



**T.C.**

**SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PALMAROSA (*CYMBOPOGON MARTINII*) ve NIOLI  
(*MELALEUCA VIRIDIFLORA*) UÇUCU YAĞLARININ  
ANTİMİKROBİYAL, ANTİTÜMÖR VE SİTOTOKSİK  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**EDA SÖNMEZ GÜRER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ**

**ANA BİLİM DALI**

**SIVAS-2018**

**T.C.**  
**SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PALMAROSA (*CYMBOPOGON MARTINII*) ve NIOLI  
(*MELALEUCA VIRIDIFLORA*) UÇUCU YAĞLARININ  
ANTİMİKROBİYAL, ANTİTÜMÖR VE SİTOTOKSİK  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**EDA SÖNMEZ GÜRER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ**  
**ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**  
**DR. ÖĞR. ÜYESİ TUTKU TUNÇ**

**SİVAS-2018**

**“Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) ve Nioli (*Melaleuca viridiflora*) Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal, Antitümör ve Sitotoksik Aktivitelerinin Araştırılması”** adlı Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Müge OĞUZKAYA ARTAN

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ATAŞ

Üye (Danışman)

Dr. Öğr. Üyesi Tutku TUNÇ

ONAY

Bu tez çalışması, 27/12/2018 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmamı manevi olarak her zaman yanımda hissettiğim canım annem  
**Hatice SÖNMEZ** 'e ithaf ediyorum.

## ÖZET

### **PALMAROSA (*CYMBOPOGON MARTINII*) ve NIOLI (*MELALEUCA VIRIDIFLORA*) UÇUCU YAĞLARININ ANTİMİKROBİYAL, ANTİTÜMÖR VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Eda SÖNMEZ GÜRER

Yüksek Lisans Tezi

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Tutku TUNÇ

2018, 83 Sayfa

Bu tez çalışmasında; *Cymbopogon martinii* bitkisinden elde edilen Palmarosa ve *Melaleuca viridiflora* bitkisinden elde edilen Nioli uçucu yağlarının, MCF-7 meme kanseri ile DU 145 prostat kanseri hücre hatları üzerine antitümör, WI-38 insan fibroblast hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitelerinin ve çeşitli bakteriler ile maya hücreleri üzerine antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri Disk Difüzyon ve Mikrodilüsyon Broth yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Antibakteriyel etki için gram-pozitif bakteri olarak *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*; gram-negatif bakteri olarak *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*; antifungal etki için *Candida albicans* suşları kullanılmıştır. Uçucu yağların çözeltileri MCF-7 meme kanseri ve DU-145 prostat kanseri hücre hatları üzerine antitümör aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla, 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml, 3,125 µg/ml, 1,56 µg/ml konsantrasyonlarda hazırlanmış ve XTT testi ile hücrelerin canlılığı tespit edilmiştir.

Palmarosa uçucu yağının 8 farklı konsantrasyonuyla gerçekleştirilen disk difüzyon yönteminde; *K. pneumoniae*, *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı ilk konsantrasyonlarda pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiğe çok yakın zon çapları oluşturduğu gözlenmiştir. *C. albicans*' a karşı antifungal etkisinin de ilk iki konsantrasyonda bulunduğu tespit edilmiştir. Mikrodilüsyon Broth yönteminde 10 farklı konsantrasyon kullanılmıştır (10000 µg/ml, 5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 625 µg/ml, 313 µg/ml, 156 µg/ml, 78 µg/ml, 39 µg/ml, 20 µg/ml). Palmarosa, en yüksek antibakteriyel etkiyi *B. cereus*' a karşı

göstermiştir (MİK: <20 µg/ml). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E.coli* ve *C. albicans* ' a karşı orta etkili, *P. aeruginosa* ' ya karşı zayıf etkili bulunmuştur. Nioli uçucu yağının 8 farklı konsantrasyonuyla gerçekleştirilen disk difüzyon yönteminde ise; sadece *K. pneumoniae* bakterisine karşı orta derecede etkili bir antibakteriyel aktivite gözlenmiştir. *C. albicans* ' a karşı antifungal etkisinin de ilk iki konsantrasyonda (200 µg/ml-8 mm, 100 µg/ml-6 mm) bulunduğu tespit edilmiştir. Nioli uçucu yağı, sadece *B. cereus* bakterisine karşı orta etkili MİK değerine ulaşmıştır (MİK: 156 µg/ml). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E.coli*, *C. albicans* ' a karşı zayıf etkili bulunmuştur (>5000 µg/ml).

Palmarosa uçucu yağının ilk 6 konsantrasyonunda MCF-7 hücreleri üzerine % 100 ile % 92,79 arasında değişen inhibisyon oranları tespit edilmiştir. Palmarosa, DU-145 hücreleri üzerine de oldukça yüksek etki göstermiştir. En yüksek konsantrasyonda (200 µg/ml) % 100 ün üzerinde hücre öldürme oranı bulunmuştur. En düşük konsantrasyonda (1,56 µg/ml) dahi % 75,43 olan kanser hücrelerini öldürme oranı oldukça yüksektir. Nioli uçucu yağının ilk 4 konsantrasyonunda MCF-7 hücreleri üzerine oldukça yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir. Nioli uçucu yağının ilk 6 konsantrasyonunda DU-145 hücreleri üzerine oldukça yüksek etki (% 80 ve üzeri) gösterdiği tespit edilmiştir. En düşük konsantrasyonda dahi (1,56 µg/ml) % 77,14 inhibisyon göstererek oldukça yüksek bir etkiye sahiptir.

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarıyla DU-145 ve MCF-7 hücre hatları üzerinde yapılan çalışmalarda, Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının özellikle DU-145 prostat kanseri hücre hattı üzerinde MCF-7 meme kanseri hücre hattına oranla daha etkili olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının antitümör aktivitelerinin yüksek olduğu dozlarda, sağlıklı WI-38 insan fibroblast hücre hattında toksisitelerinin olmadığı gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Cymbopogon martinii*, *Melaleuca viridiflora*, Antitümör, Antimikrobiyal, Sitotoksiste, Uçucu yağ

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL, ANTITUMOR, and CYTOTOXIC ACTIVITIES OF PALMAROSA (*CYMBOPOGON MARTINII*) AND NIOLI (*MELALEUCA VIRIDIFLORA*) ESSENTIAL OILS

Eda SÖNMEZ GÜRER

Master of Science. Thesis

Department of Pharmaceutical Microbiology

Supervisor: Assistant Professor Dr. Tutku TUNÇ

2018, 83 Pages

The aim of this study was to investigate the antitumor effects of essential oils Palmarosa obtained from *Cymbopogon martinii* plant and Nioli obtained from *Melaleuca viridiflora* on MCF-7 breast cancer and DU 145 prostate cancer cell lines and the cytotoxic activity on the WI-38 human fibroblast cell line. Also it is aimed to investigate the antimicrobial effects on yeast cells and various bacteria.

The antimicrobial effects of Palmarosa and Nioli essential oils were investigated by using Disk Diffusion and Mikrodilution Broth methods. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* as gram-positive bacteria for antibacterial effect; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* as gram-negative bacteria; *Candida albicans* strains were used for antifungal effect. Solutions of essential oils MCF-7 for detection of antitumor activities on breast cancer and DU-145 prostate cancer cell lines, 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml, 3,125 µg/ml, 1,56 µg/ml concentrations and the viability of the cells was determined by XTT test.

In the disc diffusion method performed with 8 different concentrations of Palmarosa essential oil; It was observed that the first concentrates against *K. pneumoniae*, *S. aureus* and *E. coli* bacteria formed a zone diameters very close to the zone diameters to the antibiotic used as positive control. The antifungal effect against *C. albicans* was also found in the first two concentrates. Microdilution Broth method used 10 different concentrations (10000 µg/ml, 5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 625 µg/ml, 313 µg/ml, 156 µg/ml, 78 µg/ml, 39 µg/ml, 20 µg/ml). Palmarosa showed the highest antibacterial effect against *B. cereus*



(MIC: <20 µg/ml). It was found to be medium effective against *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E.coli* ve *C. albicans*. And it was found to be weakly effective against *P. aeruginosa*. In the disk diffusion method, which was performed with eight different concentrations of Nioli essential oil; only a moderate effective antibacterial activity against *K. pneumoniae* was observed. The antifungal effect against *C. albicans* was found in the first two concentrates (200 µg / ml-8 mm, 100 µg / ml-6 mm). Nioli essential oil only reached the medium effective MIC against *B. cereus* bacteria (MIC: 156 µg / ml). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E.coli*, *C. albicans* were found to be weakly effective against Nioli. (> 5000 µg / ml).

It was found that the first 6 concentrations of Palmarosa essential oil had inhibition rates of 100% to 92.79% on MCF-7 cells. It also showed a high effect on DU-145 cells. At the highest concentration (200 µg / ml) a cell killing rate of over 100% was found. The rate of killing cancer cells is 75.43% even at the lowest concentration (1.56 µg / ml). It was found that Nioli essential oil had a very high effect on MCF-7 cells at the first 4 concentrations. It was found that Nioli essential oil had a very high effect (80% and over) on the first 6 concentrations of DU-145 cells. The rate of killing cancer cells with the lowest concentration (1.56 µg / ml) is 77.14%.

Palmarosa and Nioli essential oil studies on DU-145 and MCF-7 cell lines, especially on the DU-145 prostate cancer cell line MCF-7 breast cancer cell line was observed to be more effective. In addition, Palmorosa and Nioli essential oils were found to have no toxicity at healthy WI-38 human fibroblast cell line at doses which have high antitumor activity.

**Key words:** *Cymbopogon martinii*, *Melaleuca viridiflora*, Antitumor, Antimicrobial, Cytotoxicity, Essential oil

## TEŞEKKÜR

Bu alıőmanım gerekleőmesinde büyük katkıları bulunan, yardım ve desteğini esirgemeyen sevgili danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Tutku TUNÇ'a, her konuda desteğini hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ATAŞ hocama, her ihtiyacım olduğunda bana yardım elini uzatan Dr. Öğr. Üyesi Ceylan HEPOKUR ve Dr. Öğr. Üyesi Sema MISIR hocalarıma, çok uzaklarda olsa da bir an bile beni yalnız bırakmayan canım dostum Zeynep Özgen ÖZDEMİR' e, her konuda bana sonsuz destek olan ve yükümü hafifleten değerli eőim Murat Uğur GÜRER' e, küçük yaşta benimle bu mücadelenin içerisine giren canım kızlarım **Duru ve Ada** 'ya, bana 14 yıldır hem anne hem baba olan canım babam Salim SÖNMEZ' e, her zaman her konuda yardımlarını esirgemeyen sevgili kayınvalidem Hatice GÜRER ve sevgili kayınbabam Mehmet Rağıp GÜRER' e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

## Sayfa No

<b>ÖZET</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>ix</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
<b>KISALTMALAR/SİMGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1. Uçucu Yağlar Genel Bilgi.....	4
2.1.1. Palmarosa.....	6
2.1.2. Nioli .....	7
2.1.3. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Özellikleri .....	9
2.2. Kanser .....	11
2.2.1. Meme Kanseri.....	11
2.2.2. Prostat Kanseri.....	12
2.2.3. Kanser ve Uçucu Yağlar .....	12
2.3. Hücre Kültürü .....	14
2.3.1. MCF-7 .....	15
2.3.2. DU-145 .....	15
2.3.3. WI-38.....	15
2.4. Sitotoksosite Testleri.....	16
2.4.1. XTT Testi .....	17
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>188</b>
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler ve Cihazlar .....	188
3.1.1. Kullanılan Aletler ve Cihazlar .....	188
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	19
3.2. Uçucu Yağ Analizleri.....	200

3.3. Uçucu Yağların Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması.....	222
3.3.1. Kullanılan Mikroorganizmalar .....	222
3.3.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini .....	222
3.3.2.1. Disk Difüzyon (Kirby-Bauer) Yöntemi.....	22
3.3.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK/MIC).....	23
3.4. Hücre Kültürü .....	244
3.4.1. Hücrelerin Açılması, Çoğaltılması ve Pasajlanması.....	255
3.4.2. Hücrelerin Sayılması / Canlılığının Tespit Edilmesi.....	266
3.4.3. Antitümör ve Sitotoksik Aktivite Deneyleri.....	277
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>28</b>
4.1. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktiviteleri .....	28
4.1.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	28
4.1.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK/MIC).....	311
4.2. Uçucu yağların Antitümör ve Sitotoksik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi ...	311
4.2.1. Palmarosa Yağının MCF-7 ve DU-145 Hücreleri Üzerine Antitümör Aktivitesi.....	311
4.2.2. Nioli Yağının MCF-7 ve DU-145 Hücreleri Üzerine Antitümör Aktivitesi .....	37
4.2.3. Palmarosa Yağının WI-38 Hücreleri Üzerine Sitotoksik Aktivitesi .....	422
4.2.4. Nioli Yağının WI-38 Hücreleri Üzerine Sitotoksik Aktivitesi.....	444
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>48</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>53</b>
6.1. Sonuç.....	533
6.2. Öneriler .....	555
<b>KAYNAKÇA .....</b>	<b>57</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>65</b>
<b>ETİK KURUL RAPORU .....</b>	<b>66</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Çizelge 1.</b> Terpenlerin izopren birimi sayıları ve karbon atom sayılarına göre sınıflandırılması.....	5
<b>Çizelge 2.</b> Kullanılan kimyasal maddelerin adı ve markaları.....	19
<b>Çizelge 3.</b> Antimikrobiyal Aktivite Deneğinde Kullanılan Bakteri-Mantar Suşları.....	24
<b>Çizelge 4.</b> Mikroorganizma-Antibiyotik diski çizelgesi.....	25
<b>Çizelge 5.</b> Palmarosa uçucu yağının disk difüzyon sonuçları.....	28
<b>Çizelge 6.</b> Nioli uçucu yağının disk difüzyon sonuçları.....	30
<b>Çizelge 7.</b> Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının MIC sonuçları.....	31
<b>Çizelge 8.</b> Palmarosa'nın çeşitli konsantrasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerine % İnhibisyon oranları.....	32
<b>Çizelge 9.</b> Palmarosa'nın çeşitli konsantrasyonlarının DU-145 hücreleri üzerine % İnhibisyon oranları.....	34
<b>Çizelge 10.</b> Nioli'nin çeşitli konsantrasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerine % İnhibisyon oranları.....	37
<b>Çizelge 11.</b> Nioli'nin çeşitli konsantrasyonlarının DU-145 hücreleri üzerine % İnhibisyon oranları.....	39
<b>Çizelge 12.</b> Palmarosa'nın çeşitli konsantrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine % Canlılık oranları.....	42
<b>Çizelge 13.</b> Nioli'nin çeşitli konsantrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine % Canlılık oranları.....	44
<b>Çizelge 14.</b> Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının IC50 değerleri.....	47

## GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Grafik 1.</b> MCF-7 hücre hattında Palmarosa % inhibisyon grafiği.....	33
<b>Grafik 2.</b> Kontrol Optik Dansite ortalaması ile Palmarosa'nın farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücrelerini öldürme yüzdesi.....	33
<b>Grafik 3.</b> DU-145 hücre hattında Palmarosa %inhibisyon grafiği.....	35
<b>Grafik 4.</b> Kontrol Optik Dansite ortalaması ile Palmarosa'nın farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücrelerini öldürme yüzdesi.....	36
<b>Grafik 5.</b> MCF-7 hücre hattında Nioli %inhibisyon grafiği.....	38
<b>Grafik 6.</b> Kontrol Optik Dansite ortalaması ile Nioli'nin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücrelerini öldürme yüzdesi.....	38
<b>Grafik 7.</b> DU-145 hücre hattında Nioli %inhibisyon grafiği.....	40
<b>Grafik 8.</b> Kontrol Optik Dansite ortalaması ile Nioli'nin farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücrelerini öldürme yüzdesi.....	41
<b>Grafik 9.</b> WI-38 hücre hattında Palmarosa % canlılık grafiği.....	43
<b>Grafik 10.</b> Kontrol Optik Dansite Ortalaması ile Palmarosa'nın farklı konsantrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine canlılık yüzdesi.....	43
<b>Grafik 11.</b> WI-38 hücre hattında Nioli % canlılık grafiği.....	45
<b>Grafik 12.</b> Kontrol Optik Dansite ortalaması ile Nioli'nin farklı konsantrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine canlılık yüzdesi.....	46

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1.</b> <i>Cymbopogon martinii</i> .....	7
<b>Şekil 2.</b> <i>Melaleuca viridiflora</i> .....	8
<b>Şekil 3.</b> <i>Melaleuca viridiflora</i> .....	8
<b>Şekil 4.</b> Bitkilerde bulunan primer ve sekonder metabolitler.....	13
<b>Şekil 5.</b> Renkli Formazan türevini oluşturmak için XTT'nin indirgenmesi.....	17
<b>Şekil 6.</b> <i>Cymbopogon martinii</i> bitkisinden elde edilen uçucu yağın Gas Chromatography sonuçları.....	20
<b>Şekil 7.</b> <i>Melaleuca viridiflora</i> bitkisinden elde edilen uçucu yağın Gas Chromatography sonuçları.....	21
<b>Şekil 8.</b> Palmarosa'nın <i>K. pneumoniae</i> ve <i>S. aureus</i> bakterilerine karşı antibakteriyel.....	29
<b>Şekil 9.</b> Palmarosa'nın <i>K. pneumoniae</i> bakterisine karşı antibakteriyel (Disk Difüzyon Metodu) etkisi.....	30
<b>Şekil 10.</b> MCF-7 hücre hattı morfolojisi.....	34
<b>Şekil 11.</b> DU-145 hücre hattı morfolojisi.....	36
<b>Şekil 12.</b> MCF-7 hücre hattı morfolojisi.....	39
<b>Şekil 13.</b> DU-145 hücre hattı morfolojisi.....	41
<b>Şekil 14.</b> WI-38 hücre hattı morfolojisi.....	44
<b>Şekil 15.</b> WI-38 hücre hattı morfolojisi.....	46

## KISALTMALAR/SİMGELER DİZİNİ

WHO	World Health Organization
MCF-7	Michigan Cancer Foundation – 7 (Meme kanseri hücre hattı)
DU-145	Human prostate cancer cell line (Prostat kanseri hücre hattı)
WI-38	Human caucasian fibroblast cell line (İnsan fibroblast hücre hattı)
DMSO	Dimetilsulfoksit
XTT	Sodyum 3'-[1-[(fenilamino)-karbonil]-3, 4-tetrazolyum]-bis (4- methoksi-6-nitro) benzen-sulfonikasit hidrat)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DMEM	Dulbecco Modified Eagles Medium
TTC	Triphenyl Tetrazolium Chloride
FBS	Fetal Bovine Serum
PS	Penicillin-Streptomycin



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıbbi ve aromatik bitkiler antik çağlardan günümüze kadar hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır (Bayram E. ve ark., 2010). Buna bağlı olarak bitki uçucu yağları da uzun yıllardır bilimsel ve ticari olarak birçok alanda kullanılmaktadır. Bu alanların başında kozmetik, ilaç, gıda sanayi, aromaterapi ve fitoterapi gelmektedir (Hammer K.A. ve ark.,1998).

Uçucu yağların çok geniş bir kullanım alanına sahip olması birçok bilim adamının dikkatini çekmiş. Yapılan birçok araştırma sonucunda kimyasal yapıları ve biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiş ve bu özellikleri uygulamaya konulmuştur (Mouhssen L.,2004). Esansiyel yağlar bitkilerden elde edilen uçucu ve aromatik bileşiklerdir. Esansiyel yağlar bitkinin yaprak, gövde gibi özel hücre veya hücre gruplarında bulunmaktadır (Oussalah M. ve ark., 2007). Günümüzde bilinen yaklaşık 3000 adet esansiyel yağın 300 tanesi ilaç, gıda, kozmetik ve parfüm gibi farklı endüstrilerde kullanılmaktadır. Özellikle bazı uçucu bitki yağları tıbbi özellikler göstermekte ve çeşitli sistematik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Bakkali F. ve ark., 2008).

Son yıllara kadar yapılan araştırmalar sonucunda uçucu yağlarda yaklaşık olarak 2000'den fazla kimyasal bileşenin varlığı gösterilmiştir. Bu bileşiklerden en önemlileri terpenler, fenilpropanlar vb.dir. Ve yine çok sayıda su buharında uçma özelliği olan azot ve kükürt içeren bileşiklerin varlığı da tespit edilmiştir. Bu maddeler bazen tek tek veya bazen de kombin şeklinde tedavide kullanılmaktadırlar (Ceylan A.,1987).

Esansiyel yağlar monoterpenler, seskiterpenler ve bunların oksijen türevleri olarak bilenen fitokimyasallardır. Bu fitokimyasallar (Timol, anethol, mentol, karvakrol, fenolik asitler, flavonlar vb) bakteri ve fungal türlere karşı aktivite göstermekte olup bu alanda uzun zamandır araştırmalar yapılmaktadır (Souza E. ve ark., 2005; Burt S., 2004).

Kanser, hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve çoğalmasıyla meydana gelen bir hastalık olup, çağımızda başlıca ölüm nedenlerinden birisidir. Gelişmiş ülkelerdeki tüm ölüm nedenleri içinde, kardiyovasküler hastalıklardan sonra en çok ölüme neden olan hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO); 2007 yılında 7.9 milyon olan küresel kanser ölümlerinin, 2030 yılında % 45 artarak 11.5 milyona yükseleceğini bildirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü

tarafından yapılan başka bir araştırmada önümüzdeki her yıl 10 milyon yeni kanser vakasının görüleceği ve 6 milyondan fazla ölümün bu nedenle gerçekleşeceği rapor edilmiştir (Chouhan R. ve ark., 2009).

