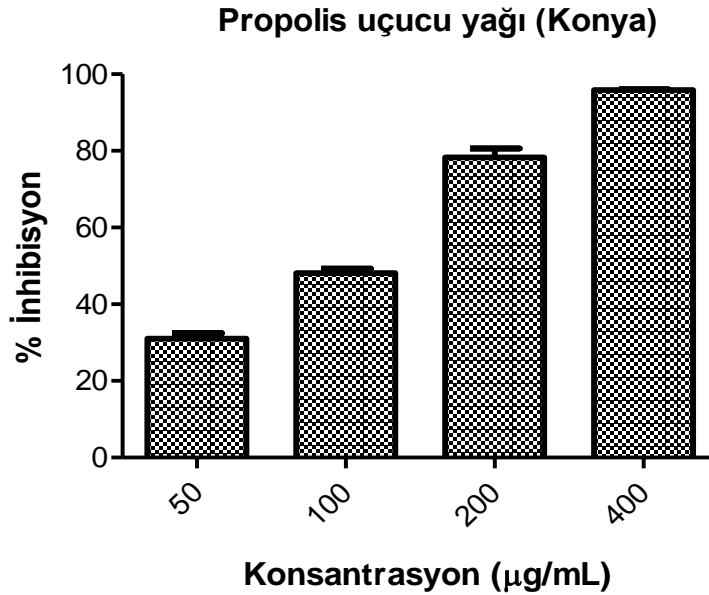
Kırklareli iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında gerçekleştirilen hücre kültür çalışmalarına göre belirlenen % inhibisyon değerleri Şekil 4.4' de verilmiştir. 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/mL}$ artan konsantrasyonlarına göre % inhibisyon değerleri sırasıyla $26,55\pm7,59$, $33,37\pm4,89$, $60,4\pm5,23$ ve $94,35\pm2,03$ olarak hesaplanmıştır. Bu inhibisyon değerlerine göre hesaplanan IC_{30} ve IC_{50} değerleri sırasıyla 68,02 ve 169,03 $\mu\text{g/mL}$ 'dir (Tablo 4.2).



Şekil 4.4. Kırklareli ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.5. Konya ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

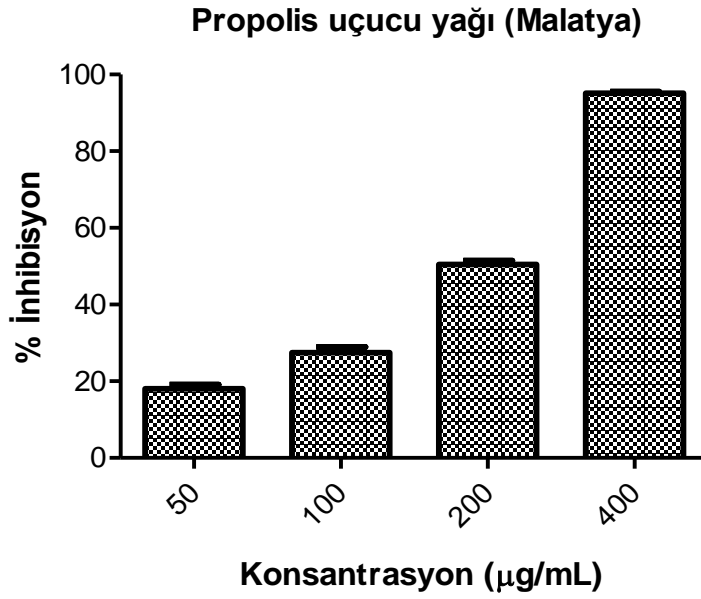
Konya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktları kullanılarak MCF-7 hücre hattı üzerine yapılan uygulamalar neticesinde elde edilen % inhibisyon değerleri Şekil 4.5'de verilmiştir. % İnhibisyon değerleri çalışılan konsantrasyonlarda sırasıyla $31,03 \pm 3,56$, $48,11 \pm 2,89$, $78,27 \pm 5,71$ ve $95,90 \pm 0,24$ olarak belirlenmiştir. Elde edilen % inhibisyon değerlerine göre IC_{30} değeri 44,89 ve IC_{50} değeri 108,61 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2). Sonuçlar değerlendirildiğinde çalışılan illere ait propolis uçucu yağ ekstraktları içerisinde en yüksek antikanser aktivitenin Konya iline ait propolis örneğinde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.5. Konya ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.6. Malatya ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

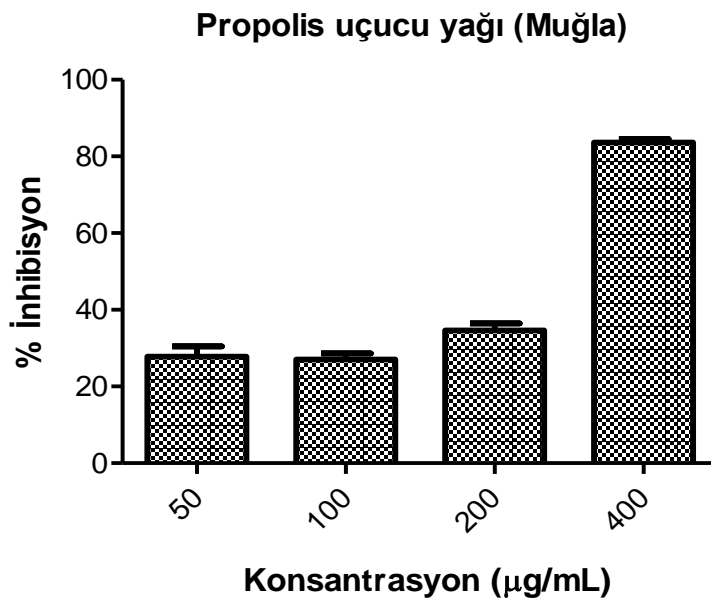
Malatya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının % inhibisyon değerleri Şekil 4.6'da verilmiştir. 50, 100, 200, 400 µg/mL konsantrasyonlarına göre sırasıyla % inhibisyon değerleri 18,07±2,53, 27,43±3,76, 50,47±2,36 ve 95,13±0,91 olarak hesaplanmıştır. Propolis uçucu yağ ekstraktlarının IC₃₀ ve IC₅₀ değerleri sırasıyla 107,43 ve 197,48 µg/mL olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2).



Şekil 4.6. Malatya ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.7. Muğla yöresi propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

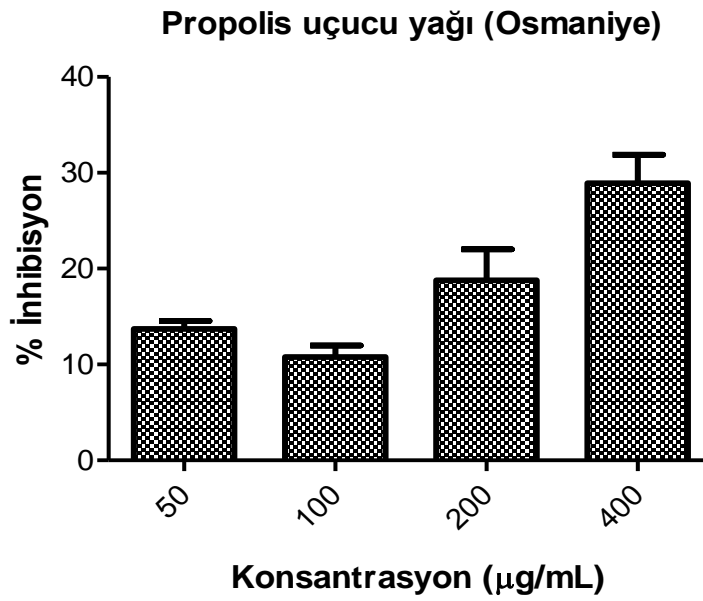
Muğla iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında gerçekleştirilen hücre kültür çalışmalarına göre belirlenen % inhibisyon değerleri Şekil 4.7’ de verilmiştir. 50, 100, 200, 400 µg/mL artan konsantrasyonlarda % inhibisyon değerleri sırasıyla 27,79±6,57, 27,03±3,91, 34,64±4,39 ve 83,64±2,12 olarak hesaplanmıştır. Bu inhibisyon değerlerine göre IC₃₀ ve IC₅₀ değerleri 139,65 ve 241,33 µg/mL olarak belirlenmiştir. (Tablo 4.2).



Şekil 4.7. Muğla ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.8. Osmaniye ili propolislerine ait uçucu yağların antikanser özelliği

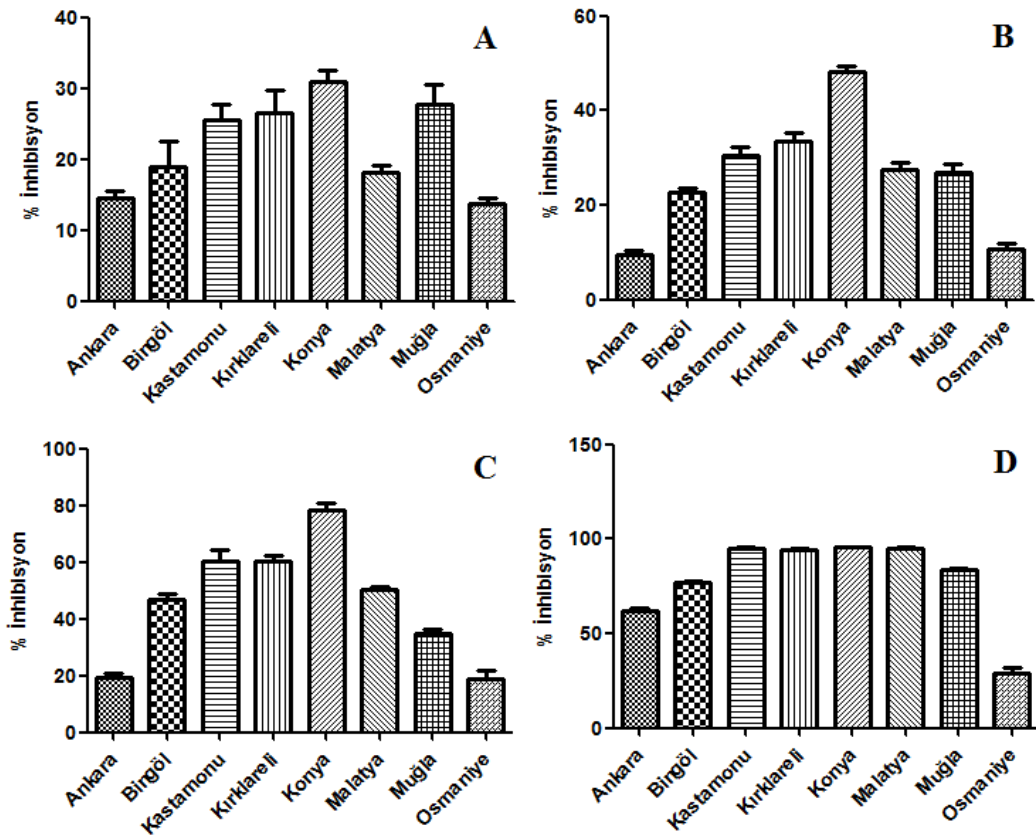
Osmaniye ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattındaki % inhibisyon değerleri Şekil 4.8’de verilmiştir. Bu %inhibisyon değerleri çalışılan konsantrasyonlar için sırasıyla $13,73 \pm 2,02$, $10,80 \pm 2,88$, $18,79 \pm 7,88$ ve $28,90 \pm 7,34$ olarak belirlenmiştir. Propolis uçucu yağ örneklerinin %inhibisyon değerlerine göre IC_{30} 411,84 $\mu\text{g/mL}$ ve IC_{50} 751,40 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2).



Şekil 4.8. Osmaniye ili propolislerine ait uçucu yağların MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerleri

4.2.9. Anadolu'nun farklı illerine ait propolislerden elde edilen uçucu yağlarının MCF-7 hücre hattındaki antikanser özelliklerinin karşılaştırılması

Anadolu'nun farklı illerine ait propolislerden elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının MCF-7 hücre hattındaki % inhibisyon değerleri konsantrasyon karşılaştırmalı olarak Şekil 4.9'da verilmiştir. Elde edilen verilere göre farklı illerden temin edilen propolis uçucu yağ ekstraktları doza bağımlı olarak hücreleri inhibe etmiştir.



Şekil 4.9. Anadolu'nun değişik yörelerine ait propolislerden elde edilen uçucu yağlarının MCF-7 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon değerlerinin karşılaştırmalı grafiği. A) 50 µg/mL propolis uçucu yağı, B) 100 µg/mL propolis uçucu yağı, C) 200 µg/mL propolis uçucu yağı, D) 400 µg/mL propolis uçucu yağı

MCF-7 hücre hattı üzerinde propolis uçucu yağ ekstraktlarının uygulanan konsantrasyonlardaki %inhibisyon sonuçları değerlendirildiğinde, Konya iline ait propolis uçucu yağının diğer illerin propolis uçucu yağlarına göre en yüksek %inhibisyon değerine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.9). Ayrıca propolis uçucu yağ ekstraktlarının %inhibisyon sonuçlarından yola çıkılarak IC₅₀ ve IC₃₀ değerleri hesaplanmıştır.

IC₃₀ değerlerinin sırasıyla 231,03 µg/mL (Ankara), 121,04 µg/mL (Bingöl), 76,67 µg/mL (Kastamonu), 68,02 µg/mL (Kırklareli), 44,89 µg/mL (Konya), 107,43 µg/mL (Malatya), 139,65 µg/mL (Muğla) ve 411,84 µg/mL (Osmaniye) olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2).

IC₅₀ değerlerinin ise sırasıyla 341,04 µg/mL (Ankara), 237,80 µg/mL (Bingöl), 173,62 µg/mL (Kastamonu), 169,03 µg/mL (Kırklareli), 108,61 µg/mL (Konya), 197,48 µg/mL (Malatya), 241,33 µg/mL (Muğla) ve 751,40 µg/mL (Osmaniye) olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Propolis uçucu yağ bileşenlerine ait *in vitro* antikanserojen aktivite sonuçları

| | IC ₃₀ (µg/mL) | IC ₅₀ (µg/mL) |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|
| Ankara | 231,03 | 341,04 |
| Bingöl | 121,04 | 237,80 |
| Kastamonu | 76,67 | 173,62 |
| Kırklareli | 68,02 | 169,03 |
| Konya | 44,89 | 108,61 |
| Malatya | 107,43 | 197,48 |
| Muğla | 139,65 | 241,33 |
| Osmaniye | 411,84 | 751,40 |

Antikanser aktivitenin bir göstergesi olarak belirlenen IC₃₀ ve IC₅₀ değerleri incelendiğinde, Konya iline ait propolis örneklerinin en düşük değere sahip olduğu, Osmaniye iline ait propolis örneklerinin ise en yüksek değere sahip olduğu görülmüştür. Sonuç olarak elde edilen bulgular Konya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının yüksek antikanser aktivite sergilediği yönündedir.