Kanser tedavisinde; tümörün organizmada bulunduğu dokuya, hastanın fizyolojik durumuna ve tümörün karakterine bağlı olarak geniş bir yelpazede çeşitli tedaviler uygulanmaktadır. Bu tedaviler arasında kemoterapi, radyoterapi, gen terapisi, immünoterapi ve monoklonal antikor terapileri kullanılmaktadır.

Günümüzde kanser tedavisinde en yaygın kullanılan tedavi yöntemleri kemoterapi ve radyoterapidir. Radyoterapide iyonize radyasyon, habis tümör hücrelerini hasara uğratıp öldürmek için kullanılmaktadır. Radyoterapi tümör tedavisinde lokal bir yaklaşımdır ve doğrudan tümör kitlesi hedeflenerek gerçekleştirilmektedir. İyonize radyasyon, hücrelerin DNA'larını doğrudan ya da serbest radikal oluşumu ile dolaylı yoldan hasara uğratmakta ve hücrenin ölümüne sebep olmaktadır (Kiltie A. ve ark., 2005).

Bugün, her üç kişiden biri kanser olmakta, her dört erkekten biri ve her beş kadından biri kanser nedeni ile ölmektedir. Bu durum kanser tedavisiyle ilgili araştırmalara büyük önem kazandırmıştır.

Bir antimikrobiyal maddede olması gereken başlıca özellik selektif toksisitedir. Selektif toksisite (seçici toksisite) kavramı ilk kez Paul Ehrlich tarafından ortaya atılmıştır. Kemoterapide kullanılan antimikrobiyal maddelerin özellikle düşük konsantrasyonlarda etkili olması ve toksik özelliğinin son derece az olması istenmektedir. Bu şekilde bir sonucun gözlenebilmesi için; antimikrobiyal maddenin hedef olarak memeli hücrelerinden ziyade, mikroorganizma hücrelerini seçmesi gerekmektedir. Bakteriler prokaryot hücrelerdir, memeli hücreleri ise ökaryottur. Prokaryot hücrede olupta ökaryot hücrede olmayan bir molekölü hedef alan antimikrobiyal maddeler (örn; penisilinler, sefalosporinler, sülfonamidler) aşırı seviyede seçici toksisiteye sahiptir. Ökaryot hücre yapısı gösteren ve dolayısı ile yapısal olarak memeli hücrelerine benzeyen mantar ve protozoonlara etkili antimikrobiyal maddeler için seçici toksisiteden söz edilemez. Virüslere etki eden ilaçlar için seçici toksisitesinden de bahsedilemez. Virüsler konak hücre ile bütünleştiğinden dolayı, konağa zarar vermeden virüse etki etmek imkansızdır. Bu nedenle viral enfeksiyonların

çoğunluğu antimikrobiyal maddelerle tedavi edilemez. Viral enfeksiyonlar antiviraller ile tedavi edilmektedir (Derbentli S.,2003).

Bu çalışmada Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) ve Nioli (*Melaleuca viridiflora*) uçucu yağlarının, MCF-7 meme kanseri ile DU 145 prostat kanseri hücrelerine antitümör, WI-38 insan fibroblast hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitelerinin ve çeşitli bakteriler ile maya hücreleri üzerine antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Uçucu Yağlar Genel Bilgi

Uçucu yağlar eski çağlardan bu yana hastalıkların tedavilerinde kullanılan kokulu doğal bileşiklerdir. Uçucu yağların halk arasında sıkça kullanılması ve kullanım alanlarındaki çeşitlilikten dolayı, bu yağlar üzerinde farmakolojik araştırmalar yapılarak, yağların biyolojik etkileri bilimsel olarak da kanıtlanmıştır (Çelik E. ve Çelik G., 2007). Bitki uçucu yağları sadece halk arasında hastalıkların tedavilerinde değil, uzun yıllardır bilimsel ve ticari amaçla farklı alanlarda da kullanılmaktadırlar. Bu alanlarda ilk sıraları kozmetik, ilaç, gıda sanayi, aromaterapi ve fitoterapi çekmektedir (Hammer K.A. ve ark., 1998). Kullanım alanlarının çeşitliliği ve yaygınlığı son yıllarda bilim insanlarının dikkatini fazlasıyla çekmiş ve bu yağların kimyasal yapıları incelenerek biyolojik aktivitelerinin olup olamadığı tartışılır duruma gelmiştir (Mouhssen L., 2004). Bitki uçucu yağları bitkilerin kimyalarında çok önemli yer edinmişlerdir. Bitkinin hücreleri içerisinde yer alan uçucu yağlar antioksidan olarak; dengeleyici ve dış etkenlere karşı koruyucu görevleri bulunmaktadır. Yapılarında birçok önemli hormon bulunmaktadır. Uçucu yağlar bitkilerin çiçek, meyve, kabuk, yaprak, kök, reçine ve odun gibi organlarında bulunabilmektedir (Çelik E. ve Çelik G., 2007; Tanker ve ark., 1990).

Bitki uçucu yağları, bitkinin bağlı bulunduğu familyaya göre belirli oranda salgı tüylerinde, salgı kanallarında, salgı hücrelerinde ve salgı ceplerinde bulunurlar. Bitkinin artık metabolizma ürünlerinin atılmasında rol oynadıkları, yaralanmalara karşı oluşan reçineyi çözebilme yeteneğine sahip oldukları bilinmektedir. Ayrıca bitki uçucu yağları etrafa yaydıkları kokular aracılığıyla tozlaşmaya yardımcı olurken, zararlı böceklerin de bitkilerden uzak durmasını da sağlarlar. Başka bir faydası da bitki uçucu yağlara sahip bitkiler sıcak iklimlerde yetiştiği için, bu yağlar havayı bağlayarak su kaybının azalmasını sağlamaktadırlar (İşcan G., 2002). Açıkta bırakıldıklarında buharlaşabilme özelliklerinden dolayı “uçucu yağ”, “eterik yağ”, “esans” gibi isimler verilen bitki uçucu yağlarının içeriğinde büyük oranda (yaklaşık %90) terpenik maddeler, terpenik hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevlerinin yanı sıra organik asitler, alkoller, fenoller ve ketonlar bulunmaktadır (Tanker M ve ark., 1976). Ayrıca terponoidler, fenil propanoid, yağ asitleri, bunların esterleri veya parçalanma ürünleri şeklinde de olabilirler. Tüm uçucu yağlar hidrokarbonlar ve onların oksijenli

türevleridir. Suda çözünebilme özelliğine sahip oksijenli bileşikler vasıtasıyla da aromatik sular elde edilmektedir. Bazı uçucu yağlar azot ve kükürt türevleri içerebildikleri gibi, alkol, asit, ester, epoksit, aldehit, keton amin, sülfid gibi bileşenler de ihtiva edebilir. Hücrelerde karbonhidrat ile bağlıdırlar ve bu durumda glikozitik bağın hidrolizi ile serbest kalırlar (Türk M., 2010).

**Çizelge 1.** Terpenlerin izopren birimi sayıları ve karbon atom sayılarına göre sınıflandırılması

<b>Terpenler</b>	<b>İzopren birimi sayısı</b>	<b>Karbon atom sayısı</b>
Monoterpenler	2	10
Seskiterpenler	3	15
Diterpenler	4	20
Sesterpenler	5	25
Triterpenler	6	30
Karotenoitler	8	40
Politerpen	> 100	> 500

Her uçucu yağın kendine özgü kokusu bulunmaktadır (İşcan G., 2002). Oda ısısında sıvı halde, bazen donabilen uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsıdırlar (Tanker ve ark., 1990). Buldukları ortamdan su, buhar, kuru distilasyon veya sıkma yoluyla serbest hale gelebilirler, suda çözünmez, petrol eteri, hekzan, eter, etanol gibi organik çözücülerin çoğunda kolaylıkla çözünürler (Baytop T. ve Başer K.H.C., 1995; Erdoğan E.A., 2014). Uçucu yağların kimyasal kompozisyonları ise Gaz Kromatografisi ve Kütle spektrometresi ile belirlenebilmektedir. Günümüze kadar uçucu yağ bileşiminde 2000'den fazla madde keşfedilmiştir. Bunların en önemlileri terpenler ve fenilpropanlardır (İşcan G., 2002; Cerit L.S., 2008).

### 2.1.1. Palmarosa

Poaceae familyasına ait *Cymbopogon* cinsi bitkiler aromaları, kokuları, kozmetik ürünleri, parfümeri ve eczacılık alanlarında ticari önemi olan uçucu yağları ile ünlüdürler. *Cymbopogon* cinsi, çok çeşitli aromatik yağ içeren yaklaşık 140 türden oluşur ve buharla damıtılma yolu ile esansiyel yağ verir. *Cymbopogon* cinsine ait esans yağlar antibakteriyel, antifungal, insektisidal ve böcek kovucu aktivitelerine sahip sitral, geraniol, sitronellol, sitronellal gibi bileşenler içermektedirler (Ganjewala D., 2009). *Cymbopogon* türleri önemli antelmintik, anti inflamatuvar, analjezik, antiageing, pestisit, antimikrobiyal, antifungal, sivrisinek uzaklaştırıcı, antioksidant aktivitelere sahiptir (Jain D. ve ark., 2011). Bununla birlikte, bu esans yağlarının biyolojik ve farmakolojik önemi son on yılda hızla genişlemiş; anti-enflamatuvar, antikanser, allelopatik etkilerinin yanısıra yararlı birçok biyolojik aktivite gözlemlenmiştir. *Cymbopogon* esans yağları ve bileşenleri, mükemmel biyolojik aktiviteler sunar ve bu nedenle çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılabilir (Ganjewala D., 2009).

*C. flexuosus*, *C. nardus* var. *nardus*, *C. citratus*, *C. pendulus*, *C. winterianus* ve *C. martinii* var. *motia* ve *sofya* ekonomik olarak önemli türler arasındadır. Bu türlerden elde edilen uçucu yağlar, tipik limon ve gül benzeri aromaları sayesinde birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Jain D. ve ark., 2011). *C. nardus*, *C. winterianus*, *C. flexuosus*, *C. citratus* gibi türlerin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ limon kokusundadır ve ekonomik olarak melisa esansından daha uygun olduğu için, bu esansın yerine kullanılmaktadır. *C. martinii* ve *C. schoenanthus* türlerinin toprak üstü kısımlarından temin edilen uçucu yağ ise gül kokusundadır ve Palmarosa adıyla gülyacı yerine kullanılır (İstanbul Üniversitesi Akademik Bilgi Sistemi).

*C. martinii* 5-8 metre yüksekliğinde Hindistan'a özgü uzun ömürlü bir bitkidir. Büyük kokulu yapraklar, uzun ince saplar ve terminal çiçekli üstleri morfolojik karakterlerdir. GC/GC-MS analiz çalışmaları ortaya koymaktadır ki *C. martinii* yağı; geraniol, geranylasetat, farnesol, terpinen, myrsen, kariyofil, humulen, selinenes, linalool, nerolidol ve limonen bileşenlerini içermektedir (Jain D. ve ark., 2011). Palmarosa olarak bilinen *C. martinii* özellikle geraniol bakımından zengin bir esansiyel yağ vermektedir (Raina V.K.,

2003). Geraniol ve geranilasetat bileşikleri toplam uçucu yağın yaklaşık % 75-90'ını oluşturmaktadır (Chauhan K.N., 2017).



Şekil 1. *Cymbopogon martinii* ([www.en.wikipedia.org](http://www.en.wikipedia.org))

### 2.1.2. Nioli

*Melaleuca* cinsi Myrtaceae familyasına ait, kışın yaprak dökmeyen ağaç ve çalılardan oluşan ve yurdumuzda yetişmeyen bir bitki türüdür. Avustralya kıtasında ve Asya' da doğal olarak yetişen, genellikle tropikal bölgelerde yayılış gösteren bir bitki türüdür. Boyu 6 m'yi bulan, gövdesi çıplak ve süngerimsi, yaprakları alternan dizilişli ve meyve türü kapsüldür (Nevin T. ve ark., 2016).

Nioli; Myrtaceae familyasından *Melaleuca viridiflora*' nın taze yapraklarından su buharı distilasyonu ile elde edilen bir uçucu yağdır. Nioli uçucu yağı yüksek oranda monoterpen ve seskiterpenler içerir (Bombarda I., 2001). Nioli uçucu yağı %60 oranında 1-8 sineol (ökaliptol) ve belirli oranlarda terpineol,  $\beta$ -Pinen, p-cymene, linalool içermektedir (Farmacia Valencia., 1981; Monti D. ve ark., 2002). 1,8-sineol bakımından zengin uçucu yağ kaynağı olup, öksürük ve soğuk algınlığı, romatizma ve nevrалjinin iyileştirilmesi için farmasötik preparatlarda ve aromaterapide kullanılır (Elliot W.R. ve Jones D.L., 1993). Dışarıdan uygulandığında fungusit ve bakterisit etkisi sebebiyle sistit tedavisinde vajinal yıkamada ve %5-15 oranındaki solüsyonları akne tedavisinde kullanılır (Nevin T. ve ark.,

2016). Soğuk algınlığı, grip, öksürük ve rinore tedavisinde kullanılan inhalasyon preparatlarının bileşimine girmektedir. Ayrıca, rubefiyon etkisi nedeniyle deriye topikal olarak uygulanmak üzere hazırlanan bazı preparatların bileşiminde yer almaktadır (Farmacia Valencia., 1981). Nioli uçucu yağı, B16 melanom hücrelerinde  $\alpha$ -melanosit uyarıcı hormona bağlı melanin üretimi ve oksidatif stresini inhibe etmektedir (Chao W. ve ark., 2017).

Yapılan çalışmalarla *Melaleuca viridiflora* bitkisinin Gram pozitif bakteriler üzerinde önemli engelleyici etkisinin olduğu belirlenmiştir (Ramanoelina A.R. ve ark., 1987).



Şekil 2. *Melaleuca viridiflora* ([www.en.wikipedia.org](http://www.en.wikipedia.org))



Şekil 3. *Melaleuca viridiflora* ([www.en.wikipedia.org](http://www.en.wikipedia.org))



### 2.1.3. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Özellikleri

Bitkiler birçok sayıda aromatik bileşikler üretme yetisine sahiptirler. Üretilen bu aromatik bileşikler genellikle fenolik ve onların oksijene bağlı türevlerinden oluşmaktadır. İkincil (sekonder) metabolitler olarak adlandırılan bu bileşiklerin şimdiye kadar yapılan çalışmalarda 12.000 tanesi izole edilebilmiştir ve bu rakam bitkilerin ihtiva ettiği tüm aromatik bileşiklerin sadece %10'unu oluşturmaktadır. Bu bileşenlerin çoğu bitkinin savunma sistemi için gerekli olmakla beraber, koku ve pigment oluşumunda rol oynayan terpenler, kinonlar ve taninler gibi başlıca bileşiklerde antimikrobiyal araştırmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır (Cowan M., 1999; Silva N.C.C. ve Fernandes J.A., 2010).

Uçucu yağların uçuculuk, hidrofobiklik ve solunum sistemine etki eden özel kokulu bileşiklere sahip olma gibi özellikleri bulunmaktadır. Bitkilerden ve bitkisel droglardan çeşitli yollarla elde edilen esansiyel yağların, deriden ve akciğerlerden kolaylıkla emilimi sağlanmaktadır. Araştırmacıların çalışmalarını bu alanda yoğunlaştırmalarının sebebi; vücuda direk ilaç şeklinde veya besinlerden katkı maddeleri olarak alınan uçucu yağların farmasötik ve genotoksik potansiyelleri hakkında daha çok bilgiye sahip olmak istemeleridir. Yapılan çalışmalar esansiyel yağların pek çok etkisinin olabileceğini göstermektedir (Kılıç A., 2005).

Antimikrobiyal özellikten yararlanılarak üretilen ilaçlara karşı, zaman içinde mikroorganizmalar dirençlilik kazanabilmektedir. Dirençteki bu artıştan dolayı enfeksiyonlarla mücadelede yeni nesil ilaçların geliştirilmesine yönelik çalışmalar büyük önem kazanmaktadır (Çelik E. ve Çelik G., 2007). Bunun yanı sıra antibiyotik dirençliliğine karşın mikroorganizmaların bitkilere karşı direnç kazanmadığı gözlemlenmektedir. Bu durum bitki veya bitki karışımlarından oluşan drogların önemini kaçınılmaz olarak arttırmaktadır (Toroğlu S. ve Çenet M., 2006). Uçucu yağların bakterilere, virüslere ve protozoonlara karşı oldukça aktif olmaları sebebiyle antibiyotik etkileri en yaygın bilinen özellikleridir. Temel yağların %60'lık bir kısmının fungus, %30' luk kısmının ise bakteri büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir (Cowan M., 1999).

Uçucu yağların en sık araştırılan yönü antimikrobiyal aktiviteleridir. Bu yağların içeriğinde çok çeşitli kompleks karışımlar olduğundan dolayı, etki dereceleri içeriklerindeki etken maddelerin miktar ve çeşitliliğine göre farklılık göstermektedir. Etki mekanizmaları

hakkındaki bilgilerinin yetersizliği ile beraber, bunun sebebinin yağların lipofilik özellikte olması ve kimyasal yapılarıyla ilgili olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan alışma ile esansiyel yağların Gram (-) ve Gram (+) bakteriler dâhil, pekçok mikroorganizma üzerine antibakteriyel etki göstermekte olduğu kanıtlanmıştır (Bayaz M., 2014). Uçucu yağlar içeriğinde çok sayıda bileşene sahip olduğundan dolayı, direk bir hedef bölgeye etki etmesi söz konusu değildir. Uçucu yağların sebep olduğu sitoplazma koagülasyonu lipit ve proteinlerde hasar oluşturmakta ve bunun sonucunda hücre duvarında ve membranda görülen bu hasar, makromoleküllerin akışına etkileyerek lizize neden olmaktadır (Erdoğan E.A., 2014). Araştırmacılara göre, doğal bileşikler hücrelerin doğrudan ya da dolaylı olarak biyokimyasal süreçlerini etkilemekte ve fizikokimyasal bütünlüğü hasara uğratmaktadır. Özellikle hidrofobik yapıya sahip olan terpenler, hücre duvarı ile etkileşime girerek hücre duvar bütünlüğünü bozmaktadır. Terpenlerin hidrofobik özelliği hücre duvarındaki lipitler ile etkileşimine ve lipitlerin bir arada toplanmasına, bunun sonucu olarakta zarın geçirgenliğinin artmasına sebep olmaktadır (Erdoğan E.A., 2014).

Antimikrobiyal tedavinin temelindeki en önemli kavram seçici toksisitedir. Kısaca konağa zarar vermeden mikroorganizmaların baskılanması, engellenmesi işlemi olarak tanımlanabilir. Seçici toksisite mikroorganizmalar ile insan hücreleri arasında yapı ve metabolizma farklarının ortaya çıkarılması ile oluşabilmektedir. Penisilinler ve sefalosporinler peptidoglikan sentezini önlemeleri sebebiyle bakteri üremesini inhibe etmekte, buna karşı insan hücrelerinin üremesini engellemedikleri için etkin antibakteriyal ajanlar olarak kabul edilmektedirler (Levinson W. ve Jawetz E., 1997).

Uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri, yağın konsantrasyonuna, bileşenlerine, bileşenlerinin yapısal özelliklerine, konfigürasyonlarına, yan gruplarına ve bu bileşenlerin birbirleriyle olan etkileşimlerine bağlı olarak değişmektedir. Fenolik bileşikler olarak bilinen bu sınıfın üyelerinin hem bakteriyosidal hem de bakteriyostatik ajanlar olduğu bilinmektedir. Bu bileşikler belli bir orana kadar suda çözünmüş hallerinde oldukça aktiftirler. Formaldehit, Glutaraldehid gibi aldehitler ise bakterilerde elektronegatif etkiyi artırarak antimikrobiyal etki sağlamaktadır. Bakteriyostatik ve fungistatik etkinin terpenlerin karbonillenmesi sonucu arttığı belirlenmiştir (Dorman H.J.D. ve Deans S.G., 2000).

## **2.2. Kanser**

Kanser; Latince anlamı ‘yengeç’ (cancer) olan, kontrolsüz bir şekilde hücre çoğalması sonucu meydana gelen 100’den fazla çeşidi bulunan kötü huylu bir hücre hastalığıdır (Gündüz S.G., 2010). Gelişmiş ülkelerdeki tüm ölüm nedenleri içinde, kardiyovasküler hastalıklardan sonra en çok ölüme neden olan hastalık kanserdir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO); 2007 yılında 7,9 milyon olan global kanser ölümlerinin, 2030 yılında % 45 artarak 11,5 milyona yükseleceğini bildirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan başka bir araştırmada önümüzdeki her yıl 10 milyon yeni kanser vakasının görüleceği ve 6 milyondan fazla ölümün bu nedenle gerçekleşeceği rapor edilmiştir (Chouhan R. ve Baipai A.K., 2009). Kanseri çeşitleri arasında en sık rastlanılan tür akciğer kanseridir. Bu hastalığı sırasıyla; meme, kolon, karaciğer, prostat, serviks ve mide kanserleri izlemektedir. Her iki cinsiyeti göz önüne alacak olursak akciğer kanseri ilk sırayı, meme kanseri ikinci sırayı almaktadır.

Kanser, kontrolsüz biçimde bölünen hücrelerin birikerek tümör adı verilen yapıları oluşturması şeklinde gözlemlenebilir hale gelmektedir. Tümörler dokulardaki davranışlarına göre üç ayrı sınıfa ayrılmaktadırlar. İyi huylu tümörler herhangi bir dokuda oluşabilmekte ve dokuda basınç stresi yaratmakta, ancak yayılım göstermemektedirler. Insitu tümörler genelde epitel dokuda görülmektedirler. Kanseri hücresi morfolojisine sahip olmakla birlikte dokularda yayılım göstermemektedirler. Habis karakterli tümörler ise diğer dokulara yayılabilmekte ve organizmanın yaşamı için tehlike yaratmaktadırlar. Kanseri hücrelerin başlıca özellikleri, artmış bir proliferasyon, düzenleyici proteinlerin kaybolmuş olması, genomik bir değişkenlik ve ölümsüzlüktür (Franks L.M. ve ark., 2005).