5. TARTIŞMA

Propolis, arıların dış etmenler sonucu oluşabilecek olan çeşitli hastalıklardan koloniyi korumak amacıyla ürettiği, farklı kimyasal kompozisyona sahip çok yönlü bir karışımdır (Pietta vd., 2002). Özellikle son yıllarda propolis, biyolojik özelliklerinden dolayı hastalıklara karşı koruyucu olabilme potansiyelleri nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuştur. Propolisin biyolojik aktivitesinde rol oynayan bu bileşiklerin miktar ve dağılımının coğrafi farklanma göstermesi Anadolu bölgesine ait propolislerin araştırılması gerekliliğini ortaya koymuştur. Ayrıca güncel yaklaşımlar propolis uçucu yağ ekstraktlarının içerdiği uçucu bileşenlerin antioksidan, antibakteriyel, antiviral gibi birçok biyolojik aktiviteyi bünyesinde barındırması nedeniyle uçucu bileşenlerin belirlenmesi ve etkinliğinin araştırılması yönündedir. Bu bağlamda çalışma Anadolu'nun arıcılık yetiştiriciliği ile öne çıkan bölgelerinden elde edilen propolis örneklerinden uçucu yağ ekstraktlarının eldesini, uçucu bileşenleri ve antikanser özelliklerinin belirlenmesini içermektedir. Tez kapsamında Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye'den temin edilen propolis örneklerinden Clevenger tipi hidrodistilasyon cihazı kullanılarak uçucu yağlar elde edilmiştir. GC/MS analiz yöntemi ile uçucu yağ ekstraktının içerdiği uçucu bileşenler belirlenmiş ve bunların *in vitro* antikanser özellikleri MCF-7 meme kanseri hücre hattında incelenmiştir.

Çalışma sonuçlarımıza göre Ankara iline ait propolis örneklerinde ana uçucu yağ bileşenleri olarak kurkumen (%24,90), 10s,11s-himachala-3(12),4-diene (%13,04), δ -selinen (%10,11), 2-izoprofenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-oktahidronaftalin (%10,11), guaiene (%8,04), hegzadekanoik asit (%5,05) belirlenmiştir. Uçucu yağ bileşenlerinin yapısal grupları dikkate alındığında Ankara iline ait propolis örneklerinde non-izoprenoid bileşenlerinin (%31,88) yüksek miktarda bulunduğu ve ana bileşeni kurkumenin oluşturduğu görülmüştür. Bu durum uçucu yağ bileşen analizinin gerçekleştirildiği diğer illere ait propolis örnekleri ile kıyaslandığında en yüksek miktarın Ankara propolisine (%24,90 kurkumen) en düşük miktarın ise Osmaniye propolisine (%0,36 kurkumen) ait olduğu saptanmıştır.

Bingöl iline ait propolis uçucu yağ ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler arasında yüksek oranda α -bisabolol (%9,44), β -karyofillen (%7,77), tetradekanoik asit (%7,66), farnesil aseton (%7,17), tetrakosan (%5,47) ve heptadekan (%3,28) bileşenlerinin varlığı tespit edilmiştir.

Bingöl iline ait propolis uçucu yağ bileşenlerinin %18,08'ni non-izoprenoid bileşenleri oluşturmakta olup bu grup içerisinde yer alan heptadekan (%3,28) bileşeni diğer illere ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında tespit edilmemiştir.

Kastamonu iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında yüksek oranda bulunan uçucu bileşenlerin δ -selinen (%7,54), α -pinen (%7,04), β -karyofillen (%6,24), α -terpineol (%6,71), benzil benzoat (%3,52) ve borneol (%3,19) olduğu belirlenmiştir. Propolis uçucu yağ ekstraktının analiz sonuçları değerlendirildiğinde, üç izopren grubunun birleşmesi ile oluşan seskiterpen yapılarından (%13,78) oluştuğu görülmüştür.

Kırklareli iline ait propolis örneklerinde gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre yüksek miktarda α -bisabolol (%25,45), neoizolongifolen (%14,14). (+)-valencene (%4,16), cyercene (%2,69), sedren (%2,58) ve cis-trans-nerolidol (%2,26) olmak üzere toplam 29 farklı uçucu bileşen tespit edilmiştir. Ayrıca bu bileşenler arasında seskiterpenoid grubuna ait olan α -bisabolol uçucu yağ bileşeni Bingöl iline ait propolis örneklerinde % 9,44 oranında bulunurken, Anadolu'nun diğer illerine ait propolis örneklerinde bulunmamıştır.

Konya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının analiz sonuçları değerlendirildiğinde yüksek oranda γ -selinen (% 19,88), cis-trans-nerolidol (%13,46), cyercene (%4,08), kurkumen (%3,05), α -kopaen-11-ol (%2,66) ve δ -kurkumen (%1,98) olmak üzere toplam 21 farklı bileşenin varlığı tespit edilmiştir. Bu bileşenler arasında %19,88' lik oran ile yüksek miktarda γ -selinen gözlenmesine rağmen diğer illere ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında bu bileşen görülmemiştir.

Malatya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının içeriğinde ise yüksek oranda naftalin-1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-1-metiletil) (%1,54), α -campholene aldehit (%0,87), β -kadinen (%0,55), nonanal (%0,43), β -mirsen (%0,28) ve α -kopaene (%0,26) uçucu bileşenlerinin varlığı belirlenmiştir. Naftalin-1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil) uçucu bileşeni Konya, Muğla ve Osmaniye dışında diğer illere ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında eser miktarda bulunmuştur.

Muğla ili propolis uçucu yağ ekstraktlarında belirlenen bileşenler β -pinen (%16,11), α -pinen (%13,41), (+)-valencene (%8,88), karyofillen oksit (%5,30), β -karyofillen (%4,63) ve α -terpineol (%4,03)'dür. Muğla iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının analiz sonuçları dikkate alındığında ana bileşenleri monoterpen yapılarının oluşturduğu belirlenmiştir. Monoterpen grubunda yer alan β -pinen bileşeni bu propolis uçucu yağ ekstraktında yüksek miktarda gözlenmiştir.

Ayrıca bu bileşen Kastamonu iline ait propolis uçucu yağ ekstraktında eser miktarda bulunmasına rağmen diğer illere ait uçucu yağ ekstraktlarında bulunmamıştır.

Osmaniye iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarının içeriğinde ise cembrene (%0,59), β -karyofillen (%0,42), farnesil aseton (%0,55), kurkumen (%0,36), dekanal (%0,19) ve linalol (%0,26) uçucu bileşenlerinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bir diterpen bileşeni olan cembrene uçucu bileşeni Osmaniye propolis uçucu yağ ekstraktında eser miktarda bulunurken diğer illere ait uçucu yağ ekstraktlarında tespit edilmemiştir.

Melliou ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Yunanistanın farklı bölgelerinden temin edilen propolisin, uçucu yağ ekstraktlarında 94 adet uçucu yağ bileşeni tespit etmiştir. Uçucu yağı ekstrete ettikleri propolisin içeriğinde ana uçucu yağ bileşenleri olarak junipen, α -pinen, manoil oksit, trans- β -terpineol, α -eudesmol, n-dekanal, guaiol, δ -kadinen, α -muurolene, sedrol, n-nonanal ve manool bileşenlerinin varlığı gözlenmiş ve bu bileşenlerin bulunma yüzdelerinin bölgeler içerisinde farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca farklı bölgelerden temin edilen propolis örneklerinin uçucu yağ ekstraktlarının önemli bir kısmını α -pinen uçucu bileşeninin oluşturduğu belirlenmiştir (Melliou vd., 2007). Ioshida ve arkadaşları ise, Brezilya propolislerine ait uçucu yağ ekstraktları üzerine yaptıkları çalışma sonucunda, %18,3 oranında α -pinen uçucu bileşeninin varlığını bildirmiştir (Ioshida vd., 2010). Tüm bu bilgiler ışığında Anadolu'nun farklı illerinden temin ettiğimiz propolis örneklerinde gerçekleştirilen uçucu bileşen analiz sonuçlarımıza göre α -pinen uçucu bileşeni Muğla ve Kastamonu illerine ait propolis örneklerinde sırasıyla %13,41 ve %7,04 oranında bulunduğu ve diğer illerimize ait propolis örneklerinde bulunmadığı tespit edilmiştir.