### **2.2.1. Meme Kanseri**

Meme kanseri; meme dokusundaki hücrelerde oluşan, kadınlar arasında en sık görülen kötü huylu tümördür. Dünya çapında kadınlarda görülen kanserlerin yaklaşık % 30’u meme kanseridir (Eti A.F. ve Gürkan A., 2007).

Dünya Sağlık Örgütü’nün verilerine göre 2012 yılında teşhis edilen 1,67 milyon yeni meme kanseri hastası ile meme kanseri dünyada sık görülen kanser türleri arasında ikinci sırada, kadınlarda görülen kanser türlerinin % 25’ini oluşturarak kadınlar arasında en sık

görülen kanser türü olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü'nün tahmini verilerine göre; Türkiye'de 2015 yılı içerisinde 17.034 kadına yeni meme kanseri teşhisi konulmuştur. 2015 yılı içerisinde kadınlar arasında meme kanserine bağlı 6.023 ölüm gerçekleştiği belirtilmektedir. 2020 yılında kadınlar arasında 19.025 yeni meme kanseri teşhisi konulacağı ve 6.915 kadının meme kanseri nedeni ile hayatını kaybedeceği öngörülmektedir (WHO., 2015).

### **2.2.2. Prostat Kanseri**

Prostat kanseri gelişmiş ülkelerde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde erkeklerde cilt kanserleri dışında en sık görülen kanser tipidir (Gronberg H., 2009). Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Dairesi Başkanlığı verilerine göre; Prostat kanseri ülkemizde erkeklerde görülen kanserler arasında 1999 verilerine göre % 5,2'lik oranla 6. sırada (Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Dairesi Başkanlığı Verileri., 2011), 2004 tarihli Gülhane askeri Tıp Akademisi (GATA) poliklinik verilerine göre %3,2'lik oranla 8. sırada (Kılıç Ş. ve ark., 2007), 2007 tarihli Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi kayıtlarına göre ise % 6,1'lik oranla 6. sırada (Haydaroglu A. ve ark., 2007) yer almaktadır. Prostat kanseri riski yaşın ilerlemesi ile doğru orantılı olarak artış gösterir ve ortalama tanı konma yaşı 60 yaş civarındadır (Gronberg H., 2009).

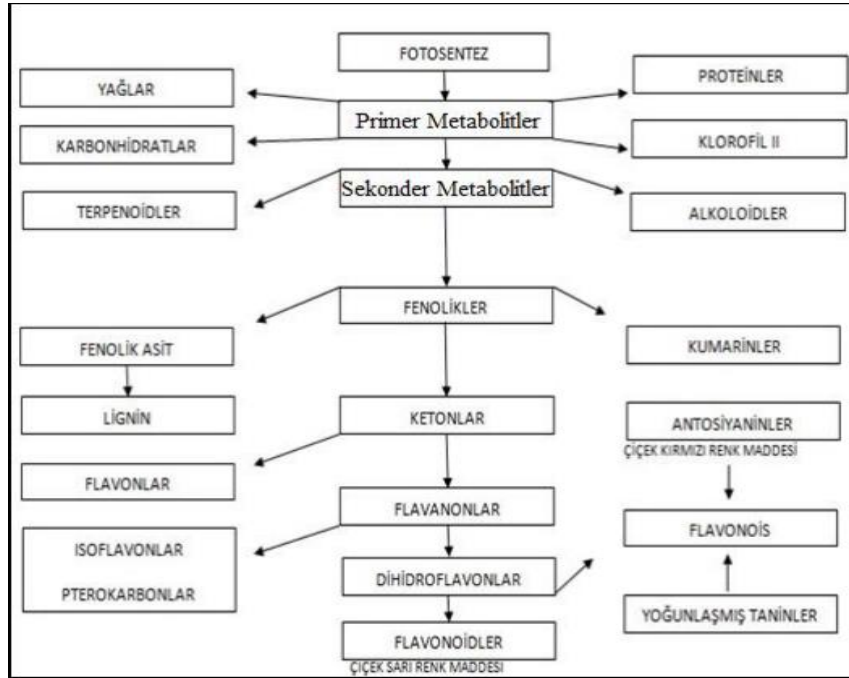
Bütün kanserler arasında prostat kanseri yaşla beraber en hızlı artış gösteren kanser türüdür. İnsidansları belli bir yaşta pik yapan birçok kanserin aksine yaşın ilerlemesiyle prostat kanseri insidansı da artmaktadır. Prostat kanseri için yaşa bağlı olarak artış, katı yağ, hayvansal yağ ve kırmızı et tüketimi ve obezite gibi çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır. Ayrıca likopen, selenyum, omega-3 yağ asitleri ve E vitamini alımının koruyucu olduğu kalsiyumun ise riski arttırdığı gösterilmiştir (Arpa M., 2013).

### **2.2.3. Kansere ve Uçucu Yağlar**

Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan ilaçların birçoğunun etken maddesi doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Bu doğal kaynakların büyük kısmını ise çok çeşitli kimyasal maddeler sentezleyebilen bitkiler oluşturmaktadır. Bitki kimyasalları antikanser etkilerini karsinogen inaktivasyonu, antiproliferasyon, hücre döngüsünün askıya alınması, apoptoz ve farklılaşmanın indüksiyonu, anjiyogenezin baskılanması, antioksidasyon ve çoklu ilaç direncinin azaltılması gibi mekanizmalar ile göstermektedir (Vauzour ve ark., 2010).

Fitokimyasallar yenilebilir meyve ve sebzelerin içeriğindeki bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Kanser, diyabet, koroner kalp hastalığı, inflamasyon, viral ve parazitik hastalıklara karşı fitokimyasalların yararları ile ilgili bilimsel araştırmalar son derece önem kazanmaktadır (Tarañçı Ö., 2014).

Fitokimyasallar primer ve sekonder metabolitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Primer metabolitler, bitkilerin fotosentez ürünleridir. Amino asitler, klorofil yağlar, proteinler ve karbonhidratlar gibi bileşikler primer metabolitler sınıfındadır. Doğada yaygın bulunan primer metabolitler, yüksek bitkilerin tohum ve vejetatif dokularında fazla miktardadır. Bitkinin büyümesi, gelişimi, metabolizması veya savunması ile ilgili katkılarından dolayı bitkinin fizyolojik gelişiminde önemli görevleri bulunmaktadır. Sekonder metabolitler ise, primer metabolitlerden biyosentez yol ile üretilmişlerdir. Şekil 4’ de görüldüğü gibi sekonder metabolitler çeşitli bileşikler içermektedirler. Bu metabolitler herbivor, bakteri ve fungal patojen tehlikelerine karşı bitkiyi korur, tozlaşmaya yararlı olan organizmaları, böcekleri kendilerine çekerler ve simbiyotik ilişkilerde rol oynarlar. Işık, ultraviyole, su, mineral madde ve sıcaklık değişimleri gibi unsurlara karşı bitkiyi korurlar (Oskay M. ve Oskay D., 2009)



Şekil 4. Bitkilerde bulunan primer ve sekonder metabolitler (Oskay M. ve Oskay D., 2009)

Fazla sayıda bileşik içeren sekonder metabolitler içinde bulunan fenolik bileşikler, sahip oldukları görevler sebebi ile büyük önem taşımaktadırlar. Bu bileşikler özellikle antimikrobiyal ve antikanser etkileri ile ön plana çıkmıştır. Buna ilaveten fenolik bileşiklerin, nükleik asitlere, somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldırarak çeşitli hasarlara sebep olan serbest radikal gibi bileşikleri kendilerine bağlayıp güçlü antioksidan etki gösterdikleri kaydedilmiştir (Çetin E.S., 2010)

### **2.3. Hücre Kültürü**

Hücre kültürü, bir organ veya dokudan alınan hücrelerin, uygun fizikokimyasal ve biyolojik işlemler sonucu in-vitro koşullarda çoğaltılması işlemidir. Hücre kültürü ile ilgili çalışmalar 1907 yılında Ross Harrison'un kurbağa embriyolarında yapmış olduğu çalışmalara dayanmaktadır. İlerleyen yıllarda uygun kültür besi ortamlarının geliştirilmesi ve besi ortamının içine antibiyotik eklenmesi kontaminasyon sorununu çözmüş ve bu teknolojinin, hastalıkların patogenezinin araştırılmasında, ilaç denemelerinin ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde birinci basamak çalışma içine girmesinin yolunu açmıştır (Özçimen A. ve Tiftik R.N., 2005).

Hücre kültürü yönteminin temel prensibi, canlı dokulardan alınan parçaların in vitro koşullarda yaşamlarını sürdürerek üremelerini sağlamaktır. Kültür ortamındaki hücreler, vücut ısısında ve vücudun fizyolojik özelliklerini taklit eden, plazma ve serum aminoasit ve mineralleri, şeker ve tuzları, vitamin ve antibiyotikleri ve hayvan embriyo ekstratlarını içeren besi yerlerinde üretilmektedirler (Demirci T., 2013). Ökaryot veya prokaryot hücreler in vitro olarak geliştirilebilmekte ve çoğaltılabilmektedirler. Günümüzde hücre kültürleri üzerinde yapılan araştırmalar, konu ile ilgili çalışmalar arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kanser türleri gibi çeşitli patolojik durumlarda bir maddenin etkileri ve işlevlerini belirlemek amacıyla, in vitro hücre kültürü üzerinde araştırmalar yapılarak in vivo ortamda uygulanabilecek sonuçlara ulaşılabilir. Hücreler pasajlanarak fazla miktarda elde edilebilir, karakterizasyonu yapılabilir, uygun besiyerinde üretilerek fiziksel ayırım yapılabilir ve belirli bir hücre grubu dondurularak saklanabilir (Tunç T., 2013).

Hücre Kültür Modelleri genel olarak primer, diploid ve devamlı hücre kültürleri şeklinde sınıflandırılırlar.

**Primer hücre kültürleri;** direk olarak dokudan elde edilen kültür çeşidine primer hücre kültürü adı verilir. Bu kültürler elde edildikleri dokunun tüm özelliklerini taşırlar. Sıklıkla homojen olmayan bir yapı gösterirler. Primer kültürde yapılan pasajlama işlemi sonucunda hücreler yaşlanarak ölürler (Aydoğar A., 2012).

**Diploid (Sekonder) hücre kültürleri;** stok kültürden organizmayı alıp, taze besi yerine transfer ederek yapılan kültür şeklidir. Histolojik olarak tek bir hücre tipinden oluşur ve az sayıda pasajı yapılabilir. Sonrasında bölünme yeteneklerini kaybederler (Ustaçelebi Ş., 1991).

**Devamlı hücre kültürleri;** kanser hücreleri gibi anormal ya da dönüşüme uğramış ve sınırsız çoğalabilen hücre kültürleridir. Bunlar in vitro olarak, hücrenin spontan veya kimyasal ajanlarla transformasyonu sonucu veya tümörden izole edilmiş hücrelerden yapılırlar. Bir hücre kültürünün devamlı sayılabilmesi için en az 50 subkültürünün yapılmış olması gerekir. Genellikle bu hücreler in vitro kültür boyunca geçirdikleri mutasyonlar sebebi ile morfolojik ve biyokimyasal özellikleri açısından orijinal hücrelerden çok daha farklıdırlar (Ustaçelebi, Ş., 1991; Ryan, K.J., 1994; Boyd, R.F., 1995).

### **2.3.1. MCF-7**

MCF-7 hücre hattı: İlk kez Kafkas ırkından olan 69 yaşındaki bir kadından alınan kanserli dokudan geliştirilmiştir. İnsan meme kanseri hücre hattı olup, morfolojik olarak aderent bir yüzeye tutunarak büyüyen fibroblast benzeri hücrelerdir (<http://www.lgcstandards-atcc.org> ., Erişim tarihi: 29.10.18).

### **2.3.2. DU-145**

DU-145 hücre hattı: İlk kez Kafkas kökenli bir erkekten alınan kanserli dokudan geliştirilmiştir. İnsan prostat kanseri hücre hattı olup, morfolojik olarak aderent bir yüzeye tutunarak büyüyen fibroblast benzeri hücrelerdir (<http://www.lgcstandards-atcc.org> ., Erişim tarihi: 29.10.18).

### **2.3.3. WI-38**

WI-38 hücre hattı: İlk kez Kafkas kökenli 3 aylık gebe bir kadından alınan (3 aylık gestasyon fetüsü) normal embriyonik akciğer dokusundan türetilmiştir. İnsan normal hücre hattı olup,

morfolojik olarak aderent bir yüzeye tutunarak büyüyen fibroblast benzeri hücrelerdir (<http://www.lgcstandards-atcc.org> ., Erişim tarihi: 29.10.18).

#### 2.4. Sitotoksikite Testleri

Canlı hücre sayısının ve hücre proliferasyonunun doğru ve hızlı tespiti hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda deneysel aşamada önemlidir. Hücre canlılığı, bir örnekteki canlı hücrelerin sayısı olarak tanımlanabilmektedir. Canlı hücre sayısını belirlemede en çok tercih edilen yöntem, hemositometredir. Hücre proliferasyonu ise; bir kültürde bölünen hücrelerin sayısının ölçülmesi olarak tanımlanmaktadır. Hücre proliferasyon yöntemleri genellikle hücre biyolojisinde büyüme faktörlerini ve ortam bileşenlerini çalışmak için, sitotoksik ajanları ve hücre aktivasyonunu görüntülemek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Genel olarak Sitotoksikite Testleri şu şekilde sıralanabilir:

- Agar Difüzyon Testi
- Agarose Overlay Testi
- LDH Testi (laktat dehidrogenaz)
- MTS Testi (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium)
- MTT Testi (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
- XTT Testi (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide)
- WST-1 Testi (2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium)
- Trypan Blue Testi
- Neutral Red Testi
- Canlı hücrelerde DNA' yı işaretlemek için radyoaktif timidin kullanılması
- Canlı hücrelerde DNA' yı işaretlemek için BrdU kullanılması (Reis R.L., 2005).

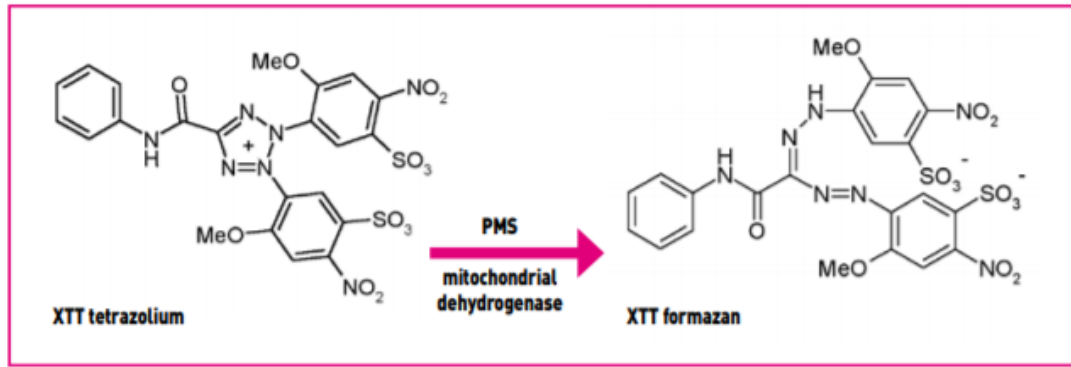


### 2.4.1. XTT Testi

XTT metodu ilk olarak 1988 yılında P.A. Scudiero tarafından adlandırılmıştır. XTT metotunun kullanıma başlanması, proliferasyon ölçümü prosedürünü büyük oranda rahatlatmıştır. Bu kit, hücre proliferasyonunun çeşitli büyüme faktörleri ve besin bileşenleri ile ilişkili olarak ölçümü prensibine dayanmaktadır.

Yöntem, metabolik olarak aktif olan hücrelerin bir tetrazolyum tuzu olan XTT'yi turuncu formazan bileşenlerine indirgemeleri prensibine dayanmaktadır (Tunç T., 2013).

Oluşan boya yoğunluğu bir spektrofotometre yardımıyla verilen dalga boylarında okunabilmektedir. Boya duyarlılığı, aktif hücrelerin sayısı ile orantılı olarak değişmektedir. Test prosedürü hücrelerin 96 kuyucuklu plaklarda kültüre edilip, XTT ajanının eklenerek 2-24 saat inkübasyonda bekletilmesi prensibine dayanmaktadır. İnkübasyon süresi boyunca, duyarlılığı bir spektrofotometre (ELISA okuyucu) ile ölçülebilen turuncu renk oluşmaktadır. Kuyucuklardaki aktif hücrelerin sayılarının çokluğu, mitokondriyal enzimlerin aktivitesinin çokluğu ile orantılıdır (Roche Diagnosis Manual, 2013).



**Şekil 5.** Renkli Formazan türevini oluşturmak için XTT'nin indirgenmesi (<http://www.laboratornichemikalie.cz>)

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler ve Cihazlar

##### 3.1.1. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

- CO<sub>2</sub>'li inkübatör (37°C, %5 CO<sub>2</sub>'li)
- Laminar flow (steril kabin)
- Invert (ters) mikroskop
- ELISA cihazı (spektrofotometre)
- Su banyosu
- Santrifüj
- Vorteks
- Otoklav
- Derin dondurucu (-20°C)
- Derin dondurucu (-80°C)
- Hassas terazi
- Otomatik mikropipetler (10-100µl,20-200 µl,100-1000 µl)
- pH-metre
- Isıtmalı manyetik karıştırıcı
- McFarland Cihazı

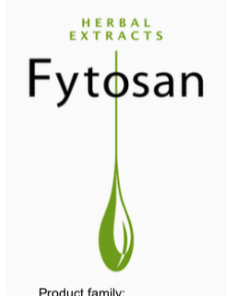
### 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

**Çizelge 2.** Kullanılan kimyasal maddelerin adı ve markaları.

<b>KİMYASAL MADDEİN ADI</b>	<b>MARKA</b>
Fosfat Buffer Saline (PBS)	PAA Cell Culture Company
Dulbecco Modified Eagles Medium (DMEM)	Wisent Bio Products
Fetal Bovine Serum (FBS)	Biological Industries
Penicillin-Streptomycin (PS)	Biological Industries
Trypsin	Biological Industries
XTT (sodyum 3'-[1-[(fenilamino)-karbonil] - 3, 4-tetrazolyum]-bis (4-metoksi-6 nitro) benzensulfonikasithidrat)	Cayman Chemical Company
Brain Heart Infusion Broth (BHI)	BIOMARK Lab.
Sabouraud Dextrose Broth (SDB)	OXOID
MHB (Mueller-Hinton buyyon)	MERCK
Sabouraud Dextrose Agar (SDA)	Neogen
Dimetil sulfoksit (DMSO)	MERCK
Amikacin	OXOID
Gentamycin	OXOID
Erythromycin	OXOID
Chloramphenicol	OXOID
Fluconazole	Generica

### 3.2. Uçucu Yağ Analizleri

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının ORGANOLEPTICAL CHARACTERISTICS, GAS CHROMATOGRAPHY ve PHYSICAL CHARACTERISTICS analizleri yağları temin ettiğimiz Art de Huile firması tarafından raporize ettirilmiştir.



**Fytosan**

**CERTIFICATE of ANALYSES N° 49 665**

Product family:	Organic EEC Essential Oil
Product name:	CYMBOPOGON MARTINI Partie Aérienne kg
Botanical name:	CYMBOPOGON MARTINI
Product code:	HES20035
Batch number:	R949384-8
Monography:	AFNOR N F T 75-234
Date of retest:	05/07/2021
Product status:	Approved
Date of release:	11/07/2016

ORGANOLEPTICAL CHARACTERISTICS	Product specification		Results	Unit
Physical appearance	Clear liquid		CONFORM	
Colour	Pale yellow to yellow		CONFORM	
Odour	Characteristic		CONFORM	
GAS CHROMATOGRAPHY	Product specification		Results	Unit
	Min	Max		
Geranyl acetate	7,000	16,000	8.71	%
Beta caryophyllene	0.700	2,500	1.98	%
Cis beta ocimene	0,200	0,600	0.35	%
Geranial	0,200	6,000	0.43	%
Geraniol	72,000	86,000	81.41	%
<b>Limonene</b>		<b>1,300</b>	<b>0.33</b>	%
<b>Linalol</b>	<b>1,000</b>	<b>5,500</b>	<b>2.79</b>	%
Myrcene		5,000	0.15	%
Neral		0,500	0.30	%
Nerol	0,200	0,500	0.32	%
Trans beta ocimene	0,500	3,000	1.33	%
<b>Trans trans farnesol</b>	<b>0,200</b>	<b>1,500</b>	<b>0.65</b>	%
Geranyl hexanoate	0,400	0,800	0.50	%
PHYSICAL CHARACTERISTICS	Product specification		Results	Unit
	Min	Max		
Relative density (d20/20)	0,880	0,894	0.893	
Refractive index (nd20)	1,470	1,478	1.475	
Optical rotation	-1,000	3,000	-0.50	degre

**Şekil 6.** *Cymbopogon martinii* bitkisinden elde edilen uçucu yağın Gas Chromatography sonuçları



**CERTIFICATE of ANALYSES N° 52 397**

Product family: Organic EEC Essential Oil  
 Product name: MELALEUCA VIRIDIFLORA Feuille kg  
 Botanical name: MELALEUCA VIRIDIFLORA  
 Product code: HES20122  
 Batch number: R909983-10  
 Monography: Fytosan  
 Date of retest: 09/01/2022  
 Product status: Approved  
 Date of release: 17/01/2017

ORGANOLEPTICAL CHARACTERISTICS	Product specification		Results	Unit
Physical appearance	Clear liquid		CONFORM	
Colour	Colourless to light yellow		CONFORM	
Odour	Strong and aromatic		CONFORM	
GAS CHROMATOGRAPHY	Product specification		Results	Unit
	Min	Max		
Alpha pinene	6,000	15,000	8.28	%
Alpha terpinene			0.47	%
Alpha terpineol	5,000	10,000	7.63	%
Aromadendrene	Traces		0.53	%
Beta caryophyllene			2.18	%
Beta pinene	1,000	5,000	2.11	%
Cineol 1.8	45,000	65,000	52.63	%
Delta cadinene			0.33	%
Gamma terpinene	1,000	4,000	1.80	%
<b>Limonene</b>	<b>3,000</b>	<b>12,000</b>	<b>7.73</b>	<b>%</b>
Myrcene			1.15	%
Nerolidol			0.40	%
Caryophyllene oxyde			0.18	%
Paracymene			0.60	%
Terpinolene			0.92	%
Viridiflorol	2,000	10,000	5.08	%
PHYSICAL CHARACTERISTICS	Product specification		Results	Unit
	Min	Max		
Relative density (d20/20)	0,900	0,920	0.915	
Refractive index (nd20)	1,460	1,474	1.468	
Optical rotation	-5,000	0,000	-2.65	degre
Solubility 3 Vol alc 80% for 1 Vol EO	Clear liquid		CONFORM	

**Şekil 7.** *Melaleuca viridiflora* bitkisinden elde edilen uçucu yağın Gas Chromatography sonuçları

### 3.3. Uçucu Yağların Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması

#### 3.3.1. Kullanılan Mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite testlerinde aşağıda suş numaraları belirtilen mikroorganizmalar kullanılmıştır.

**Çizelge 3.** Antimikrobiyal Aktivite Deneylelerinde Kullanılan Bakteri-Mantar Suşları

	<b>Mikroorganizma</b>	<b>Suş numaraları</b>
1	<i>Escherichia coli</i>	<b>ATCC 25922</b>
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>ATCC 27853</b>
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>ATCC 29213</b>
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>ATCC 13883</b>
5	<i>Bacillus cereus</i>	<b>ATCC 14579</b>
6	<i>Candida albicans</i>	<b>ATCC 10231</b>

#### 3.3.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesinin tayininde Disk Difüzyon (Kirby-Bauer) ve Mikrodilüsyon Broth yöntemleri kullanıldı.

##### 3.3.2.1. Disk Difüzyon (Kirby-Bauer) Yöntemi

Disk difüzyon testinde Çizelge 3 'te suş numaraları verilen mikroorganizmalar kullanıldı. Bakteri suşları Brain Heart Infusion Broth'a inoküle edilerek, *Candida albicans* ise Sabouraud Dextrose Broth'a inoküle edilerek 24 saat süreyle 37±0,1°C'de inkübe edildi. Bu kültürlerden alınan bakteri ve maya solüsyonları, içerisinde 5 ml buyyon bulunan steril cam tüplere belirli miktarlarda alınarak McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlandı (0.5 McFarland standardı = 1-2 x 10<sup>8</sup> cfu/ml).

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarından 200 er µl ependorflara alındı ve üzerlerine 800 µl etanol eklenerek çözdürüldü. İçerisinde 100 er µl etanol bulunan ependorflarda

sulandırmaları yapıldı (100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml, 3,125 µg/ml, 1,56 µg/ml). Sulandırmalar, otomatik pipet ile steril 6 mm'lik boş disklerle (Oxoid, Basingstoke, UK) 20 µl emdirildi.

Mueller - Hinton Agar (MERCK) ve Sabouraud Dextrose Agar (Neogen) agarların yüzeyine, 0.5 McFarland bulanıklığındaki bakteri ve maya solusyonlarından steril eküvyon çubuk yardımıyla ekim yapıldı.

Besiyeri yüzeylerinin kurumması için 15 dakika beklendikten sonra esansiyel yağ emdirilmiş diskler, agar yüzeyine aralarında 20 mm kalacak şekilde yerleştirildi. Negatif kontrol için steril fizyolojik su emdirilmiş diskler kullanıldı. Yağların besiyerine difüze olabilmesi için 15 dakika beklendi.

Bakteri ve maya plakları  $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçüldü (CLSI, 2018).

#### Çizelge 4. Mikroorganizma - Antibiyotik diski çizelgesi

<i>Bakteri</i>	<b>Antibiyotik</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gentamycin
<i>Staphylococcus aureus</i>	Erythromycin
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Amikacin
<i>Bacillus cereus</i>	Chloramphenicol
<i>Candida albicans</i>	Flukanozol
<i>Escherichia coli</i>	Amikacin

#### 3.3.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK/MIC)

Deney için U tabanlı 96' lık mikrotitre plakları kullanılmıştır. Esansiyel yağlar 2 ml hacimli krio vialler içerisinde 200 mg/ml olacak şekilde DMSO yardımı ile çözdürüldü. Kuyucukların ilk sırasına 90 µl, diğer kuyucuklara ise 50 µl besiyeri eklendi. Bakteriler için MHB, mayalar için SDB kullanıldı. Mikrotitre plaklarının ilk sırasına 10 µl esansiyel yağ (200 mg/ml) eklendi. Mikropipet yardımı ile pipetaj yapılarak iyice karışması sağlandı. İlk

sıradan alınan 50 µl karışım ikinci sıra üzerine aktarılarak iki katlı seri sulandırım yapıldı (10000 µg/ml, 5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 625 µg/ml, 313 µg/ml, 156 µg/ml, 78 µg/ml, 39 µg/ml, 20 µg/ml). Plağın 10. sırasından alınan 50 µl karışım dışarı atıldı. On birinci sıradaki kuyucuklar üzerine 50 µl besiyeri eklenerek sterilite kontrolü olarak, 12. Sıradaki kuyucuklar üzerine ise 50 µl bakteri veya maya karışımı eklenerek üreme kontrol olarak kullanıldı.

McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlanmış bakteri ve mayalar, bakteriler için  $5 \times 10^5$  CFU/mL, mayalar için  $0.5-2.5 \times 10^3$  CFU/mL olacak şekilde sulandırıldı ve kuyucuklar üzerine 50 µl eklendi (CLSI, 2002., CLSI, 2012). Kuyucuklar içerisindeki yağ konsantrasyonu 10 ile 0.019 mg/mL arasında değişmekteydi.

Plaklar 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda üremeyi daha iyi gözlemleyebilmek için her kuyucuğa 50 µl olacak şekilde 2 mg/ml’lik 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) (Meck, Germany) çözeltisinden eklendi. Mikrotitre plakları 37 °C’de 2 saat tutularak inkübe edildi. Kuyucuklar içerisindeki canlı mikroorganizmaların varlığına bağlı olarak oluşan Formazan’ın rengindeki azalmanın gözlemlendiği ilk kuyucuk MIC olarak kabul edildi. MIC sonuçları referans kaynaklara göre; Etkili (MIC < 100 µg/ mL), Orta ( $100 < MIC \leq 625$  µg/mL), Zayıf (MIC > 625 µg/ mL) şeklinde değerlendirildi (Kuete V., 2013; Awouafack A., 2013).

### **3.4. Hücre Kültürü**

‘Art de Huile’ firmasından temin ettiğimiz Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının antimikrobiyal, antitümoral ve sitotoksikite aktivitelerini incelemeyi amaçladığımız çalışmamız in vitro koşullarda hücre kültürü yöntemleri kullanılarak yapıldı. Çalışmamızda, antikanser etki için MCF-7 (meme kanseri) hücre hattı, DU-145 (prostat kanseri) hücre hattı ve toksik etkinin belirlenmesi için de WI-38 insan fibroblast hücreleri kullanıldı.

Bu çalışmada, 2 farklı kanser hücre hattı ve bir normal hücre hattı kullanılmıştır; MCF-7 hücre hattı ve WI-38 insan fibroblast hücre hattı T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Şap Enstitüsü’nden, DU-145 prostat kanseri hücre hattı Mersin Üniversitesi, İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi’nden temin edilmiştir.



Deneylerimizin büyük bölümünde kullandığımız renkli besiyeri; %10 fetal sığır serum (FBS), % 1 penisilin-streptomisin (PS) ilave edilmiş DMEM (with phenol red, with L-glutamine, with 4,5 high glucose) ve renksiz besiyeri ise; % 10 fetal sığır serum (FBS), % 1 penisilin-streptomisin ilave edilmiş DMEM (without phenol red, with L-glutamine, with 1,0 low glucose) içermektedir.

#### **3.4.1. Hücrelerin Açılması, Çoğaltılması ve Pasajlanması**

- 1) -80°C' de kriyotüpler içerisinde bulunan %10 DMSO + %90 FBS ile dondurulmuş hücre hatları 37 °C' ye alındı.
- 2) Kriyotüp içerisine hızlı bir şekilde besi ortamı ilave edildi. Pasteur pipeti yardımıyla karıştırılarak hücreler 15 ml' lik falkon tüp içerisine alındı.
- 3) Falkon tüp içerisine yaklaşık 10 ml daha besiyeri ilave edilerek 1400 rpm'de 7 dakika santrifüj edilerek yıkama yapıldı.
- 4) Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı ve çöken hücrelerin üzerine 5 ml besiyeri eklenerek 25 cm<sup>2</sup>' lik flasklara alındı.
- 5) Flasklar, 37 °C' deki % 95 nem ve %5 CO<sub>2</sub> içeren etüve alınarak inkübasyona bırakıldı. 48 saatte bir besi ortamları tazelenildi. Hücreler bütün flask yüzeyini kapladığında pasaj yapıldı.
- 6) Flasklarda bulunan ortam döküldü ve flasklar bir kez serumsuz ortam kullanılarak yıkandı.
- 7) Daha sonra hücrelerin üzerine 1 ml tripsin ilave edildi. Bir süre bekletildikten sonra tripsin uzaklaştırılarak flasklar 5-10 dakika boyunca inkübatörde bekletildi.
- 8) İnkübatörden çıkan flasklar inverted mikroskopla incelendi ve tüm hücrelerin yüzeyden ayrılmaları kontrol edildi.
- 9) Flaskda bulunan tüm hücreler kalktıktan sonra, 10 ml FBS'lu ortam ilave edildi.
- 10) Flask içerisinde bulunan hücre-ortam karışımının 5 ml' si başka bir flaska aktarılarak pasajlama işlemi tamamlanmış oldu.
- 11) Hücrelerin yüzeye yapışarak üremeye devam etmeleri için flasklar inkübatöre kaldırılarak inkübasyona bırakıldı ve çoğalmaları sağlandı.

### 3.4.2. Hücrelerin Sayılması / Canlılığının Tespit Edilmesi

Hücreler flask yüzeyinin %70-80'lik kısmını kapladıktan sonra hücre pasajlaması yapıldı.

- 1) İlk olarak flasklardaki besiyeri uzaklaştırıldı.
- 2) Flasklar 8'er ml PBS ile yıkandıktan sonra her bir flaskta 4 ml tripsin-EDTA çözeltisi eklendi. Flasklar 3 dakika inkübatörde bekletildi.
- 3) İnkübasyon sonrası 9 ml %10 FBS içeren hücre için uygun olan DMEM ile hücreler falkon tüp içerisinde toplandı. Hücre süspansiyonu 130 g'de 6 dakika santrifüjlendi.
- 4) Süpernatant kısımları 1ml kalacak şekilde uzaklaştırıldı. Hücre süspansiyonlarından 10 µl'si 0.5 ml hacimli kapaklı tüpe alınarak 10 µl tripan blue ile karıştırıldı ve karışım 3 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Tripan blue ile boyama metodunda; ölü hücreler işlev görmeyen Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz pompaları nedeniyle boyayı absorblamakta ve dışarı atamamakta, dolayısıyla canlı hücreler sarı-yeşil renkte gözükürlerken, ölü hücreler mavi renkte gözükmektedir (Aliyazıcıoğlu Y. ve ark., 2011).
- 5) Pipetaj yapılarak karışımdan 10 µl alındı ve Neubauer hematositometre lamına aktarıldı. İnvirt mikroskop ile incelenen hematositometre lamı üzerinde 16'ya bölünmüş dört ayrı kare olduğu görülmektedir. Çapraz iki kare içerisinde bulunan canlı hücreler sayıldı ve mililitredeki canlı hücre sayısı; 'sayılan hücre sayısı x seyreltme oranı x 10<sup>4</sup>' formülü kullanılarak hesaplandı (Teerasripreecha D. ve ark., 2012).
- 6) Hücre sayımı yapıldıktan sonra, içerisinde 15 ml besiyeri bulunan 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklara 2000-10000 hücre/cm<sup>2</sup> olacak şekilde tekrar hücre ekimi yapıldı. Böylece kültürlenme sürecine devam edildi.

### 3.4.3. Antitümör ve Sitotoksik Aktivite Deneyleri

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının MCF-7 ve DU-145 kanser hücre hatları ve WI-38 insan fibroblast hücre hattı üzerine sitotoksisiteyi araştırmak amacıyla XTT testi uygulandı.

MCF-7 ve DU-145 hücreleri yüzeyi tamamen kapladıktan hücreler tripsinize edildi. Santrifüj edip süpernatant olan bölüm dökülerek, hücre sayımı yapıldı. Hücreler ml'de  $1 \times 10^5$  MCF-7 hücresi olacak şekilde DMEM (fenol red'siz) besiyeri içerisinde deneyde kullanılacak miktarda hazırlandı. Besiyerinin üzerine %10 FBS + %1 Penisilin-Streptomisin eklenerek süspansiyon oluşturuldu. Hazırlanan hücre süspansiyonundan her kuyucuğa 100  $\mu$ l ( $1 \times 10^4$  hücre/kuyucuk) eklendi. Kuyucuk sayısı hücre çeşidine ve uçucu yağın her konsantrasyonu için 4'er kuyucuk olacak şekilde hesaplandı. Süspansiyonun dağılımının eşit olduğu mikroskop ile incelendikten sonra, 37°C'lik CO<sub>2</sub> etüvüne kaldırıldı ve 24 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda hücrelerin yüzey kaplamalarının ve genel durumlarının normal olduğu tespit edildikten sonra uçucu yağların çözeltileri hazırlandı ve 200  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml, 50  $\mu$ g/ml, 25  $\mu$ g/ml, 12,5  $\mu$ g/ml, 6,25  $\mu$ g/ml, 3,125  $\mu$ g/ml, 1,56  $\mu$ g/ml konsantrasyonlarda 2 şer  $\mu$ l olarak kuyucuklara eklendi. Pozitif kontrole 200  $\mu$ l DMEM (fenol red'siz) + %10 FBS + %1 Penisilin-Streptomisin süspansiyonu, negatif kontrole 2  $\mu$ l DMSO eklendi.

Bütün kuyucuklardaki son hacim 198  $\mu$ l DMEM (fenol red'siz) + %10 FBS + %1 Penisilin-Streptomisin süspansiyonu ile 200  $\mu$ l'ye tamamlandı. İşlem tamamlandıktan sonra plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

İnkübasyonun ardından XTT ajanı reaktif I: cell proliferation kit II (XTT, labelling agent, Roche) ve aktivasyon ajanı reaktif II: cell proliferation kit II (XTT, electron coupling reagent, Roche)'den oluşmaktadır. Reaktifler 50 / 1 XTT ajanı (Labelling reagent) / Aktivasyon ajanı (electron coupling reagent) olacak şekilde karıştırılarak XTT solüsyonu hazırlandı. Plaklardaki besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra, XTT solüsyonundan her bir kuyucuğa 30  $\mu$ l eklendi. Üzerine renksiz DMEM içeren besiyeri çözeltilisinden 170  $\mu$ l ilave edildi. 37°C'de 4-6 saat inkübe edildikten sonra optik yoğunluğu ölçmek üzere 96 kuyucuklu plağın kapağı açılarak 450 nm dalga boyuna ayarlanmış ELISA cihazına yerleştirildi ve ölçüm yapılarak sonuçlar bilgisayar ortamından alındı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktiviteleri

Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini incelemek için gram-pozitif bakteri olarak *S. aureus*, *B. cereus*; gram-negatif bakteri olarak *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*; mantar olarak *C. albicans* ile Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak çalışılmıştır ve Mikrodilüsyon Broth Yöntemi ile değerler belirlenmiştir.

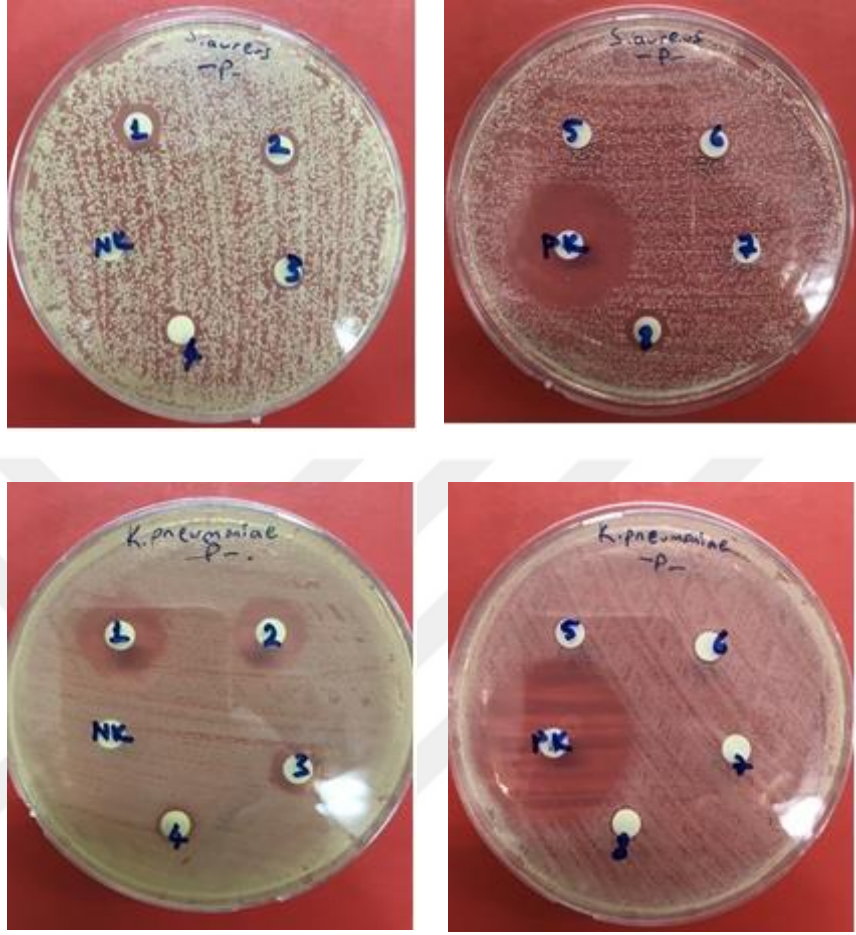
#### 4.1.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemde 6 mm çapa sahip diskler kullanıldı. Bakteriler için kontrol grubu olarak tabloda (Çizelge 4.) verilen antibiyotik diskleri kullanılırken, maya içinse Flukonazol antibiyotik diskleri kullanıldı. 8 farklı konsantrasyonda hazırlanan uçucu yağ solüsyonları, 20 µl olarak steril boş disklere emdirildi. İnkübasyon süresinden sonra inhibisyon zon çapları ölçüldü ve sonuçlar Çizelge 5 ve Çizelge 6' da mm cinsinden verildi.

**Çizelge 5.** Palmarosa uçucu yağının disk difüzyon sonuçları

Palmarosa Uçucu Yağı Disk Difüzyon Zon Çapları (mm)										
Mikroorganizma	Konsantrasyonlar (µg/ml)								Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	200	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56		
<i>E. coli</i>	10	10	10	9	7	7	7	7	19	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	17	-
<i>S. aureus</i>	12	10	6	6	-	-	-	-	19	-
<i>K. pneumoniae</i>	20	16	12	9	-	-	-	-	22	-
<i>B.cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-
<i>C. albicans</i>	10	6	-	-	-	-	-	-	18	-

Palmarosa uçucu yağı; 200, 100, 50 ve 25 µg/ml konsantrasyonlarında *E. coli*, *S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı ve 200 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında *C. albicans* maya mantarına karşı inhibisyon zonu oluşturmuştur.

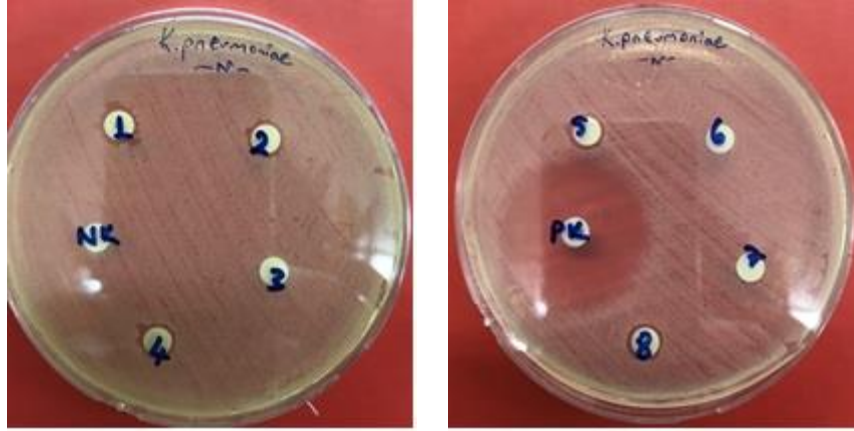


**Şekil 8.** Palmarosa'nın *K. pneumoniae* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel (Disk Difüzyon Metodu) etkisi (PK: pozitif kontrol, NK: negatif kontrol)

**Çizelge 5.** Nioli uçucu yağının disk difüzyon sonuçları

<b>Nioli Uçucu Yağı</b>										
<b>Disk Difüzyon Zon Çapları (mm)</b>										
<b>Mikroorganizma</b>	<b>Konsantrasyonlar (µg/ml)</b>								<b>Pozitif Kontrol</b>	<b>Negatif Kontrol</b>
	<b>200</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	<b>12,5</b>	<b>6,25</b>	<b>3,125</b>	<b>1,56</b>		
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	19	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	17	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	19	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	8	8	8	7	-	-	-	22	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-
<i>Candida albicans</i>	8	6	-	-	-	-	-	-	18	-

Nioli uçucu yağı; 200, 100, 50, 25 ve 12,5 µg/ml konsantrasyonlarında *K. pneumoniae* bakterisine karşı, 200 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında *C. albicans* maya mantarına karşı inhibisyon zonu oluşturmuştur.