Biyolojik aktivite özellikleri nedeniyle dikkatleri üzerine çeken ve birçok araştırmaya konu olan Brezilya yeşil propolislerinde yapılan bir çalışmada ise, β -karyofillen (%13,4), cis-trans-nerolidol (17,1), selina-3,7(11)-diene (%10,4) ve aromadendren (%8,3) uçucu bileşenlerinin varlığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar dikkate alınarak uçucu yağ bileşenlerini tespit ettiğimiz illerimiz ile kıyaslandığında β -karyofillen uçucu bileşeninin Bingöl, Kastamonu, Konya, Muğla ve Osmaniye illerine ait propolis örneklerinde sırasıyla %7,77, %6,24, %1,12, %4,63, %0,42 olduğu belirlenmiştir (Albuquerque vd., 2008).

Ayrıca cis-trans-nerolidol uçucu bileşeninin Konya iline ait propolis örneklerinde %13,46 olduğu tespit edilmiş ve bu değerın Brezilya yeşil propolislerine yakın olduğu görülmüştür.

Kocabaş ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada Erzincan iline ait propolis örneklerinde belirlenen uçucu bileşenler arasında yüksek miktarda α -bisabolol (%14,3) uçucu bileşeninin varlığını tespit etmiştir (Kocabaş, 2013). Bizim yaptığımız analiz sonuçlarına göre Bingöl iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında α -bisabolol %9,44 oranında bulunurken Kırklareli propolis uçucu yağ ekstraktlarında bu oran %25,45 olarak belirlenmiştir.

Anadolu yöresine ait propolislerin uçucu yağ içeriklerinin araştırılmasına yönelik sınırlı sayıda çalışma mevcut olup antikanser özelliklerinin araştırılmasına yönelik çalışma bulunmamaktadır. Tez kapsamında Anadolu propolislerinden elde edilen uçucu yağların *in vitro* antikanser aktiviteleri MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerinde araştırılmış olup bu yönüyle ilk niteliğindedir. Hücre kültür sisteminde propolis uçucu yağ ekstraktlarına ait konsantrasyonlar 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/mL}$ olarak çalışılmıştır. Uçucu yağların % inhibisyon değerleri hem ayrı ayrı iller hem de tüm illeri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Bu değerlerden yola çıkılarak IC_{30} ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye propolis uçucu yağlarının %inhibisyon değerleri sırasıyla $14,48 \pm 2,71$, $19,01 \pm 8,75$, $25,45 \pm 5,77$, $26,55 \pm 7,59$, $31,03 \pm 3,56$, $18,07 \pm 2,53$, $27,79 \pm 6,57$ ve $13,73 \pm 2,02$ olarak hesaplanmıştır.

100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye propolis uçucu yağlarının %inhibisyon değerleri sırasıyla $11,61 \pm 0,19$, $22,79 \pm 2,15$, $30,60 \pm 4,27$, $33,37 \pm 4,89$, $48,11 \pm 2,89$, $27,43 \pm 3,76$, $27,03 \pm 3,91$ ve $10,80 \pm 2,88$ olarak hesaplanmıştır.

200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye propolis uçucu yağlarının %inhibisyon değerleri sırasıyla $19,38 \pm 4,13$, $46,87 \pm 4,81$, $60,11 \pm 10,25$, $60,4 \pm 5,23$, $78,27 \pm 5,71$, $50,47 \pm 2,36$, $34,64 \pm 4,39$ ve $18,79 \pm 7,88$ olarak hesaplanmıştır.

400 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda Ankara, Bingöl, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Malatya, Muğla ve Osmaniye propolis uçucu yağlarının %inhibisyon değerleri sırasıyla $62,36 \pm 2,90$, $76,86 \pm 2,44$, $95,32 \pm 0,32$, $94,35 \pm 2,03$, $95,90 \pm 0,24$, $83,64 \pm 2,12$ ve $28,90 \pm 7,34$ olarak hesaplanmıştır.

Anadolu'nun illerinden temin ettiğimiz propolis uçucu yağ ekstraktları için %inhibisyon değerleri dikkate alınarak hesaplanan IC₃₀ değerleri sırasıyla, 231,03 µg/mL (Ankara), 121,04 µg/mL (Bingöl), 76,67 µg/mL (Kastamonu), 68,02 µg/mL (Kırklareli), 44,89 µg/mL (Konya), 107,43 µg/mL (Malatya), 139,65 µg/mL (Muğla) ve 411,84 µg/mL (Osmaniye) olduğu belirlenmiştir. IC₅₀ değerlerinin ise 341,04 µg/mL (Ankara), 237,80 µg/mL (Bingöl), 173,62 µg/mL (Kastamonu), 169,03 µg/mL (Kırklareli), 108,61 µg/mL (Konya), 197,48 µg/mL (Malatya), 241,33 µg/mL (Muğla) ve 751,40 µg/mL (Osmaniye) olduğu belirlenmiştir.

Propolis uçucu yağ ekstraktlarının iller bazında hesaplanan % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer Konya iline ait propolis uçucu yağ ekstraktlarında olduğu görülmüştür. Ayrıca antikanser aktivitenin bir göstergesi olarak belirlenen IC₅₀ değerinin Konya iline ait propolis örneklerinde en düşük değere sahip olması, yüksek antikanser aktivitenin bu propolis örneklerinde olduğunun bir göstergesidir. Bu propolis uçucu yağ ekstraktında, diğer illere ait örneklerde gözlenmeyen terpen grubuna ait γ-selinen (%19,88) uçucu bileşeninin varlığının tespit edilmesi yüksek antikanser aktivitenin bir göstergesi olarak düşünülebilir. Literatür incelendiğinde terpen grubuna ait uçucu bileşenlerin yüksek antikanser aktivite sergilediği ve kanser oranının azaltılmasında önemli rol oynadığı çeşitli deneyler ile belirlenmiştir (Trichopoulou vd., 2000; Greenwald vd., 2001). Ayrıca diğer illere ait IC₅₀ sonuçları değerlendirildiğinde Kırklareli ve Kastamonu propolis uçucu yağ ekstraktlarının yüksek antikanser aktivite sergilediği görülmüştür. Elde edilen bu sonuç yüksek antikanser aktivitenin görüldüğü propolis örneklerinde, α-bisabolol uçucu bileşeninin varlığının tespit edilmesi ve bu bileşenin diğer propolis örneklerinde görülmemesi ile ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak Anadolu'nun farklı illerinden temin ettiğimiz propolis örneklerinin kimyasal kompozisyonlarının toplanma bölgesine göre farklılık göstermesi uçucu bileşenlerinin ve oranlarının da farklı olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışma ile Anadolu propolislerinden elde edilen uçucu yağların antikanserojen aktivite ile ilişkisi ortaya konmuştur. Bu bağlamda gerçekleştirdiğimiz çalışma propolis uçucu yağlarının antikanser ajan olarak kullanılacağı fikrini kuvvetlendirmekle birlikte, gelecekte kanser tedavilerine yönelik gerçekleştirilen çalışmalara yön vereceği de aşikardır.