**Şekil 9.** Palmarosa'nın *K. pneumoniae* bakterisine karşı antibakteriyel (Disk Difüzyon Metodu) etkisi (PK: pozitif kontrol, NK: negatif kontrol)

#### 4.1.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK/MIC)

*C. martinii* ve *M. viridiflora* bitkilerinden elde edilen Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının antimikrobiyal test sonuçları Çizelge 7’ de gösterilmiştir.

Palmarosa ve Nioli Uçucu Yağları MİK Değerleri (µg/ml)		
Mikroorganizma	Palmarosa	Nioli
<i>E. coli</i>	625	5000
<i>P. aeruginosa</i>	10000	>10000
<i>S. aureus</i>	313	5000
<i>K. pneumoniae</i>	156	10000
<i>B. cereus</i>	<20	156
<i>C. albicans</i>	156	>10000

**Çizelge 7.** Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının MIC sonuçları

Palmarosa uçucu yağı, en yüksek antibakteriyel etkiyi *B. cereus*’ a karşı göstermiştir (MİK: <20 µg/ml). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E.coli* ve *C. albicans*’ a karşı orta etkili, *P. aeruginosa*’ ya karşı zayıf etkili bulunmuştur.

Nioli uçucu yağı, sadece *B. cereus* bakterisine karşı orta etkili MİK değerine ulaşmıştır (MİK: 156 µg/ml). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E.coli*, *C. albicans*’ a karşı zayıf etkili bulunmuştur (>5000 µg/ml).

#### 4.2. Uçucu yağların Antitümör ve Sitotoksik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

##### 4.2.1. Palmarosa Yağının MCF-7 ve DU-145 Hücreleri Üzerine Antitümör Aktivitesi

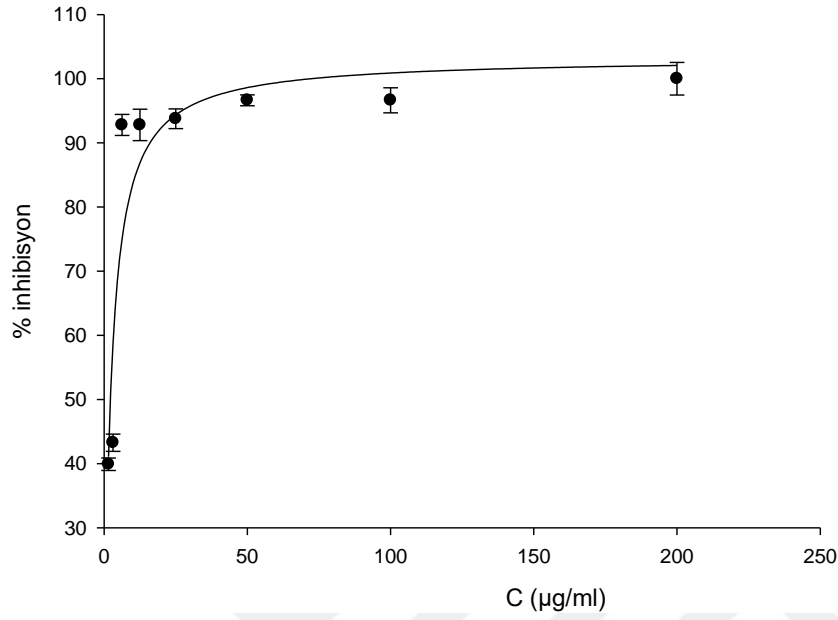
Mikroplaktaki kuyucuklara XTT solüsyonunun eklenmesi sonucu oluşan ve uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının oluşturduğu renk değişimi ELISA da 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Referans kaynaklarda belirtilen hesaplamalar yapılarak % İnhibisyon belirlendi ve ilgili çizelge ve şekiller elde edildi.

**Çizelge 8.** Palmarosa'nın çeşitli konsantrasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerine % İnhibisyon oranları

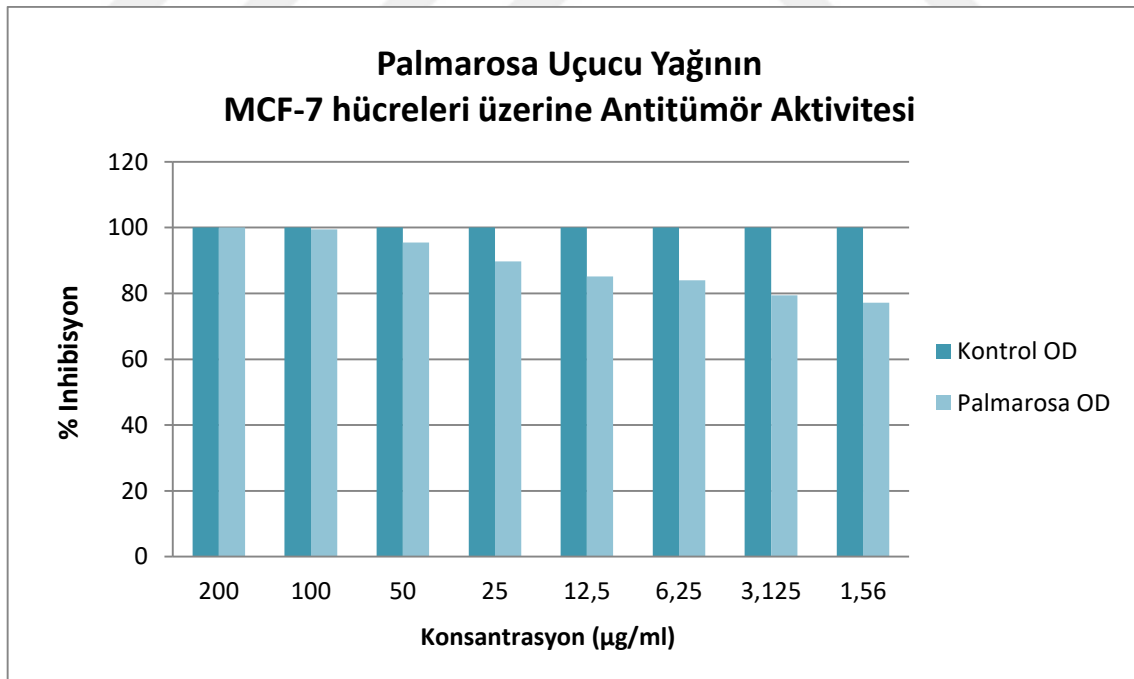
<b>İlaç (Konsantrasyon)</b>	<b>İnhibisyon (%)</b>
<b>200 µg/ml</b>	<b>100</b>
<b>100 µg/ml</b>	<b>96,64</b>
<b>50 µg/ml</b>	<b>96,64</b>
<b>25 µg/ml</b>	<b>93,75</b>
<b>12,5 µg/ml</b>	<b>92,79</b>
<b>6,25 µg/ml</b>	<b>92,79</b>
<b>3,125 µg/ml</b>	<b>43,26</b>
<b>1,56 µg/ml</b>	<b>39,90</b>
<b>Pozitif Kontrol (DMEM+FBS+PS)</b>	<b>0</b>
<b>Negatif Kontrol (DMSO)</b>	<b>100</b>

Çizelge 8'de Palmarosa'nın MCF-7 hücreleri üzerindeki antitümör etkisi, azalan konsantrasyonlara bağlı olarak inhibisyon (kanser hücrelerini öldürme) yüzdesi olarak verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, Palmarosa'nın konsantrasyonu azaldıkça antitümör aktivitesi de orantılı olarak düşmektedir.

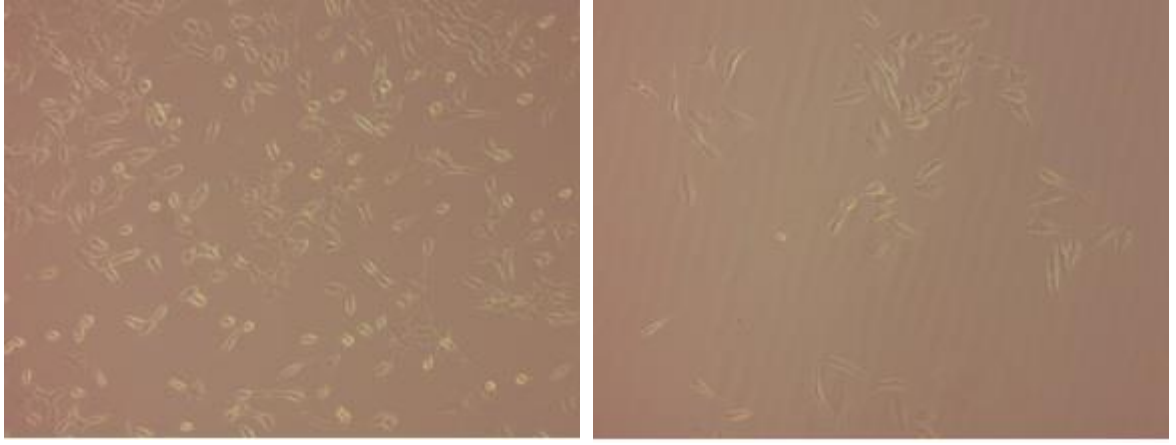




**Grafik 1.** MCF-7 hücre hattında Palmarosa % İnhibisyon grafiği



**Grafik 2.** Kontrol Optik Dansite ortalaması (%100 alınmıştır) ile Palmarosa'nın farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücrelerini öldürme yüzdesi.



MCF-7 hücre hattının morfolojisi

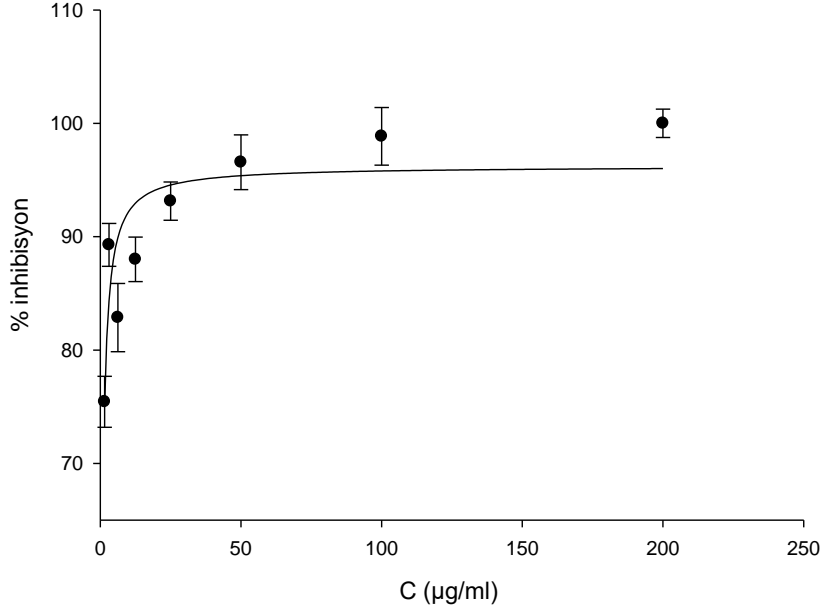
Palmarosa uçucu yağı ile muamele edilmiş  
MCF-7 hücre hattının morfolojisi

**Şekil 10.** MCF-7 hücre hattı morfolojisi

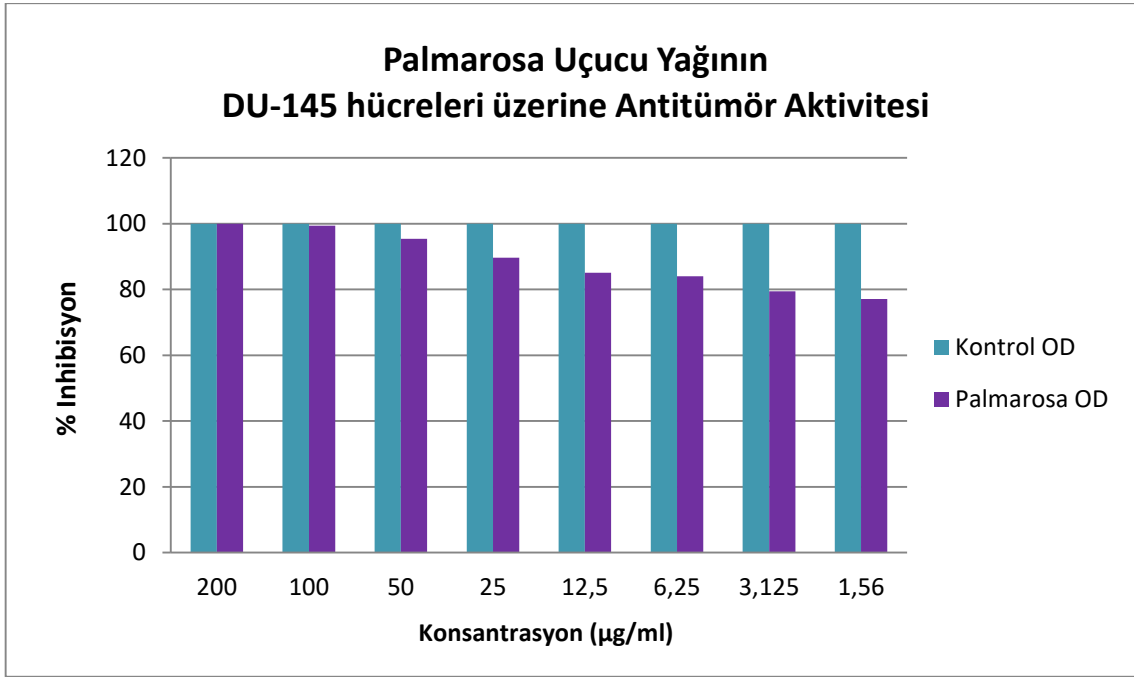
**Çizelge 9.** Palmarosa'nın çeşitli konsantrasyonlarının DU-145 hücreleri üzerine %  
İnhibisyon oranları

İlaç (Konsantrasyon)	İnhibisyon (%)
200 µg/ml	100
100 µg/ml	98,86
50 µg/ml	96,57
25 µg/ml	93,14
12,5 µg/ml	88,00
6,25 µg/ml	82,86
3,125 µg/ml	89,28
1,56 µg/ml	75,43
Pozitif Kontrol (DMEM+FBS+PS)	0
Negatif Kontrol (DMSO)	100

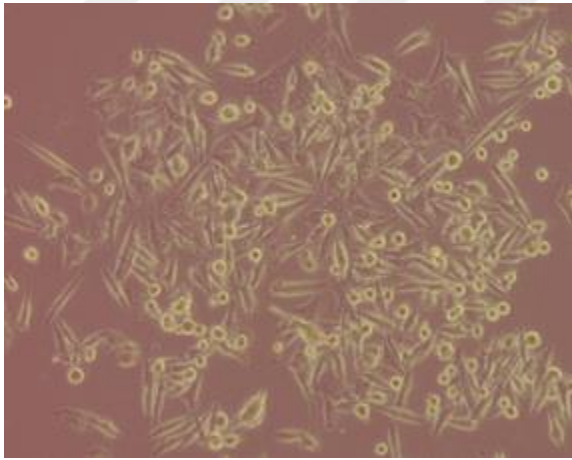
Çizelge 9’de Palmarosa’nın DU-145 hücreleri üzerindeki antitümör etkisi, azalan konsantrasyonlara bağlı olarak inhibisyon (kanser hücrelerini öldürme) yüzdesi olarak verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, Palmarosa’nın konsantrasyonu azaldıkça antitümör aktivitesi de orantılı olarak düşmektedir.



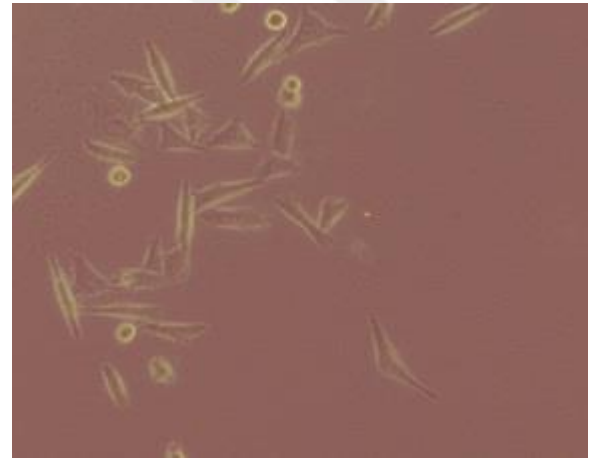
**Grafik 3.** DU-145 hücre hattında Palmarosa % İnhibisyon grafiği



**Grafik 4.** Kontrol Optik Dansite ortalaması (%100 alınmıştır) ile Palmarosa'nın farklı konstrasyonlarının DU-145 hücrelerini öldürme yüzdesi.



DU-145 hücre hattının morfolojisi



Palmarosa uçucu yağı ile muamele edilmiş DU-145 hücre hattının morfolojisi

**Şekil 11.** DU-145 hücre hattı morfolojisi

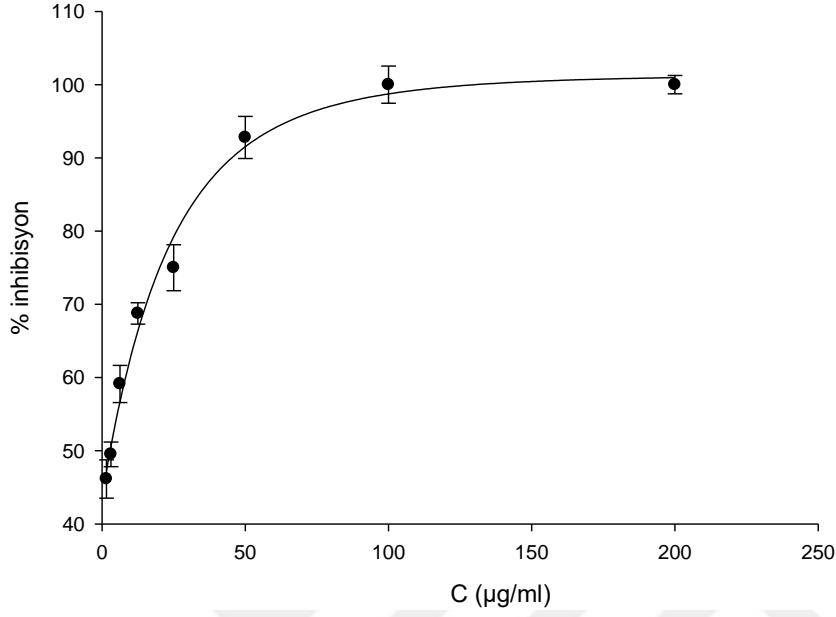
#### 4.2.2. Nioli Yağının MCF-7 ve DU-145 Hücreleri Üzerine Antitümör Aktivitesi

Mikroplaktaki kuyucuklara XTT solüsyonunun eklenmesi sonucu oluşan ve uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının oluşturduğu renk değişimi ELISA da 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Referans kaynaklarda belirtilen hesaplamalar yapılarak % İnhibisyon belirlendi ve ilgili çizelge ve şekiller elde edildi.

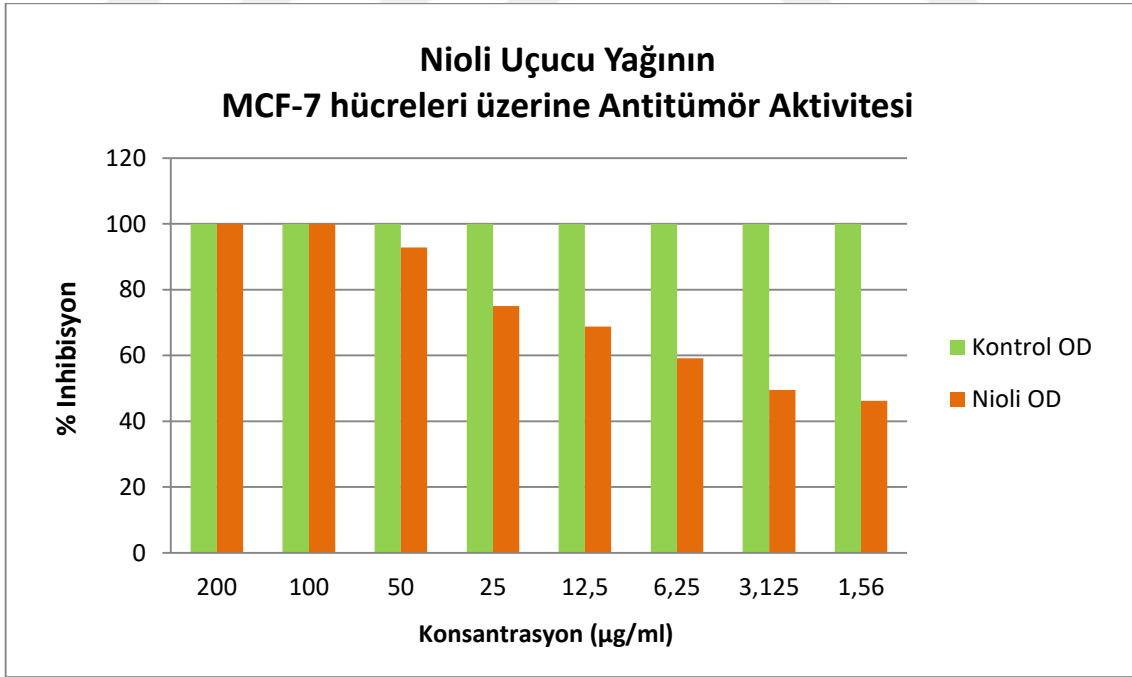
**Çizelge 10.** Nioli'nin çeşitli konsantrasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerine % İnhibisyon oranları

İlaç (Konsantrasyon)	İnhibisyon (%)
200 µg/ml	100
100 µg/ml	100
50 µg/ml	92,79
25 µg/ml	75,00
12,5 µg/ml	68,75
6,25 µg/ml	59,13
3,125 µg/ml	49,52
1,56 µg/ml	46,15
<b>Pozitif Kontrol (DMEM+FBS+PS)</b>	<b>0</b>
<b>Negatif Kontrol (DMSO)</b>	<b>100</b>

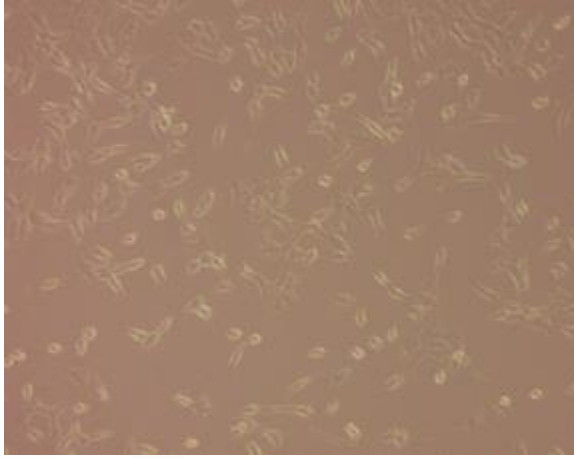
Çizelge 10' da Nioli'nin MCF-7 hücreleri üzerindeki antitümör etkisi, azalan konsantrasyonlara bağlı olarak inhibisyon (kanser hücrelerini öldürme) yüzdesi olarak verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, Nioli'nin konsantrasyonu azaldıkça antitümör aktivitesi de orantılı olarak düşmektedir.



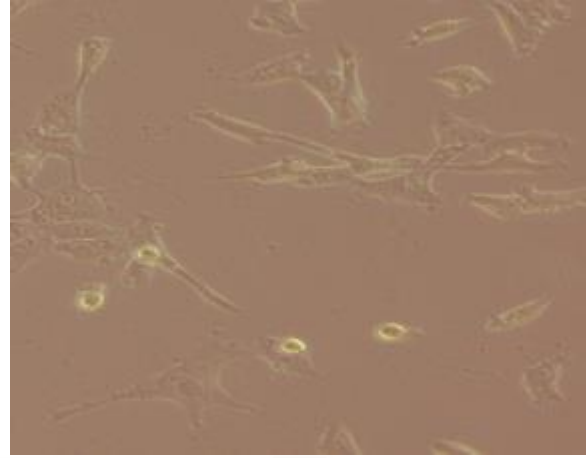
**Grafik 5.** MCF-7 hücre hattında Nioli % İnhibisyon grafiği



**Grafik 6.** Kontrol Optik Dansite ortalaması (%100 alınmıştır) ile Nioli'nin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücrelerini öldürme yüzdesi.



MCF-7 hücre hattının morfolojisi



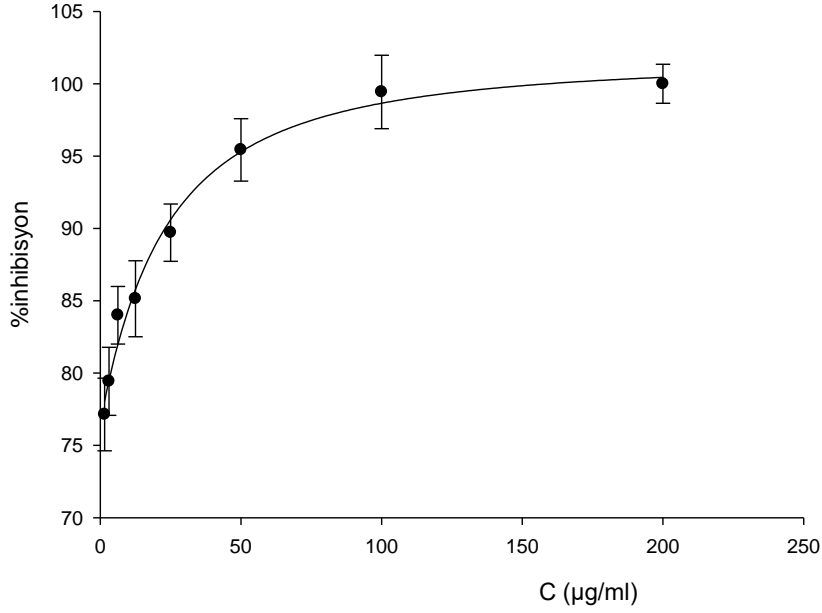
Nioli uçucu yağı ile muamele edilmiş  
MCF-7 hücre hattının morfolojisi

**Şekil 12.** MCF-7 hücre hattı morfolojisi

**Çizelge 11.** Nioli'nin çeşitli konsantrasyonlarının DU-145 hücreleri üzerine % İnhibisyon oranları

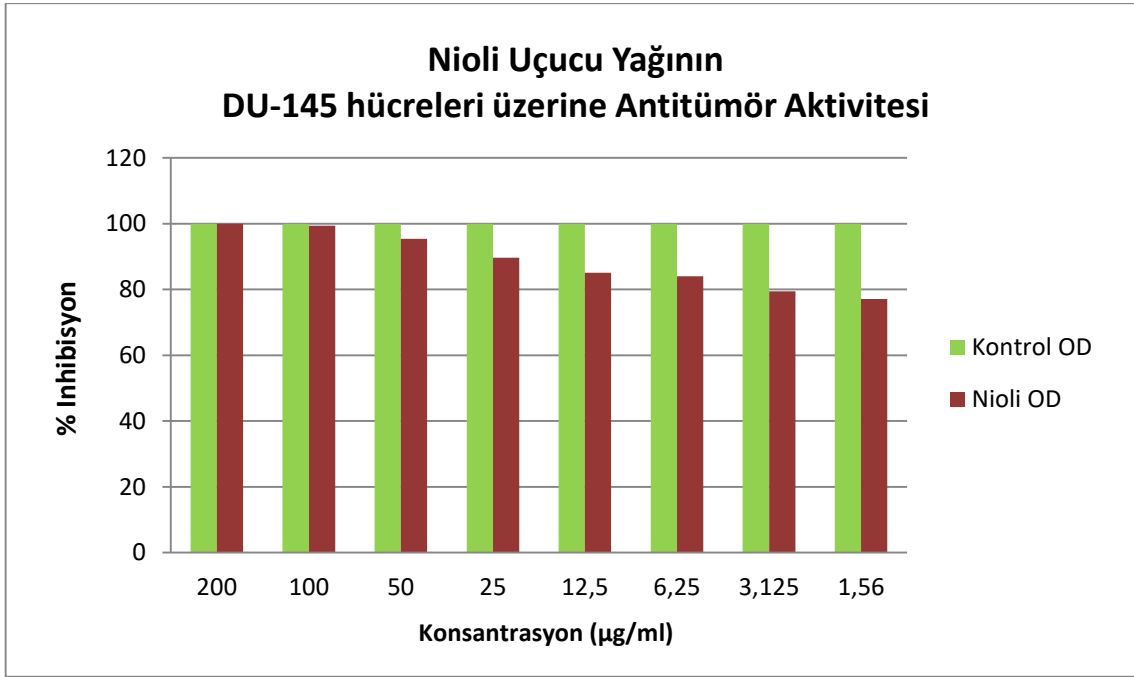
İlaç (Konsantrasyon)	İnhibisyon (%)
200 µg/ml	100
100 µg/ml	99,43
50 µg/ml	95,43
25 µg/ml	89,71
12,5 µg/ml	85,14
6,25 µg/ml	84,00
3,125 µg/ml	79,43
1,56 µg/ml	77,14
<b>Pozitif Kontrol (DMEM+FBS+PS)</b>	<b>0</b>
<b>Negatif Kontrol (DMSO)</b>	<b>100</b>

Çizelge 11’de Nioli’nin DU-145 hücreleri üzerindeki antitümör etkisi, azalan konsantrasyonlara bağlı olarak inhibisyon (kanser hücrelerini öldürme) yüzdesi olarak verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, Nioli’nin konsantrasyonu azaldıkça antitümör aktivitesi de orantılı olarak düşmektedir.

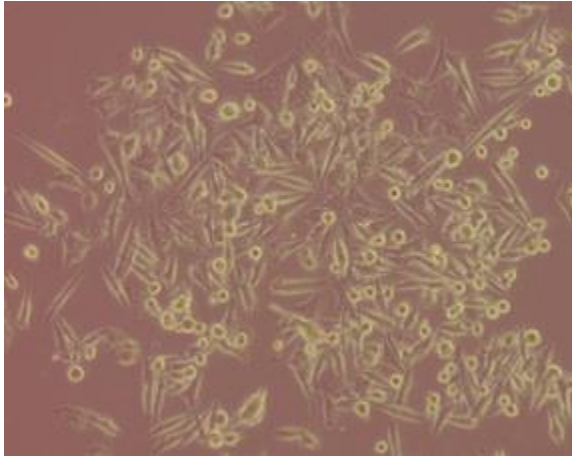


**Grafik 7.** DU-145 hücre hattında Nioli % İnhibisyon grafiği

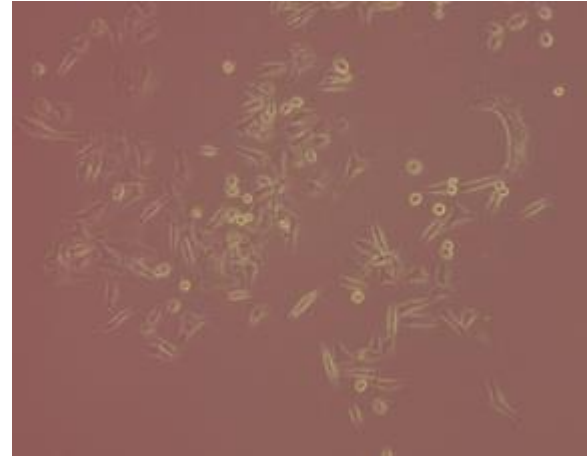




**Grafik 8.** Kontrol Optik Dansite ortalaması (%100 alınmıştır) ile Nioli'nin farklı konsantrasyonlarının DU-145 hücrelerini öldürme yüzdesi.



DU-145 hücre hattının morfolojisi



Nioli uçucu yağı ile muamele edilmiş DU-145 hücre hattının morfolojisi

**Şekil 13.** DU-145 hücre hattı morfolojisi

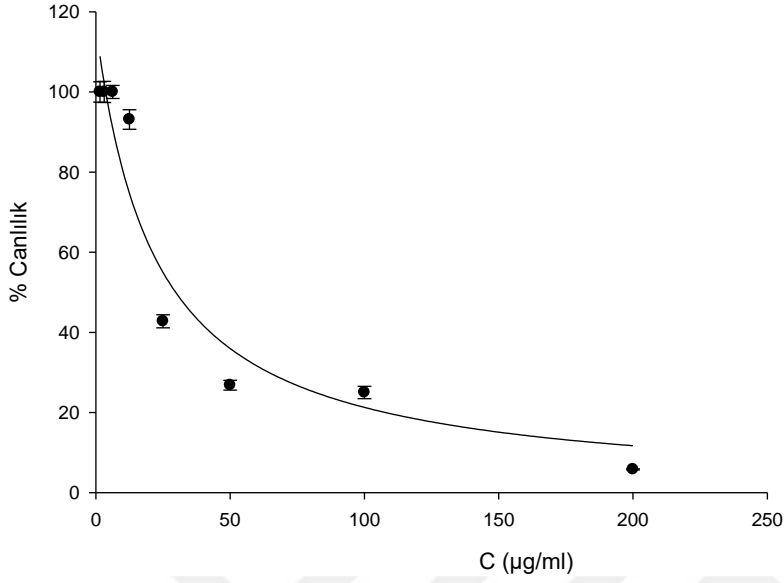
#### 4.2.3. Palmarosa Yağının WI-38 Hücreleri Üzerine Sitotoksik Aktivitesi

Mikroplaktaki kuyucuklara XTT solüsyonunun eklenmesi sonucu oluşan ve uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının oluşturduğu renk değişimi ELISA da 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Referans kaynaklarda belirtilen hesaplamalar yapılarak % Canlılık belirlendi ve ilgili çizelge ve şekiller elde edildi.

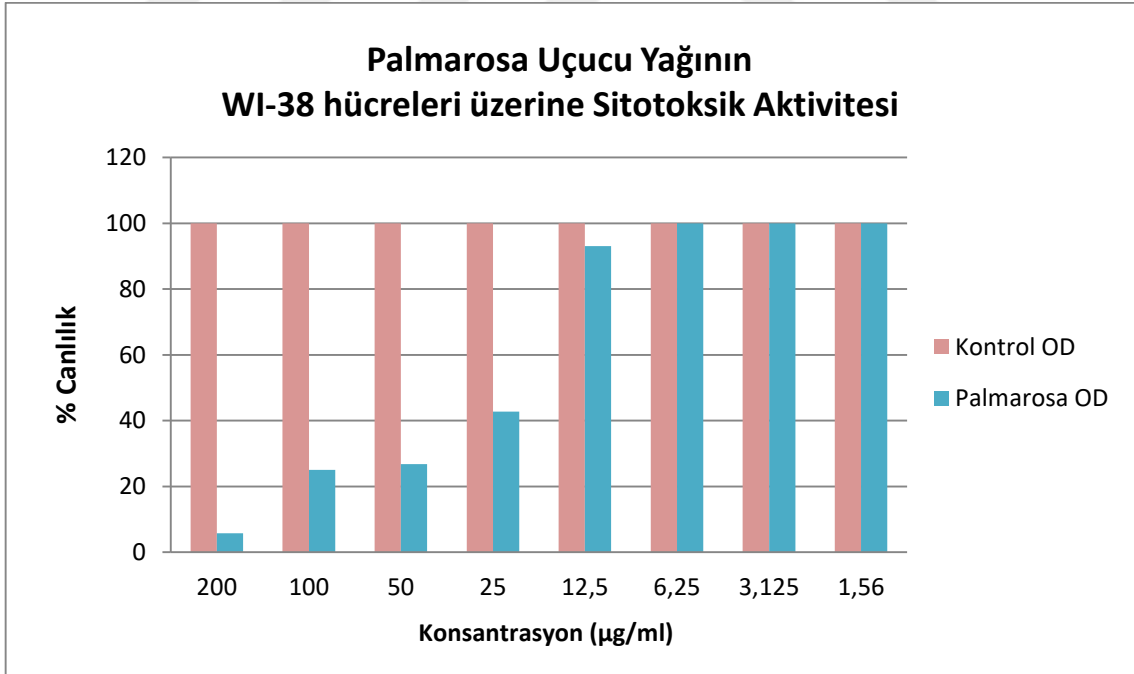
**Çizelge 12.** Palmarosa'nın çeşitli konsantrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine % Canlılık oranları

<b>İlaç (Konsantrasyon)</b>	<b>Canlılık (%)</b>
200 µg/ml	5,81
100 µg/ml	25,00
50 µg/ml	26,81
25 µg/ml	42,75
12,5 µg/ml	93,12
6,25 µg/ml	100
3,125 µg/ml	100
1,56 µg/ml	100
<b>Pozitif Kontrol (DMEM+FBS+PS)</b>	<b>100</b>
<b>Negatif Kontrol (DMSO)</b>	<b>0</b>

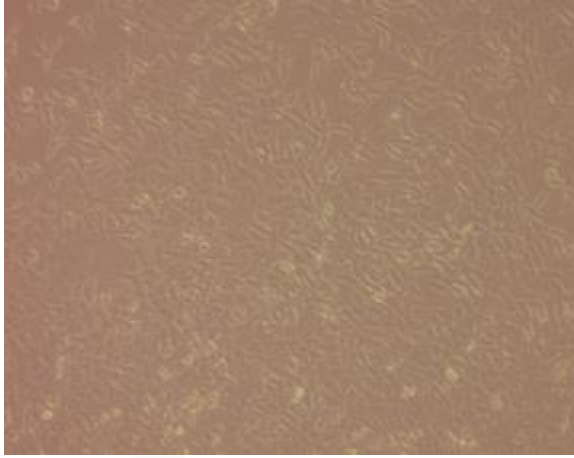
Çizelge 12'de Palmarosa'nın WI-38 hücreleri üzerindeki toksik etkisi, çeşitli konsantrasyonlarda canlılık yüzdesi olarak verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, Palmarosa'nın konsantrasyonu azaldıkça hücre canlılığı yüzdesi artmakta, yani toksik etkisi azalmaktadır.



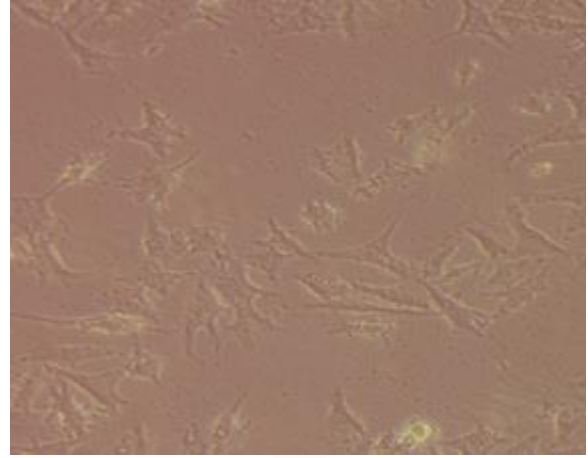
**Grafik 9.** WI-38 hücre hattında Palmarosa % canlılık grafiği



**Grafik 10.** Kontrol Optik Dansite Ortalaması (%100 alınmıştır) ile Palmarosa'nın farklı konsantrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine canlılık yüzdesi.



WI-38 hücre hattının morfolojisi



Palmarosa uçucu yağı ile muamele edilmiş  
WI-38 hücre hattının morfolojisi

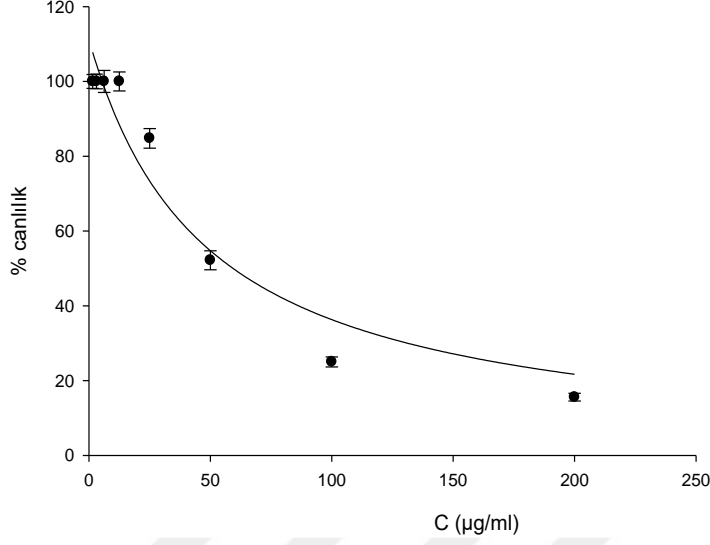
**Şekil 14.** WI-38 hücre hattı morfolojisi

#### 4.2.4. Nioli yağının WI-38 Hücreleri Üzerine Sitotoksik Aktivitesi

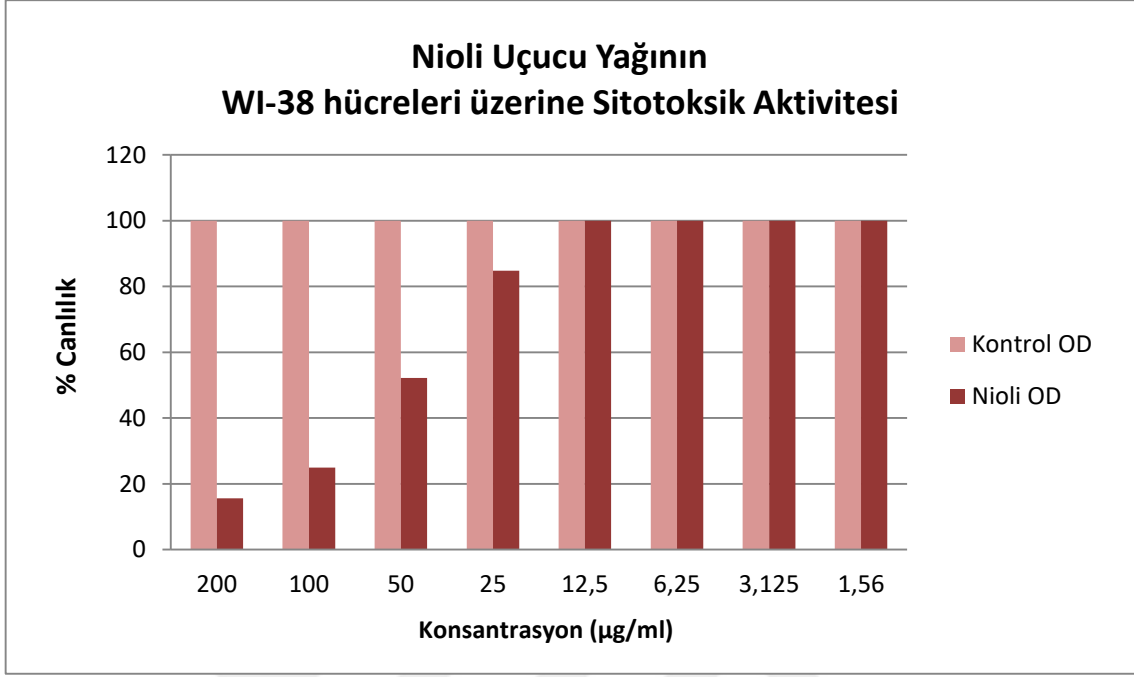
**Çizelge 13.** Nioli'nin çeşitli konsantrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine % Canlılık oranları

İlaç (Konsantrasyon)	Canlılık (%)
200 µg/ml	15,58
100 µg/ml	25,00
50 µg/ml	52,17
25 µg/ml	84,78
12,5 µg/ml	100
6,25 µg/ml	100
3,125 µg/ml	100
1,56 µg/ml	100
<b>Pozitif Kontrol (DMEM+FBS+PS)</b>	<b>100</b>
<b>Negatif Kontrol (DMSO)</b>	<b>0</b>

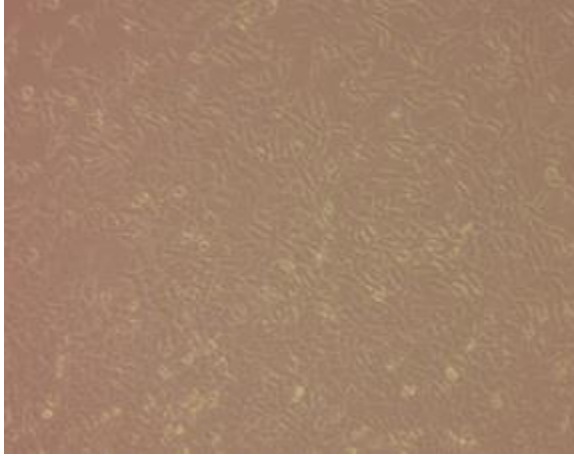
Çizelge 13’de Nioli’ nin WI-38 hücreleri üzerindeki toksik etkisi, çeşitli konsantrasyonlarda canlılık yüzdesi olarak verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, Nioli’ nin konsantrasyonu azaldıkça hücre canlılığı yüzdesi artmakta, yani toksik etkisi azalmaktadır.