6. KAYNAKLAR

- Adam, K ., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., and Arsenakis, M. (1998). Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **46**, 1739-1745.
- Abdalla, A.E.M., Darwish, S.M., Ayad, E.H.E., El-Hamahmy, R.M. (2007). Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. *Food Chem*. **103**, 1141–1152.
- Afoulous, S., Ferhout, H., Raelison, EG., Valentin, A., Moukarzel B., Couderc, Bouajila, F. (2011) *J. Helichrysum gymnocephalum* Essential Oil: Chemical composition and cytotoxic, antimalarial and antioxidant activities, Attribution of the activity origin by correlations. *Molecules*. **16**, 8273-8291.
- Albay, M.(2008). *Bazı anthemus (asteraceae) türlerinin uçucu yağ analizleri ve antimikrobiyal aktiviteleri*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Albuquerque, L.I., Alves, A.L., Lemos, T.L.G. (2008). Constituents of the essential oil of Brazilian Green propolis from Brazil. *Journal of Essential Oil Research*. **20(5)**, 414-415.
- Al-Howiriny, T.A., (2003). Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia lanigera*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. **6(2)**, 133-135.
- Allahverdiyev, A., Duran, N., Ozguven, M., Koltas, S. (2004). Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine*. **11**, 657–661.
- Armaka, M., Papanikolaou, E., Sivropoulou, A., Arsenakis, M. (1999). Antiviral properties of isoborneol, a potent inhibitor of Herpes simplex virus type-1. *Antiviral Res*. **43**, 79–92.
- Armstrong, J.S. (2006). Mitochondrial membrane permeabilization: the sine qua non for cell death. *BioEssays*. **28**, 253–260.
- Bajpai, V.K., Rahman, A., Kang, S.C. (2008). Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol*. **125**, 117–122.
- Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D., Zhiri, A., Baudoux, D., Idaomar, M. (2006). Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatments with UVC radiation, 8- MOP plus UVA and MMS. *Mutat. Res*. **606**, 27–38.
- Bakkali, F., Averbek, S., Averbek D., Idaomar, D. (2008). Biological effects of essential oils. A review. *Food Chem. Toxicol*. **46**, 446–475.
- Bankova, V.B., De Castro, S.L., Marcucci, M.C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* **31**, 3-15.
- Bankova V. (2005). Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM*. **2(1)**, 29-32.

- Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central*. **8**, 28.
- Başer, K. H. C., (2009). Uçucu Yağlar ve Aromaterapi, *Fitomed Dergisi*. **7**, 8-16.
- Bayaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: Antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. *Akademik Gıda*. **12(3)**, 45-53.
- Bhardwaj, P., Alok, U., Khanna, A. (2013). *In vitro* cytotoxicity of essential oils: a review. *International journal of research in pharmacy and chemistr*. **3(3)**, 2231-2781.
- Borenfreund, E, Puerner, J. (1985). Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicol Lett*. **24**, 119 -24.
- Botsoglou, N., Florou-Paneri, P. Christaki, E., Giannenas I., Spais, A. (2004). Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissues as affected by dietary supplementation with oregano essential oil. *Arch. Anim. Nutr*. **58**, 209–218.
- Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). *Food and Chemical Toxicology*, **36**, 347-363.
- Burt, S., (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *Int. J. Food Microbiol*. **94**, 223–253.
- Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J. et al. (2001). Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **298(1)**, 197–200.
- Carnesecchi, S., Langley, K., Exinger, F., Gosse, F., Raul, F. (2002). Geraniol, a component of plant essential oils, sensitizes human colonic cancer cells to 5-fluorouracil treatment. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **301(2)**, 625–630.
- Carnesecchi, S., Bras-Goncalves, R., Bradaia, A. et al. (2004). Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. *Cancer Letters*, **215(1)**, 53–59.
- Castaldo, S., Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 73 Suppl **1**, 1-6.
- Ceylan, A. (1983). Tibbi Bitkiler-II. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını* No:481, Bornova-İzmir.
- Chaouki, W., Leger, D.Y., Liagre, B., Beneytout, J. L., Hmamouchi, M. (2009). Citral inhibits cell proliferation and induces apoptosis and cell cycle arrest in MCF-7 cells. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. **23(5)**, 549–556.
- Cragg, G. M., Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anticancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*. **100(1-2)**, 72–79.
- Cross, C.E., Halliwell, B. ve Borish, ET. (1987). Oxygen Radicals and Human Disease. *Ann Intern Med*. **107**, 526-545.
- Cook, J., (1989). Mitchell J. Viability measurements in mammalian cell systems. *Anal Biochem*. **179**, 1-7.

- Coşkan, C. (2013). *Mentha piperita* bitkisinden mentol bileşiğinin izolasyonu uçucu yağ ve özütlerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.
- Covan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **12(4)**, 584-582.
- Davidson, P.M. and Naidu, A.S. (2000). Phytophenols. In: Natural Food Antimicrobial Systems. Edits. *CRC Press/Taylor and Francis, New York*. 266–339,
- Deb, D.D., Parimala, G., Saravana Devi, S., Chakraborty, T., (2011). Effect of thymol on peripheral blood mononuclear cell PBMC and acute promyelotic cancer cell line HL-60. *ChemicoBiological Interactions*. **193(1)**, 97–106.
- De-Oliveira, A.C.A.X. Ribeiro-Pinto L.F., Paumgartten F.J.R. (1997). In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by b myrcene and other monoterpene compounds. *Toxicol. Lett.* **92**, 39–46.
- Dobrowolski, J.W., Vohoraq, S.B., Sharma, K., Shah, S.A., Naqvi, S.A.H., Dandiya, P.C. (1991). Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory, and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol.* **35**, 77-82.
- Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A., Hewedi, F.M., El Baroty, G.S.A. (1989). Antioxidant activity of some spices essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **66(6)**, 792-799.
- Edris, A.E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. *Phytother Res.* **21**, 308–323.
- Elegbede, J.A., Elson, C.E., Qureshi, A., Tanner, M.A., Gould, M.N. (1984). Inhibition of DMBA-induced mammary cancer by the monoterpene d-limonene. *Carcinogenesis*. **5(5)**, 661–664.
- El-massry, K.F., El-Ghorab, A.H. (2006). Effect of essential oils and non-volatile extracts of some aromatic plants on Cu-induced oxidative modification of human low-density lipoprotein (LDL). *J. Essent. Oil Bear. Plants*. **3**, 292–299.
- Engür, T. (2007). *Kayseri Propolisinin Kimyasal Yapısı ve Standardizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Evandri, M.G., Battinelli, L., Daniele, C., Mastrangelo, S., Bolle, P., Mazzanti, G. (2005). The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. *Food and Chemical Toxicology* **43(9)**, 1381-1387.
- Garcia, C., Talarico, L., Almeida, N., Colombres, S., Duschatzky, C., Damonte, B. (2003). Virucidal activity of essential oils from aromatic plants of San Luis, Argentina. *Phytother. Res.* **17**, 1073–1075.
- Ghisalberti, E.L. (1979). Propolis: a review. *Bee World*, **60**, 59-84.
- Greenwald, P., Clifford, C.K., Milner, J.A. (2001). Diet and cancer prevention. *Eur. J. Cancer*. **37**, 948–965.
- Guynot, M.E., Ramos, A.J., Seto, L., Purroy, P., Sanchis, V., Marin, S. (2003). Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. *J. Appl. Microbiol.* **94(5)**, 893–899.

- Gautam, N., Mantha, A.K., Mittal, S. (2014). Essential oils and their constituents as anticancer agents: A mechanistic view. *BioMed Research International*. **23**.
- Horvath, S. (1980). Cytotoxicity of drugs and diverse chemical agents to cell cultures. *Toxicology*. **16**, 59-66.
- Hulin, V., Mathot, A., Mafart, P. (1998). Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sci. Aliments*. **18**, 563–582.
- Ioshida, M.D.M., Young, M.C.M., Lago, J.H.G. 2010, Chemical composition and antifungal activity of essential oil from Brazilian propolis. *J Essential Oil-Bearing Plants*. **13**, 633–637.
- Jaafari, A., Tilaoui, M., Mouse H.A., et al. (2012). Comparative study of the antitumor effect of natural monoterpenes: relationship to cell cycle analysis. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **22(3)**, 534–540.
- Jayakumar, S., Madankumar, A., Asokkumar, S. et al. (2012). Potential preventive effect of carvacrol against diethylnitrosamineinduced hepatocellular carcinoma in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. **360(1-2)**, 51–60.
- Kada, T. and Shimoi, K. (1987). Desmutagens and bio-antimutagens – Their modes of action. *Bioessays*. **7**, 113–116.
- Kathirvel P., Ravi S. (2012). Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its *in vitro* cytotoxicity against HeLa and HEp-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Nat Prod Res*. **26(12)**, 1112-8.
- Kaufmann, B., Christen, P. (2002). Recent Extraction Techniques For Natural Products: Microwave-Assisted Extraction And Pressurised Solvent Extraction. *Phytochemical Analysis*, **13**, 105-113.
- Kırimer, N., Tabanca, N., Tümen, G., Duman, H., Başer, K.H.C. (1999). Composition of the Essential Oils of Four Endemic Sideritis Species from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**, 421-425.
- Kocabas, H.E.E., Demirci, B., Uzel, A., Demirci, F. (2013). Volatile composition of anatolian propolis by headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME), antimicrobial activity against food contaminants and antioxidant activity. *J Med Plants Res*, **7**, 2140–2149.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankava, V., Christov, R., Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*. **64**, 235-240.
- Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B.C., Ceyran, G. (2002). Önemli arı ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*.
- Lockwood, G.B. (2001). Techniques for gas chromatography of volatile terpenoids from a range of matrices. *Journal of Chromatography A*, **936**, 23-31.
- Legault J. and Pichette, A. (2007). Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of α -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **59(12)**, 1643–1647.
- Li, Y-J., Xuan, H-Z., Shou, Q-Y., Zhan, Z-G., Lu, X., Hu, F-L. (2012). Therapeutic effects of propolis essential oil on anxiety of restraint-stressed mice. *Human Exp Toxicol*. **31**, 157–165.