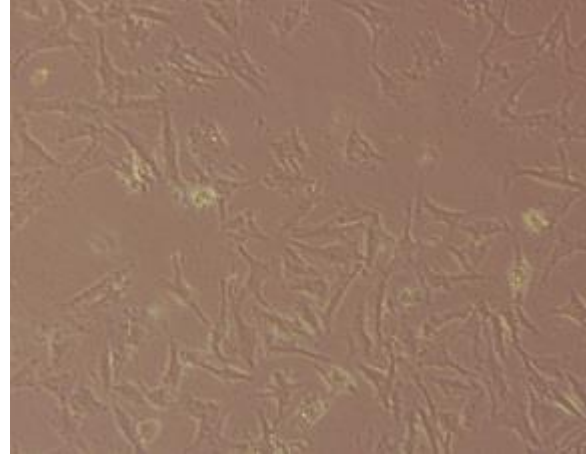
**Grafik 11.** WI-38 hücre hattında Nioli % canlılık grafiği



**Grafik 12.** Kontrol Optik Dansite ortalaması (%100 alınmıştır) ile Nioli'nin farklı konstrasyonlarının WI-38 hücreleri üzerine canlılık yüzdesi.



WI-38 hücre hattının morfolojisi



Nioli uçucu yağı ile muamele edilmiş WI-38 hücre hattının morfolojisi

**Şekil 15.** WI-38 hücre hattı morfolojisi

**Çizelge 14.** Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının IC50 değerleri

IC <sub>50</sub> (µg/mL)	<b>MCF-7</b>	<b>DU-145</b>	<b>WI-38</b>
<b>Palmarosa</b>	6,29 ±0,56	3,14 ±0,12	20,06 ±1,02
<b>Nioli</b>	18,49 ±0,98	15,85 ±0,15	39,45 ± 0,85

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarıyla DU-145 ve MCF-7 hücre serileri üzerinde yapılan çalışmalarda, Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının DU-145 hücre hattı üzerinde daha etkili olduğu gözlenmiştir. Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının etkin oldukları dozlarda sağlıklı WI-38 hücre hattında toksisitesinin olmadığı gözlenmiştir.

## 5- TARTIŞMA

Kanser, hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol eden genlerin hasar görmesi ile ortaya çıkan kompleks bir hastalıktır (Pal D. ve Nayak K., 2010). Günümüzde kanser tüm dünya ülkelerinde büyük sorun teşkil eden hastalıkların başında gelmektedir. Gelecek 20 yıl için Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) bağlı Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumunun (IARC) öngörüsü dünyadaki ölüm nedenlerinin arasında kanserin birinci sırada olacağıdır (Tarançı Ö., 2014)

Kanser türleri arasında en sık rastlananlar kadınlarda meme kanseri, erkeklerde prostat kanseri olarak yer almaktadır (Parkin D. ve ark., 2005).

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapik ilaçlar tedaviye bağlı olarak ağır yan etkiler göstermektedir. Kanser tedavisinde mevcut kanser ilaçlarının dışında kullanılan radyoterapi, cerrahi tedavi ve hormon terapisi gibi yöntemler tedavi sonucunun başarı olasılığının düşük olması ve yan etkiler göstermeleri nedeni ile tedavide kullanılacak başka yöntemlere arayışları arttırmıştır (Tekin A. ve ark., 2012). Yapılan klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda kanserin tedavisine yönelik alternatif ve tamamlayıcı ilaçların ve tedavi yöntemlerinin ortaya konulmasının önemi vurgulanmaktadır. Bitkiler kanserin birçok formunun tedavisi için yüksek derecede etkili geleneksel ilaçların birincil kaynağını oluşturmaktadır. Antikanser terapisi için kullanılan %60' tan fazla antikanser ajanı bitki, deniz ya da mikroorganizmalardan türevlidir (Jain D. ve ark., 2011).

Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri üzerinde günümüze kadar geniş birçok araştırma yapılmıştır. Knobloch ve ark., yaptıkları bir çalışmada, yüksek bitkilerden elde edilen antimikrobiyal maddelerin mikrobiyal metabolizmanın enzim reaksiyonunu durdurabileceği, ortamdan besin maddelerinin alımını engelleyebileceği, çekirdeksel veya ribozomal seviyede enzim sentezini etkileyebileceği, membran yapısını değiştirebileceği veya ara metabolizmada sınırlı bir faktör olarak başka maddelerle yer değiştirebileceği belirtilmiştir (Knobloch K. ve ark., 1986).

Dülger ve ark. yaptıkları çalışma ile çeşitli bitki yağlarının ve ekstralarının antimikrobiyal etkilerinin farklı olduğunu göstermektedir. Bitkinin sahip olduğu kimyasal kompozisyonundan, kullanılan mikroorganizma türünden, bitki ekstraksiyonu yapıyorsa



ekstraksiyonda kullanılan maddeden ve yöntemdeki farklılıklardan kaynaklanabileceği belirtmişlerdir. Mikroorganizmaların çeşitli kemoterapotik maddelere karşı duyarlılıklarının suştan suşa bile farklılık gösterdiği uzun zamandan beri bilinmektedir (Dülger B. ve ark.,1999).

*Verma* ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre; *C. martinii* bitkisinden elde edilen uçucu yağı, Gram-pozitif ve Gram negatif suşlara karşı orta ile çok iyi aktiviteye sahip geniş spektrumlu antibakteriyel aktivite göstermiştir (Verma R.S. ve ark., 2018).

*Hammer* ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; Palmarosa ve Niaouli uçucu yağları *Pseudomonas aeruginosa* dışındaki tüm mikroorganizmaları inhibe etmiştir. (Hammer K.A. ve ark., 1998)

Ganjewala' nın yaptığı çalışmalardan; *Cymbopogon* türlerinin esansiyel yağlarının üstün antifungal aktiviteleri ve önemli antibakteriyel aktiviteleri olduğu ortaya çıkmıştır. (Ganjewala D., 2009)

Ponce ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; İsviçre mikroflorası üzerinde çeşitli esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Minimum bakterisidal konsantrasyonunu (MBC) ve minimum inhibitör konsantrasyonunu (MIC) belirlemek için mikrodilüsyon yöntemini kullanmışlar. Çalışma sonucunda *Eucalyptus globules*, *Melaleuca alternifolia*, *Pimpinella anisum* ve *Syzygium aromaticum'* un esansiyel yağları en etkili antimikrobiyal aktiviteyi sunduğu sonucuna ulaşmışlardır. (Ponce A.G. ve ark., 2003)

Bassolé I.H.N. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; Burkina Faso'dan *Cymbopogon citratus* ve *Cymbopogon giganteus* yapraklarından elde ettikleri uçucu yağları disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak dokuz bakteriye karşı test etmişlerdir. *C. giganteus* uçucu yağı, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiler gösterirken *C. citratus* uçucu yağı, *Pseudomonas aeruginosa*'yı inhibe edememiştir (Bassolé I.H.N. ve ark., 2011).

Hammer ve arkadaşları; *Melaleuca alternifolia* (çay ağacı) yağı 81 *C. albicans* izolatu ve 33 albicans olmayan *Candida* izolatına karşı etkinlik açısından agar dilüsyon yöntemiyle test etmişler ve sonuç olarak İzolatların % 90' ını inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Bu durum

kandida enfeksiyonlarının tedavisinde *Melaleuca alternifolia* (çay ağacı) yağının yararlı olabileceğini düşündürmektedir (Hammer K.A. ve ark., 1998)

Karaca yaptığı çalışmada *Nerium oleander* bitkisinin çiçek ve yaprağından elde edilen etanollü ve sulu ekstraktlarının MCF-7 hücre kültürü üzerinde belirgin bir sitotoksik etkisi olduğu görülmüştür (Karaca T., 2008).

Prashar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonucuna göre; Palmarosa yağı (*Cymbopogon martinii*) %0,1 konsantrasyonda *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin büyümesini tamamen inhibe ettiği gözlenmiştir (Prashar A. ve ark., 2003).

Sharma ve arkadaşları; insan kanser hücre dizileri HL-60, murin Ehrlich ve Sarcoma-180 tümörlerinde elektron mikroskobu ile kombinasyon halinde *Cymbopogon flexuosus* esansiyel yağının antikanser aktivitesini araştırmışlardır. Yaptıkları deneyler sonucunda uçucu yağ tarafından tetiklenen kanser hücreleri hatlarında apoptozisin indüklenmesini destekleyen bazı morfolojik değişiklikler gözlemlemişlerdir (Sharma PR. ve ark., 2009).

Khan ve Ahmad yaptıkları çalışmada; *Cymbopogon martinii*'nin antifungal aktivitesini, diğer esansiyel yağlar ve onların bileşenleri ile birlikte, *Aspergillus fumigatus* ve *Trichophyton rubrum* üzerinde, biyo-kütle üretiminin inhibisyonu ve mantar radyal büyüme yöntemlerinin inhibisyonu yoluyla incelemişlerdir. Bu çalışma ile beraber *Cymbopogon martinii* esansiyel yağının güçlü antimikrobiyal özelliklerinin varlığı ve bu nedenle mevcut antibiyotik ilaçlara alternatif terapötikler üretebilir sonucuna varmışlardır (Khan, M.S.A. ve Ahmad, I., 2011).

Sharma ve arkadaşları; *Cymbopogon flexuosus* bitkisinden elde edilen esansiyel yağ on iki insan kanser hücre hattına karşı in vitro sitotoksitesisi açısından incelemişlerdir. Sonuç olarak; 502713 (kolon), IMR-32 (nöroblastoma), Hep-g-2 (karaciğer) ve SiHa (serviks) karşısında daha belirgin olmak üzere tüm hücre hatlarına karşı önemli sitotoksik aktivite göstermişliğini tespit etmişlerdir. (Sharma R. ve ark., 2009)

Thangam R. ve arkadaşları *Cymbopogon citratus*'un uçucu yağının antikanser aktiviteleri hakkında yaptıkları çalışmada; uçucu yağın karsinoma hücreleri üzerinde potansiyel sitotoksik ve apoptotik etkiler sergiledileri sonucuna ulaşmışlardır. (Thangam R. ve ark., 2014)

Byahatti ve arkadaşları; *Melaleuca alternifolia* bitkisinin Lösemi kanser hücre dizisi (K562) üzerindeki antikanser aktivitesini MTT testi ile in vitro bir yöntemle değerlendirmiş ve bu çalışma sonucunda istatistiksel anlamlı sonuçların varlığından bahsetmişlerdir (Byahatti S. ve ark., 2018).

Bhalla ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile; Çay ağacı yağının (*Melaleuca alternifolia*) in vitro antitümör aktivitesi, insan melanom M14 WT hücrelerine ve ilaçlara dirençli muadilleri olan M14 ADR hücrelerine, uzun süreli doksorubisin maruziyetine göre analiz etmişlerdir. Deneyin sonucu olarak anlamlı şekilde antioksidan ve sitotoksik etkisinin varlığı tespit edilmiştir (Bhalla Y. ve ark., 2013).

Chabir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre; *Melaleuca armillaris* uçucu yağın sitotoksik aktivitesi MCF-7 insan göğüs kanseri hücrelerine karşı test edilmiş ve yüksek aktiviteli bulunmuştur (Chabir N. ve ark., 2011).

Xia ve arkadaşlarının çalışmalarına göre; *Melaleuca alternifolia* (çay ağacı) yağının antimikrobiyal ve in vitro anti-tümör aktivitelerini analiz etmişler. Sonuçlar, çay ağacı yağının *Aspergillus niger* hariç tüm test edilen mikroorganizmalara karşı belirgin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiş. *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans'a* karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) %0.25 (v / v) olarak belirlenmiştir. Zaman kinetik deneyleri ile de, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans'ın*, 1, 4 ve 8 saat boyunca çay ağacı yağına maruz kaldıktan sonra tamamen öldürüldüğünü göstermiştir. *Melaleuca alternifolia* bitkisinden elde edilen çay ağacı yağı ayrıca insan akciğer kanseri hücre hattına (A549), insan meme kanseri hücre hattına (MCF-7) ve insan prostat kanseri hücre hattına (PC-3) karşı güçlü sitotoksikite sergilemiştir (Xia Liu ve ark., 2009)

Bayala ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; *Cymbopogon citratus* ve *Cymbopogon giganteus* bitkilerine ait uçucu yağlarının tümör hücre kültürleri üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Bu amaçla antioksidan, potansiyel antiinflamatuvar etki ve sitotoksik aktiviteler çeşitli prostat kanseri ve glioblastoma hücre dizileri üzerinde test edilmiştir. *C. citratus* esansiyel yağı prostat hücre hattında PC-3 (IC<sub>50</sub> ¼ 32.1 mg /ml) ve glioblastoma hücre hatlarında (SF-767 (IC<sub>50</sub> = 45.13 mg / ml) ve SF-763 (IC<sub>50</sub> = 172.05 mg / ml) anlamlı sonuçlar vermiştir (Bayala B. ve ark., 2018).

Kumar ve arkadaşları; Limon otu *Cymbopogon flexuosus* uçucu yağının insan lösemi HL-60 hücrelerinde apoptosisi indüklemeye yetenekleri nedeniyle araştırmış ve 48 saat sonunda IC50 30 ~ 20 g / ml ile hücre proliferasyonunu inhibe ettiği sonucuna ulaşmışlardır. Konsantrasyona bağlı olarak çeşitli son noktalarla ölçülen güçlü ve erken apoptozda artış gözlemlemişlerdir (Kumar A. ve ark., 2008).



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 6.1. Sonuç

Bu tez çalışmasında; *C. martinii* bitkisinden elde edilen Palmarosa ve *M. viridiflora* bitkisinden elde edilen Nioli uçucu yağlarının, MCF-7 meme kanseri ile DU 145 prostat kanseri hücre hatları üzerine antitümör, WI-38 insan fibroblast hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitelerinin ve çeşitli bakteriler ile maya hücreleri üzerine antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri Disk Difüzyon ve Mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Antibakteriyel etki için gram-pozitif bakteri olarak *S. aureus*, *B. cereus*; gram-negatif bakteri olarak *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*; antifungal etki için *C. albicans* suşları kullanılmıştır.

Palmarosa uçucu yağının 8 farklı konsantrasyonuyla gerçekleştirilen disk difüzyon yönteminde; 1. konsantrasyonun (200 µg/ml) *K. pneumoniae* bakterisine karşı pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiğe çok yakın (20 mm) zon çapı oluşturduğu gözlemlendi. *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı da, Palmarosa'nın ilk 4 konsantrasyonunun, pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiğe çok yakın zon çapları oluşturdukları belirlendi. *C. albicans*' a karşı antifungal etkisinin de ilk iki konsantrasyonda (200 µg/ml-10 mm, 100 µg/ml-6 mm) bulunduğu tespit edilmiştir.

Palmarosa uçucu yağının 10 farklı konsantrasyonuyla gerçekleştirilen mikrodilüsyon yönteminde belirlenen MİK değerlerine göre; en yüksek antibakteriyel etkiyi *B. cereus*' a karşı göstermiştir. (MİK: <20 µg/ml). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E.coli* ve *C. albicans*' a karşı orta etkili, *P. aeruginosa*' ya karşı zayıf etkili bulunmuştur.

Nioli uçucu yağının 8 farklı konsantrasyonuyla gerçekleştirilen disk difüzyon yönteminde ise; sadece *K. pneumoniae* bakterisine karşı ilk 5 konsantrasyonunda, pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiğe göre orta derecede bir antibakteriyel aktivite gözlemlenmiştir. *C. albicans*' a karşı antifungal etkisinin de ilk iki konsantrasyonda (200 µg/ml-8 mm, 100 µg/ml-6 mm) bulunduğu tespit edilmiştir.

Nioli uçucu yağının 10 farklı konsantrasyonuyla gerçekleştirilen mikrodilüsyon yönteminde belirlenen MİK değerlerine göre sadece *B. cereus* bakterisine karşı orta etkili

MİK değerine ulaşmıştır (MİK: 156 µg/ml). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E.coli*, *C. albicans*' a karşı zayıf etkili bulunmuştur (>5000 µg/ml). Tartışmada belirtilen referans kaynaklara göre ilgili bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkinin varlığı, bizim çalışmamızda da benzer şekilde gösterilmiştir.

Uçucu yağların çözeltileri MCF-7 meme kanseri ve DU-145 prostat kanseri hücre hatları üzerine antitümör aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla, 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml, 3,125 µg/ml, 1,56 µg/ml konsantrasyonlarda hazırlandı ve XTT testi ile hücrelerin canlılığı tespit edildi.

Palmarosa uçucu yağının ilk 6 konsantrasyonunda MCF-7 hücreleri üzerine oldukça yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyonda (200 µg/ml) % 100 ün üzerinde hücre öldürme oranı bulunmuştur. Altıncı konsantrasyonda (6,25 µg/ml) dahi % 92,79 olan kanser hücrelerini öldürme oranı oldukça yüksektir. IC50 değeri 6,29 µg/ml bulunduğundan, düşük konsantrasyonda bile Palmarosa uçucu yağının etkinliğini görmek mümkündür.

Palmarosa uçucu yağının ilk 6 konsantrasyonunda DU-145 hücreleri üzerine oldukça yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyonda (200 µg/ml) % 100' ün üzerinde hücre öldürme oranı bulunmuştur. En düşük konsantrasyonda (1,56 µg/ml) dahi % 75,43 olan kanser hücrelerini öldürme oranı oldukça yüksektir. IC50 değeri 3,14 µg/ml bulunduğundan, çok düşük konsantrasyonda bile Palmarosa uçucu yağının etkinliğini görmek mümkündür.

Nioli uçucu yağının ilk 4 konsantrasyonunda MCF-7 hücreleri üzerine oldukça yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek 2 konsantrasyonda (200 µg/ml ve 100 µg/ml) % 100 ün üzerinde hücre öldürme oranı bulunmuştur. IC50 değeri 18,49 µg/ml bulunduğundan, düşük konsantrasyonlarda Nioli uçucu yağının etkinliğini görmek mümkündür.

Nioli uçucu yağının ilk 6 konsantrasyonunda DU-145 hücreleri üzerine oldukça yüksek etki (% 80 ve üzeri) gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyonda (200 µg/ml) % 100 ün üzerinde hücre öldürme oranı bulunmuştur. En düşük konsantrasyonda (1,56 µg/ml) dahi % 77,14 olan kanser hücrelerini öldürme oranı oldukça yüksektir. IC50

değeri 15,85 µg/ml bulunduğundan, düşük konsantrasyonlarda Nioli uçucu yağının etkinliğini görmek mümkündür.

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarıyla DU-145 ve MCF-7 hücre hatları üzerinde yapılan çalışmalarda, Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının özellikle DU-145 prostat kanseri hücre hattı üzerinde MCF-7 meme kanseri hücre hattına oranla daha etkili olduğu gözlenmiştir. Yapılan araştırmalarda *C. martinii* ve *M. viridiflora* türlerine ait antitümör aktivite çalışması bulunamamıştır. Ancak referans kaynaklara göre, *Cymbopogon* ve *Melaleuca* cinslerine ait farklı türlerde antitümör aktivite tespit edilmiştir.

Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının 8 farklı konsantrasyonu, normal insan akciğer fibroblast hücresi olan WI-38 hücre hattı üzerine denenmiş ve sitotoksik aktivite sonuçları % hücre canlılığı olarak değerlendirilmiştir.