- Linskens, H.F., Jackson, J.F. (1997) Modern Methods of Plant Analysis. *Plant Volatile Analysis Springer, Germany*. **19**.
- Marcucci, M.C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutical activity, *Apidologie*, **26**, 83-99.
- Masango, P. (2005). Cleaner Production of Essential Oils by Steam Distillation. *Cleaner Production*. **13**, 883-839.
- Mccord, J.M., Fridowich, I. (1969). Superoxide Dismutase, an Enzymic Function of Erythrocyte. *J. Biol. Chem.* **244**, 6049-6055.
- Melliou, E., Stratis, E., Chinou, I. (2007). Volatile constituents of propolis from various regions of Greece - Antimicrobial activity. *Food Chemistry*. **103**, 375-380.
- Merfort, I. (2002). Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography A*. **967**, 115-130.
- Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic M., Simin, N. (2004). Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 2485–2489.
- Misra L.N., Vvry Wouatsa N.A., Kumar S, Kumar RV, Tchoumboungang F. (2013). Antibacterial, cytotoxic activities and chemical composition of fruits of two Cameroonian *Zanthoxylum* species. *Journal of Ethnopharmacology*. **148(1)**, 74-80.
- Mitic-Culafi, D., Zegura, B., Nikoli, B., Vukovi, B., Knezevi Vukcevi, J. ´ Filipi, M. (2009). Protective effect of linalool, myrcene and eucalyptol against t-butyl hidroperoxide induced genotoxicity in bacteria and cultured human cells. *Food and Chemical Toxicology*. **47(1)**, 260–266.
- Mitoshi, M., Kuriyama, I., Nakayama, H. et al. (2012). Effects of essential oils from herbal plants and citrus fruits on DNA polymerase inhibitory, cancer cell growth inhibitory, antiallergic, and antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60(45)**, 11343–11350.
- Mohamad R.H., El-Bastawesy A.M., Abdel-Monem M.G., Noor A.M., Al-Mehdar H.A., Sharawy S.M., El-Merzabani M.M. (2011). Antioxidant and anticarcinogenic effects of methanolic extract and volatile oil of fennel seeds (*Foeniculum vulgare*). *J Med Food*. **14(9)**, 986-1001.
- Morteza Y., Ali RM., Javad H., Fatemeh R., Roya R. (2012). *In vitro* cytotoxic and antimicrobial activity of essential oil from *Satureja sahendica*. *Toxicological and Environmental Chemistry*. **94(9)**, 1735-1745(11).
- Myers, M. (1998). Direct measurement of cell numbers in microtitre plate cultures using the fluorescent dye SYBR green I. *J Immunol Methods*. **212**, 99-103.
- Naik, D.G., Vaidya, H.S., Namjoshi, T.P. (2013). Essential oil of Indian propolis: chemical composition and repellency against the honeybee *Apis florea*. *Chem Biodiv*, **10**, 649–657.
- Nguefack, J., Dongmo, J.B.L., Dakole, C.D., Leth, V., Vismer, H.F., Pedersen, J.G.T., Guemdjom, E.F.N., Mbeffo, M., Tamgue, O., Fotio, D., Zollo, P.H., Nkengfack, A.E. (2009). Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus*

- vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *Int. J. Food Microbiol.* **131(2-3)**, 151–156.
- Nostro, A., Blanco, A.N., Cannatelli, M.A., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., Roccaro, A.S. and Alonzo, V. (2004). Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letters.* **230**, 191-195.
- Novgorodov, S.A., Gudz, T.I. (1996). Permeability transition pore of the inner mitochondrial membrane can operate in two open states with different selectivities. *J. Bioenerg. Biomembr.* **28**, 139–146.
- Oliveira, A.P., França, H.S., Custeer, R.M., Teixeira, L.A., Rocha, L.M. (2010). Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis essential oil. *J Venomous Animals Toxins Includ Trop Dis.* **16**, 121–130.
- Papageorgiou, G., Botsoglou, N., Govaris, A., Giannenas, I., Iliadis, S., Botsoglou, E. (2003). Effect of dietary oregano oil and alpha-tocopheryl acetate supplementation on iron-induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and heart tissues. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **87**, 324–335.
- Patricio, E., Cruz-López, L., Maile, R., Tentschert, J., Jones, G.R., Morgan, E.D. (2002). The propolis of stingless bees: terpenes from the tibia of three Frieseomelitta species. *J Insect Physiol.* **48**, 249–254.
- Pietta, P.G., Gardana, C., Pietta A.M. (2002). Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia 73 Suppl.* **1**, 7–20.
- Pinto, E., Salgueiro, L.R., Cavaleiro, C., Palmeira, A., Gonzalves, M.J. (2007). In vitro susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. *Ind. Crop. Prod.* **26(2)**, 135-141.
- Pino, J.A., Marbot, R., Zumárraga, C., Sauri, E. (2006). Volatile constituents of propolis from honey bees and stingless bees from Yucatán. *J. Essent. Oil Res.* **18**, 53-56.
- Rasooli, I., Rezaei, M.B., Alameh, A. (2006). Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-parlock*. *Food Control* **17(5)**, 359-364.
- Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M.-B., Jaimand, K., Alinezhad, S., Saberi, R., Yoshinari, T. (2009). Chemical composition and anti aflatoxigenic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control.* **20**, 1018–1024.
- Reynolds, T., Dweck, A.C. (1999). Aloe vera leaf gel: A review update. *J. Ethnopharmacol.* **68**, 3–37.
- Richter, C., Schlegel, J. (1993). Mitochondrial calcium release induced by prooxidants. *Toxicol. Lett.* **67**, 119–127.
- Sadeghi, I., Yousefzadi, M., Behmanesh, M., Sharifi, M., Moradi, A. (2013). *In vitro* cytotoxic and antimicrobial activity of essential oil from *Satureja Intermedia*. *Iranian Red Crescent Medical Journal.* **15(1)**, 70-4.
- Sahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Ağar, G., Özer, H., (2004). Biological activities of the essential oils and methanol

- extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. **15(7)**, 549–557.
- Schmid-Scheonbein, G.W. (2006). Analysis of inflammation. *Ann. Rev. Biomed. Eng.* **8**, 93–151.
- Shaaban, H.A.E., El-Ghorab, A.H., Shibamoto, T. (2012). Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. *The Journal of Essential Oil Research*. **24(2)**, 203-212.
- Shahabipour S, Javidnia, K., Firuzi, O., Miri, R. (2012). Chemical constituents and cytotoxic activity of the essential oil of *Libanotis transcaucasica* Schischk from Iran. *Research in Pharmaceutical Sciences*. **7(5)**, S745.
- Shelton, R.M. (1991). Aloe vera – Its chemical and therapeutic properties. *Int. J. Dermatol.* **30**, 679–683.
- Silici, S., Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*. **99**, 69-73.
- Da Silva, S.L., Chaar, J D.S., Figueiredo, P.D.M.S., Yano, T. (2008). Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. *Acta Amazonica*. **38(1)**, 107–112.
- Simionatto, E., Facco, J.T., Morel, F.A., Giacomelli, R.S., Linares, E.B.C. (2012). Chiral analysis of monoterpenes in volatile oils from propolis. *J. Chil. Chem. Soc.*, **3**, 57.
- Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, A. (2004). The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Contr.* **15**, 627–634.
- Tanaka, A., Shibamoto, T. (2008). Antioxidant and antiinflammatory activities of licorice root (*Glycyrrhiza uralensis*): Aroma extract. *Functional Food and Health Edits*. 229–237.
- Tanker, M., Tanker, N. (2003). Farmakognozi (3. bs.) Cilt 2. Ankara Üniversitesi Basımevi: Ankara.
- Tarján, G., Bitter, I., Strasser, B., Szatmáry, M. (2002). Data for the Gas-Liquid Chromatographic Analysis of Essential Oils. Determination of the Composition of the Essential Oil of Marjoram. *Chromatographia*. **56**, 155-163.
- Thapa, B.B., Adhikary, S.R., Amatya, K.R. (1989). Extraction of essential oil, national workshop on chemical investigation and processing of aromatic plants. *Nepal*. 71-81
- Thomson, W. (1990). Propolis. *Medical Journal of Australia*. **153**, 654.
- Trichopoulou, A., Lagiou, P., Keper, H., Trichopoulou, D. (2000). Cancer and Mediterranean dietary traditions. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **9**, 869–873.
- Tzortzakis, N.K., Economakis, C.D. (2007). Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Sci. And EmergingTech.* **8(2)**, 253–258.

- Viljoen, A.M., Subramoney, S., Vuuren, S.F.V., Başer, K. H.C., Demirci, B. (2004). The Composition, Geographical Variation and Antimicrobial Activity of *Lippia javanica* (Verbenaceae) Leaf Essential Oils. *Journal of Ethnopharmacology*. **96**, 271-277.
- Vukovic-Gacic, B., Nikcevic, Z., Beric-Bjedov, T., Knezevic-Vukcevic, J., Simic, D. (2006). Antimutagenic effect of essential oil of sage *Salvia officinalis* L. and its monoterpenes against UV induced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food and Chemical Toxicology* **44(10)**, 1730-1738.
- Wang, L., Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. **17**, 300-312.
- Wang, R., Wang, R., Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Sci. and Emerging Tech.* **10(2)**, 289–292.
- Wang W., Li N., Luo M., Zu Y., Efferth T. (2012). Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules*. **17(3)**, 2704-13.
- Wei, A., Shibamoto T. (2010). Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 7218–7225.
- Yoon, H.S., Moon, S.C., Kim, N.D., Park, B.S., Jeong, M.H., Yoo, Y.H. (2000). Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **276**, 151–156.
- Yousefzadi, M., Heidari, M., Akbarpour, M., Mirjalili, M.H., Zeinali, A., Parsa, M. (2011). *In vitro* cytotoxic activity of the essential oil of *Dorema ammoniacum* D. Don. *Middle-East Journal of Scientific Research*; **7(4)**, 511-514.
- Yu, J. Q., Lei, J. C., Zhang X. Q. (2011). Anticancer, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Lycopus lucidus* Turcz. var. *hirtus* Regel. *Food Chemistry*, **126(4)**, 1593–1598.
- Zarai, Z., Kadri, A., Chobba, I.B., Mansour, R.B., Bekir, A., Mejdoub, H., Gharsallah, N. (2011). The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids in Health and Disease*. **10**, 161
- Zarai, Z., Chobba, IB., Mansour, RB., Békir, A., Gharsallah, N., Kadri, A. (2012). Essential oil of the leaves of *Ricinus communis* L. *In vitro* cytotoxicity and antimicrobial properties. *Lipids in Health and Disease*. **11**, 102.
- Zarkovic, N. (2003). 4-Hidroxyononanal as a bioactive marker of pathophysiological processes. *Mol Aspects Med.* **24**, 281-291.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Selam GÜLGEN

Doğum Yeri ve Tarihi: MALATYA/1987

Adres: İnönü Üniversitesi, Kimya Bölümü 44280, Malatya

E-Posta: selamgulgen@gmail.com

Lisans: İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü (2008-2012)

Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı
(2012-2016)

1. TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

1.1. Gülgen S., Karaaslan M.G., Keleştemur Ü., Balcıoğlu S., İçen M.S., Erdoğan S., Ateş B. Anadolu Propolislerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonu ve *In Vitro* Antikanser Özelliklerinin Araştırılması. **XXVII. Ulusal Kimya Kongresi**, 23-28 Ağustos 2015, Çanakkale.

2. YAYINLAR

2.1. Uluslar Arası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler (SCI & SSCI & arts and humanities)

2.1.1. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Balcioğlu S., **Gulgen S.**, Demirbilek M., Denkbas E.B. Chlorogenic asit Containing Bioinspired Polyurethanes: Biodegradable Medical Adhesive Materials, *International Journal of Polymeric Materials*, 64, 611-619 (2015).

2.1.2. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G, Balcioğlu S., **Gulgen S.** Biodegradable Non-Aromatic Adhesive Polyurethanes Based on Disaccharides for Medical Applications, *International Journal of Adhesion & Adhesives*, 49, 90-96 (2014).

2.2. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

2.2.1. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Gurses C., **Gulgen S.** Poliüretan Temelli Biyoyapıştırıcılar, *Putech* (Poliüretan Sanayi Dergisi), 6(23), 22-34 (2015).

- 2.2.2. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Balcioglu S., **Gulgen S.** Sakkarit Temelli Biyouyumlu ve Biyobozunur Yapıştırıcı Poliüretan Sentezi, *Putech* (Poliüretan Sanayi Dergisi), 5(19), 20-26 (2014).
- 2.3. **Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında (Proceedings) Basılan Bildiriler**
- 2.3.1. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Kelestemur U., Acari I.K., Balcioglu S., **Gulgen S.** Synthesis and Characterization of Boric asit-Based Antibacterial and Biocompatible Tissue Adhesive, *European Polymer Congress*, 21-26 June 2015, Dresden, Germany.
- 2.3.2. Gurses C., Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Kelestemur U., Balcioglu S., **Gulgen S.** Aliphatic Polyurethanes Based on Hexamethylene Diisocyanate and Saccharides for Biocompatible Transparent Surface in Medical Devices, *European Polymer Congress*, 21-26 June 2015, Dresden, Germany.
- 2.3.3. Balcioglu S., Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Kelestemur U., **Gulgen S.** Enhancing The Adhesion Strength of Cholorogenic asit-Based Polyurethane with Iron Ligand for Tissue Engineering, *European Polymer Congress*, 21-26 June 2015, Dresden, Germany.
- 2.3.4. **Gulgen S.**, Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Kelestemur U., Balcioglu S. Biodegradable and Biocompatible Polyurethane Tissue Adhesives Using Tween/PEG/Caffeic asit As Polyol Resource, *European Polymer Congress*, 21-26 June 2015, Dresden, Germany.
- 2.3.5. Balcioglu S., Karaaslan M.G., **Gulgen S.**, Kelestemur U., Koytepe S., Ates B., Denkbas E. B. Synthesis and Adhesive Properties of Biocompatible Polyurethane–Clay Nanocomposite as a Tissue Adhesive, *1^{0th} Nanoscience and Nanotechnology Conference*, 17-21 June 2014, Istanbul, Turkey.
- 2.3.6. Acarı-Karaca İ., Karaaslan M.G., Balcioglu S., **Gulgen S.**, Ates B., Yılmaz İ. Protective effect of N-Acetylcysteine Amide (NACA), a novel antioxidant, against Paraquat-induced kidney toxicity, *44th World Chemistry Congress*, 11-16 August 2013, Istanbul, Turkey.
- 2.3.7. Balcioglu S., Karaaslan M.G., **Gulgen S.**, Koytepe S., Ates B. Synthesis and Adhesive Properties of Non-Aromatic Polyurethanes Based on Maltose for

Medical Applications. *44th World Chemistry Congress*, 11-16 August 2013, Istanbul, Turkey.

2.3.8. Gulgen S., Dogru R., Karaaslan M.G., Gungor A.A., Erdoğan S., Ates B. The Analysis of Polyphenol Component and Antioxidant Properties of Abies Cilicia Resin. *44th World Chemistry Congress*, 11-16 August 2013, Istanbul, Turkey.

2.3.9. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Balcioglu S., **Gulgen S.** Novel Biodegradable Polyurethanes Based on Catechol For Medical Adhesive Application, *44th World Chemistry Congress*, 11-16 August 2013, Istanbul, Turkey.

2.3.10. Karaaslan M.G., Ates B., Koytepe S., Balcioglu S., **Gulgen S.** Biodegradable Non-Aromatic Polyurethanes Based On Xylose For Adhesive Application, *European Polymer Congress*, 16-21 June 2013, Pisa, Italy.

2.3.11. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Balcioglu S., **Gulgen S.** Novel Biodegradable Polyurethanes Based On Caffeic asit For Medical Application, *European Polymer Congress*, 16-21 June 2013, Pisa, Italy.

2.4. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

2.4.1. Karaaslan M.G., Ateş B., Köytepe S., Vardı N., Parlakpınar H., Denkbas E.B., Balcioglu S., **Gulgen S.**, Polifenol Kaynaklı Poliüretan Doku Yapıştırıcıların Sentezi, Karakterizasyonu ve İn Vivo Uygulamaları, *XXVII. Ulusal Kimya Kongresi*, 23-28 Ağustos 2015, Çanakkale.

2.4.2. Ateş B., Köytepe S., Karaaslan M.G., Keleştemur Ü., Balcioglu S., **Gulgen S.**, Islak Ortamda Yapışmayı Sağlayan Biyomimetik Poliüretan Doku Yapıştırıcısı Sentezi, *XXVII. Ulusal Kimya Kongresi*, 23-28 Ağustos 2015, Çanakkale.

2.4.3. Erel E., Ateş B., Köytepe S., Karaaslan M.G., Gürses C., Balcioglu S., **Gulgen S.**, Medikal Malzemelerin Kaplanması İçin Kullanılmak Üzere Hexametilen Diizosiyanat ve Gallik Asit Temelli Biyouyumlu Poliüretanların Hazırlanması, *XXVII. Ulusal Kimya Kongresi*, 23-28 Ağustos 2015, Çanakkale.

3. TEZLER VE SEMİNERLER

3.1. Yüksek Lisans Seminer Konusu: “Propolisin Biyokimyasal Açıdan Önemi” , İnönü Üniversitesi, 2013.

3.2. Bitirme Tezi: “Kökner Reçinesinin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi”, İnönü Üniversitesi, 2012.

3.3.Bitirme Seminer Konusu; “Kökner Reçinesinin Antioksidan Özellikleri” Bitirme Semineri, İnönü Üniversitesi, 2012.

4. KATILDIĞI SEMİNERLER, EĞİTİMLER VE ÇALIŞTAYLAR

4.1. “4. AR-GE Proje Pazarı” Katılım Sertifikası, 1 Kasım 2014, İstanbul.

4.2. “Advanced Technologies on Health Sciences Symposium” Katılım Sertifikası, Hacettepe Üniversitesi, 15-16 Eylül 2014, Ankara.

4.3.“Uygulamalı Biyokimyada Güncel Konular” Eğitim Sertifikası, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 22-24 Ağustos 2014, Aksaray.

4.4.“SEM-Agilent Kromatografi ve Spektroskopi Çözümleri” Eğitim Sertifikası, 09 Nisan 2014.

4.5.“3. AR-GE Proje Pazarı”, Katılım Sertifikası, 2 Kasım 2013, İstanbul.

4.6.“Yüzey Analiz Teknikleri ve Uygulamaları Seminerleri” İnönü Üniversitesi, 2013, Malatya.

4.7.“Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası”, T.C. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu, 04-12 Mayıs 2013, Malatya.

4.8.“Sağlıkta Kalite Sistemi Eğitimi”, SİSBEL, 22-23 Aralık 2012, Malatya.

4.9.“HKS-Sağlıkta Hizmet Kalite Standardı”, SİSBEL, 22-23 Aralık 2012, Malatya.

4.10. “JCI-Joint Commission International Eğitim”, SİSBEL, 22-23 Aralık 2012, Malatya.

4.11. “Dökümantasyon Eğitimi”, SİSBEL, 22-23 Aralık 2012, Malatya.

4.12. “ISO 19011 Kalite ve Çevre Yönetimi Sistemleri Tetkiki Eğitimi”, SİSBEL, 24-25 Kasım 2012, Malatya.

4.13. “OHSAS 18001:2007 İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetim Sistemi Eğitimi”, SİSBEL, 24-25 Kasım 2012, Malatya.

4.14. “ISO 14001:2004 Çevre Yönetim Sistemi Temel Eğitimi”, SİSBEL, 24-25 Kasım 2012, Malatya.

- 4.15. “ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi”, SİSBEL, 24-25 Kasım 2012, Malatya.
- 4.16. “Olağanüstü Bir Öğrenme Kapasitesi ve Biricik Yetenekleri İle Her Çocuk Keşfedilmeyi Beklemektedir Konulu Yaz Okulu ” Teşekkür Belgesi, İnönü Çocuk Üniversitesi, 26 Haziran-06 Temmuz 2012, Malatya.
- 4.17. “EON C Mikroplate Okuyucu Cihazı Operatör Eğitim Sertifikası”, Pera Medikal, 16 Mayıs 2012, Malatya.
- 4.18. “Olağanüstü Bir Öğrenme Kapasitesi Ve Biricik Yetenekleri İle Her Çocuk Keşfedilmeyi Beklemektedir” Konulu Kış Kampı Teşekkür Belgesi, İnönü Çocuk Üniversitesi-TÜBİTAK İşbirliği, 1-11 Şubat 2012, Malatya.
- 4.19. “TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar” Türk Standartları Enstitüsü Kalibrasyon Merkezi Başkanlığı, 06-07 Mayıs 2011, Malatya.
- 4.20. “TS EN ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi (HACCP)” İnönü Üniversitesi Fen-Edeb. Fakültesi – Kimyagerler Derneği İşbirliği, 13-14 Mart 2010, Malatya.
- 4.21. Malatya Kayısı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü- Toprak ve Bitki Analiz Laboratuvarı, Staj, 2011, Malatya.

5. PROJELER

- 5.1. “Tween/PEG/Polifenol’un Poliol Olarak Kullanıldığı Biyobozunur ve Biyoyumlu Poliüretan Doku Yapıştırıcıların Sentezi ve Uygulaması” Araştırmacı, **Proje No: TÜBİTAK-114Z591**
- 5.2. “Anastomoz Kaçaklarının Engellenmesinde Kullanılmak Üzere Doğal Bileşenli Biyoyumlu Polimerik Yapıştırıcıların Sentezi ve Uygulanması”, Bursiyer, **Proje No: TÜBİTAK-111T104**
- 5.3. “Anadolu Propolislerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonu ve *In Vitro* Antikanser Özelliklerinin Araştırılması” **Proje No: IUBAP-2012/156**

6. BURS VE ÖDÜLLER

- 5.1. **3. AR-GE Proje Pazarı (3.'lik ödülü)**, Burhan Ateş, Süleyman Köytepe, Emir Baki Denkbaş, Sevgi Balcıoğlu, **Selam Gülgen** “Sakkarit Temelli Sağlığa Zararlı Olmayan Poliüretan Kağıt Yapıştırıcısı Üretimi”, 2 Kasım 2013, İstanbul.