Palmarosa uçucu yağının ilk konsantrasyonunda (200 µg/ml) oldukça düşük bir hücre canlılığı (% 5,81) görülmesine rağmen, diğer konsantrasyonlarda giderek artan hücre canlılığı yüzdesi elde edilmiştir. Hücre canlılığı, son 5 konsantrasyonda % 100'e ulaşmıştır. (25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml, 3,125 µg/ml, 1,56 µg/ml)

Nioli uçucu yağının ilk konsantrasyonundan itibaren diğer konsantrasyonlarda giderek artan hücre canlılığı yüzdesi elde edilmiştir. Hücre canlılığı, son 5 konsantrasyonda % 100 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının etkin oldukları dozlarda sağlıklı WI-38 hücre hattında belirgin bir toksisitesinin olmadığı gözlenmiştir.

## 6.2. Öneriler

Kanser tedavisinde hâlihazırdaki tedavilerin kimi zaman yetersiz, kimi zaman eksik olmasından kaynaklı alternatif terapiler pek çok hasta tarafından olumlu olarak değerlendirilmektedir. Bu amaçla tamamen doğal ve daha az zararlı yan etki olduğuna inanılan bitkilerden yararlanılmaktadır.

Uçucu yağların kanser hücrelerini öldürme oranının yüksek bulunması iyi bir kemoterapötik ilaç olması için yeterli değildir. Kemoterapötiklerin, antitümör etkisinin yanısıra vücudun normal hücreleri üzerine de toksik etkisinin hiç olmaması ya da çok az

olması beklenmektedir. Bu nedenle uçucu yağlarımız normal insan akciğer fibroblast olan WI-38 hücreleri üzerinde de sitotoksik etkilerini belirlemek amacıyla test edilmiştir.

Palmarosa uçucu yağı her iki kanser hücre hattına karşı, Nioli uçucu yağına göre daha yüksek etki göstermiştir. Normal insan hücreleri üzerine sitotoksik etkinin araştırılması sonucunda Nioli'nin Palmarosa'ya oranla daha az toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Hem antitümör hem sitotoksik etki birlikte incelendiğinde ise, MCF-7 ve DU-145 hücre hatlarına yüksek antitümör etki gösterdiği dozlarda toksik etkisinin de bulunmaması sebebiyle, en uygun uçucu yağ Palmarosa olarak değerlendirilebilir.

Kaynak taramasında elde ettiğimiz verilere göre Palmarosa ve Nioli uçucu yağlarının antitümör etkilerinin araştırılması ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır. Benzer uçucu yağların diğer kanser hücre hatları üzerine antitümör etkisinin araştırılması ve bununla beraber normal insan hücreleri üzerine herhangi bir toksik etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için farklı insan hücre hatlarında da araştırma yapılabilir.

Sonuç olarak; Palmarosa ve Nioli uçucu yağları için antikanser tedavilerinde alternatif bir ürün olarak kullanılacak kapasiteye sahip maddeler oldukları sonuçları elde edilmiştir. İleriki aşamada bu iki uçucu yağın hayvan deneylerinde test edilmesi ve sonrasında klinik araştırmaya yöneltilecek kemoterapi ilacı olarak geliştirilmesi önerilebilir.



## KAYNAKÇA

- Aliyazıcıoğlu Y., Demir S., Turan I., Cakiroğlu TN., Akalin I., Deger O., Bedir A. (2011). Preventive and protective effects of Turkish propolis on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage in foreskin fibroblast cell lines, *Acta Biologica Hungarica* 62(4): 388-396.
- Arpa M., (2013). Prostat kanseri tanısında yeni belirteçler: İdrar sarkozin ve serum PRO-PSA düzeyleri, *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Marmara Üniversitesi
- Awouafack et. Al. (2013). Antibicrobial activity and cytotoxicity of the ethanol extract, fractions and eight compounds isolated from eriosema robustum, *BMC complementary and Alternative Medicine*, 13: 289 <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/289>
- Aydoğan F., (2006). Salvia sclarea L. Bitkisinin Uçucu Yağ Bileşimi ve Antimikrobiyal Etkisi Üzerine Araştırmalar, *Yüksek Lisans Tezi*, İnönü Üniversitesi
- Aydoğar A., (2012). İnsan Meme Kanseri Hücre serisi (MCF-7) Üzerinde Phellodendron lavallei Bitkisinden İzole Edilen Felavin Saf Maddesinin Sitostatik ve Apoptotik Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Abant İzzet Baysal Üniversitesi
- Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils-A Review, *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Bassoléa I.H.N., Lamien-Medab A., Bayalaa B., Obamea L.C., Iboudoa A.J., Franzb C., Novakb J., Nebié R.C., Dickoa M.H., (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of Cymbopogon citratus and Cymbopogon giganteus essential oils alone and in combination, *Phytomedicine* 18, 1070–1074.
- Bayala B., Bassole H.N., Maqdasy S., Baron S., Jean J.S., (2018). Cymbopogon citratus and Cymbopogon giganteus essential oils have cytotoxic effects on tumor cell cultures. Identification of citral as a new putative anti-proliferative molecule, *Biochimie* 153:162-170
- Bayaz M. (2014), Esansiyel Yağlar; Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri, *AkademikGıda*12(3) 45-53
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimine Arttırılması Olanakları, Türkiye Ziraat Müh. 7. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak 2010 Ankara, Bildiri Kitabı I, 437-456
- Baytop, T. ve Başer, K. H. C. (1995). On Essential Oils and Aromatic Waters Used as Medicine in İstanbul Between 17 th. and 19 th. Centuries-Başer, K. H. C., Ed, Flavours

Fragrances and Essential Oils-Proceedings of the 13 th. *International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils*, Ocak, İstanbul

Bhalla Yashika, Kumar Gupta Vinay and Jaitak Vikas (2013). Anticancer activity of essential oils: a review, *JSciFoodAgric* 2013;93:3643–3653, [www.soci.org](http://www.soci.org)

Bilgehan H., (2009). Klinik Mikrobiyolojik Tanı Kitabı, *Barış Yayınları*.

Bombarda, I., Raharivelomanana<sup>1</sup>, P., Ramanoelina, P., Faure R., Bianchini, J. P., Gaydou, E. M., (2001). Spectrometric identifications of sesquiterpene alcohols from niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) essential oil, *Analytica Chimica Acta* 447 113–123

Boyd, R.F., (1995). Basic Medical Microbiology, Little Brow and Company, USA.

Byahatti Sujata, Bogar Chetana, Bhat Kishore and Dandagi Girish (2018). Evaluation of anticancer activity of *Melaleuca alternifolia*. (i. e. tea tree oil) on Leukemia cancer cell line (K562): *An in vitro study*, *Journal of Medicinal Plants Studies* 2018; 6(5): 01-06.

Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.

Cerit L.S., (2008). Bazı Baharat Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri, *Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*.

Ceylan A., (1987). Tıbbi Bitkiler 2 (Uçucu Yağ İçerenler), *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü*, 481:188, İzmir.

Chabir N., Romdhane M., Valentin A., Moukarzel B., Marzouq H., Brahim N., Mars M., Bouajila J., (2011). Chemical Study and Antimalarial, Antioxidant, and Anticancer Activities of *Melaleuca armillaris* (Sol Ex Gateau) Sm Essential Oil, *Journal of Medicinal Food* vol. 14, NO. 11 |, <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0168>

Chao W., Sub C. C., Pengc H. Y., Choub S. T., (2017). *Melaleuca quinquenervia* essential oil inhibits  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone-induced melanin production and oxidative stress in B16 melanoma cells, *Phytomedicine* 34, 191–201.

Chauhan K.N., (2017). Influence of Various Plant Spacing on Growth, Herbage Yield, Essential Oil Yield and Aroma Content of Palmarosa (*Cymbopogon martinii* Roxb.) at Different Harvest Under Agro-Climatic Condition of Doon Valley Nirpendra Kumar

Chauhan, Mahesh Prasad Semwal, Dilawar Singh, *Bhupendra Singh, Sandeep Rauthan.*, *TEOP* 20 (6) 2017 pp 1587 – 1593

Chouhan R. and Baipai A.K., (2009). Real Time in vitro Studies of Doxorubicin Release From PHEMA Nanoparticles, *Journal of Nanobiotechnology*. Vol: 7, 1-12.

CLSI, (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, *Approved Standard, 9th ed., CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.*

CLSI, (2012). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, *Approved Standard, 2nd ed., NCCLS document M27-A2. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.*

Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*,12(4): 564-582.

Çelik Ebru, Çelik Gökçen Yuvalı, (2007). Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, Yıl: 2007 Cilt: 05 Sayı: 2 Sayfa: 1-6

Çetin, E. S., (2010). “Asmada hücre süspansiyon kültürleri ile sekonder metabolit üretimi üzerine araştırmalar”, Doktora Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, 3-19 (2010).

Demirci T., (2013). Çocuklarda Kullanılan Rezin İçerikli Restoratif Materyallerin İnsan Fibroblast Hücrelerinde Oluşturduğu Sitotoksik Etki ve Oksidatif Stres Seviyesinin Değerlendirilmesi, *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Derbentli, S. (2003), Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri, *Antimikrobiyal Maddeler*, Gazi kitapevi, Ankara, 141-142.

Dorman, H.J.D. and Deans, S.G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.

Dülger, B., Ceylan, M., Alıtsaous, M., Uğurlu, E., (1999) “Artemisia absinthium L. (Pelin)’un Antimikrobiyal Aktivitesi”, *Tr. J. Biology*, 23: 377-384.

Elliot, W.R., Jones, D.L., (1993). Encyclopaedia of Australian Plants Suitable for Cultivation, vol. 6. Lothian, Melbourne, pp. 315-317, 359.

Erdoğan E.A. (2014). Lamiaceae Familyasına Ait Bazı Bitkilerin Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi, Antimikrobiyal ve Antimutajenik Aktivitelerinin Araştırılması, *Doktora Tezi*, Mersin Üniversitesi.

Eti Aslan, F. ve Gürkan, A. (2007). Kadınlarda Meme Kanseri Risk Düzeyi. *Meme Sağlığı Dergisi*, 3(2), 63-68.

Franks, L. M., Knowles, M. A. (2005). What is cancer?, Knowles, M. A., Selby, P. J., Introduction to The Cellular and Molecular Biology of Cancer, Oxford University Press, USA, 1,4.

Farmacia Valencia., (1981). La Formulacion Magistral en la Oficina de Farmacia Valencia.

Ganjewala D. (2009). *Cymbopogon* essential oils: Chemical compositions and bioactivities, *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 3, 56-65.

Gronberg H. (2009). Prostate cancer epidemiology. *Lancet* 2003; 361: 859–64.

Gülmez Derya, (2010). Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, *Yükseklisans tezi*, 2010

Gündüz Sütçü, G. (2010). Tanı-Ameliyat Süreci Yakın Zamanlı Olan Meme Kanseri Hastalarının Öfke, Depresyon, Stresle Başa Çıkma ve Sosyal Destek Değişkenleri Açısından Değerlendirilmesi. *T.C. Ankara Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Psikoloji Bölümü, Uygulamalı Psikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*. Ankara.

Hammer K.A., Carson C.F. and T.V. Riley (1998). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*, 86, 985–990

Haydaroğlu A, Bölükbaşı Y, Özşaran Z. (2007). Ege Üniversitesi'nde kanser kayıt analizleri:34134 Olgunun değerlendirmesi. *Türk Onkoloji Dergisi* 2007; 22(1): 22–28.

İstanbul Üniversitesi Akademik Bilgi Sistemi [aves.istanbul.edu.tr](http://aves.istanbul.edu.tr)  
file:///C:/Users/Kullan%C4%B1c%C4%B1/Downloads/3.ders19.03.2014.pdf

İşcan G., (2002). Umbelliferae familyasına ait bazı bitki türlerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması, *Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi*,

Jain, D., Pathak, N., Khan, S., Raghuram, G. V., Bhargava, A., Samarth, R., Mishra, P. K. (2011). “Evaluation of cytotoxicity and anticarcinogenic potential of Mentha leaf extracts”, *International Journal of Toxicology*, 30 (2): 225-36.

Karaca T., (2008). İnsan Meme Kanseri Hücre Kültüründe Nerium oleander bitkisinden elde edilen ekstraktların antikanserojen etkisinin incelenmesi' *Yükseklisans Tezi*, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Khan, M.S.A., Ahmad, I. (2011). In vitro antifungal, anti-elastase and anti-keratinase activity of essential oils of Cinnamomum-, Syzygium- and Cymbopogon-species against Aspergillus fumigatus and Trichophyton rubrum. *Phytomedicine*. 19: 48-55.

Kılıç A., Bitkisel Kaynaklı Bazı Uçucu Yağ ve Monoterpenlerin Olası Genotoksik Etkilerinin Araştırılması, Anadolu Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, s.33. (2005)

Kılıç Ş, Kömürcü Ş, Rzayev M. (2007), GATA Tıbbi Onkoloji Bilim Dalında izlenen hastaların bazı sosyo demografik özellikleri ve tanıları. *Gülhane Tıp Dergisi 2004; 46 (2): 115–124*

Kiltie, A., Knowles, M. A., Selby, P. J., (2005)., *Radiotherapy and molecular radiotherapy Introduction to The Cellular and Molecular Biology of Cancer, Oxford University Press, USA*, 414

Knobloch K., Weis N. And Weigand H., (1986). Mechanism of antimicrobial activity of essential oils. *Planta Med.* 52: 556.

Kuete V. (2013)., Potential of Cameroonian Plants and Derived Products againts Microbial Infections, Department of biochemistry, University of Dschang, Dschang, Cameron.

Kumar A., Malik F., Bhushan S., Sethi V.K., Shahi A.K., Kaur J., Taneja S.C., Qazi N.G., Singh J., (2008). An essential oil and its major constituent isointermedeol induce apoptosis by increased expression of mitochondrial cytochrome and apical death receptors in human leukaemia HL-60 cells, *Chemico-Biological Interactions 171 :332–347*

Levinson, W. ve Jawetz, E. (1997). Mikrobiyoloji Çeviri Kurulu; Dündar, I.H., Erken, E., Kılıç, B., Memişoğlu, H.R., Özcan, K., Özgüven, T. ve Yarkın, F., *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmunoloji, Barış Kitabevi, İstanbul*.

Monti D. ve ark., (2002). Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin., D. Monti., P. Chetoni., S. Burgalassi., M. Najarro., M. Fabrizio Saettone., E. Boldrini., *International Journal of Pharmaceutics 237*, 209–214

Mouhssen Lahlou, (2004), PHYTOTHERAPY RESEARCH *Phytother. Res.* 18, 435–448  
Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils

Nevin Tanker., Mehmet Koyuncu., Maksut Coşkun., (2016), *Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.*, Ankara., S: 247

Nostro A., Germano M.P., D'angelo V., Marino A. ve Cannatelli M.A. (2000). Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity *Lett. Appl. Microbiol.*, 30 (5), 79-84.

Oskay, M., Oskay, D., (2009). ‘‘Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi’’, E-Journal of New World Sciences Academy Ecological Life Sciences, 4 (2): 31-41 (2009).

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, *Food Control*, 18, 414–420.

Özçimen A., Tiftik RN., (2005). Steroid'in HL-60 (İnsan Akut Miyeloid Lösemi) hücre hattında, apoptoz ve farklılaşma üzerindeki etkisi. *Doktora tezi*, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Programı, Ankara.

Pal, D., Nayak, K. A. (2010). ‘‘Nanotechnology for targeted delivery in cancer therapeutics’’, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 1 (1): 1-7

Parkin, D. M., Bray F., Ferlay, J., Pisani, P.(2005). ‘‘Global cancer statistics, 2002’’, *A Cancer Journal for Clinicians*, 55 (2): 74-108.

Ponce A.G., Fritz R., Valle R.C., Roura R.C. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 36 (2003) 679–684.

Prashar A., Hili P., Veness R., Evans C., (2003). ‘Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*’, *Phytochemistry* 63 569–575.

Raina, V.K., Srivastava, S. K., Aggarwal, K. K., Syamasundar K. V., Khanuja, S. P. S. (2003), Essential oil composition of *Cymbopogon martinii* from different places in India, *Flavour Fragr. J.*; 18: 312–315.

Ramanoelina A.R., Terrom G.P., Bianchini J.P., Coulanges P., (1987). Antibacterial action of essential oils extracted from Madagascar plants. *Arch Inst Pasteur Madagascar*, 53(1):217-226.

Reis, R.L. (2005). *Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, CRC Pres LLC, Florida, 339-349.

Roche Diagnosis Manual, (2013).

<https://pdfs.semanticscholar.org/86dc/39e44dcd6f9e88c522b7c4bf37cd28300449.pdf>

Erişim tarihi: 29.10.18

Ryan, K.J., (1994). Medical Microbiology, Printice-Hall International Inc, USA, 231-32.

Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı., (2011). Kanserle savaş politikası ve 1995–1999 TC. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı; *Bakanlık yayın no: 618*, 145, Ankara

Sharma PR, Mondhe DM, Muthiah S, Pal HC, Shahi AK, Saxena AK, et al. (2009) Anticancer activity of an essential oil from *Cymbopogon flexuosus*. *Chem Biol Interact*; 179:160-68.

Silva, N.C.C., and Fernandes, J.A. (2010). Biological Properties of Medicinal Plants: A Review of Their Antimicrobial Activity, *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 16(3): 402-413.

Souza, E.L.D., Lima, E.D.O., Freire, K.R.D.L., Sousa, C.P.D. (2005). Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 245-250.

Tanker, M., Tanker, N., Şarer, E., Atası, E., Şener, B., Kurucu, S., Meriçli, F., (1990). Result of Certain Investigation on the Volatile Oil Centaining Plants of Turkey, Essential Oils for Perfumery and Flavours, *Proceedings of an International Conference*, Mayıs, Antalya.

Tarañçı Ö., (2014). Bazı bitki ekstraktlarının kanser hücrelerinde antioksidan, antikanserojenik ve apoptotik etkisinin belirlenmesi, Gazi üniversitesi Fen bilimleri enstitüsü, *Yükseklisans tezi*.

Teerasripreecha D. (2012). Phuwapraisirisan P., Puthong S., Kimura K., Chanchao C., In vitro antiproliferative/cytotoxic activity on cancer cell lines of a cardanol and a cardol enriched from Thai *Apis mellifera propolis*., *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12:27.

Tekin, A., Kaya, E., Yazıcı, S. (2012). “Kanserle ilgili alternatif tıp içerikli web sitelerinin içerik analizi”, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 4 (6):14-34 (2012).

Thangam R., Sathuvan M., Poongodi A., Suresh V., Pazhanichamy K., Sivasubramanian S., Kanipandian N., Ganesan N., Rengasamy R., Thirumurugan R., Kannan S., (2014).

Activation of intrinsic apoptotic signaling pathway in cancer cells by *Cymbopogon citratus* polysaccharide fractions, *Carbohydrate Polymers* 107 138–150.

Toroğlu S. ve enet M., (2006). Tedavi amaçlı kullanılan Bazı bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi ierin Kullanılan Metodlar, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2): 12-21.

Tunç T., (2013). Antineoplastik İlaç İçeren Maleik Anhidrit Kopolimer Konjugatlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri, İlaç Salım Davranışları ve Meme Kanseri Hücre Serileri Üzerine Antitümör Aktivitelerinin İncelenmesi, *Doktora Tezi Cumhuriyet Üniversitesi*.

Türk M., (2010). Bazı önemli tıbbi bitkilerin kimyasal kompozisyonu ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde sub ve süperkritik akışkanların etkisi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, *Doktora Tezi*.

Ustaçelebi, Ş., (1991). Genetic Virology, *Hacettepe Tas Kitapçılık*, Ankara.

Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J., Spencer, J. P. E., (2010). “Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action”, *Nutrients*, 2 (11): 1106-1131

Verma R.S. (2018), Rajendra C. Padalia, Prakash Goswami, Sajendra K. Verma, Amit Chauhan, Ved R. Singh & Mahendra P. Darokar, Chemical composition and antibacterial activity of *p*-menthane chemotype of *Cymbopogon martini*(Roxb.) W. Watson (Poaceae) from India, Pages 182-188

World Health Organization, (2012). <https://apss.who.int.infobase/report.aspx>

Xia L., Yuangang Z., Yujie F., Liping Y., Chengbo G., Wei W., Thomas E. (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity towards cancer cells of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil, *Eur Food Res Technol* (2009) 229:247–253.

<http://www.lgcstandards-atcc.org> ., Erişim tarihi: 29.10.18

[http://www.laboratornichemikalie.cz/data/upload/files/No12\\_Cell\\_Proliferation\\_Assay.pdf](http://www.laboratornichemikalie.cz/data/upload/files/No12_Cell_Proliferation_Assay.pdf).

Erişim tarihi: 29.10.18



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Eda SÖNMEZ GÜRER  
Yabancı Dil : İngilizce  
Doğum Yeri ve Yılı : Sivas, 12/01/1981  
Medeni Durumu : Evli, 2 çocuk annesi  
İletişim Adresi : Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi  
Farmakognozi Anabilim Dalı, 58140-SİVAS  
E-posta : edagurer@cumhuriyet.edu.tr

### Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (1999-2004)
- Sönmez Eczanesi – Eczacı -Eczane Sahibi (2004-2012)
- Alliance Healthcare İlaç Deposu - Eczacı- Mesul Müdür (2012-2016)
- Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans (2015- )
- Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Fitoterapi Yüksek lisans (2016-2018)
- Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-Farmakognozi Anabilim Dalı - Öğretim Görevlisi (2016- )

### Mesleki Birlik/Dernek/Kuruluş Üyelikleri:

- 37. Bölge Sivas Eczacılar Odası Yönetim Kurulu Üyesi
- Türk Eczacılar Birliği Üyesi
- Türk Eczacılar Birliği Bitkisel Drog Üretimi, Drog ve Tohumculuğu ile Drog Eczacı Depoculuğu Komisyonu Bölge Temsilcisi



CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK  
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Palmarosa ( <i>Cymbopogon martinii</i> ) ve Nioli ( <i>Melaleuca viridiflora</i> ) Uçucu Yağlarının, Antimikrobiyal, Antitümör ve Sitotoksik Aktivitelerinin Araştırılması	
ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092
	FAKS	-
	E-POSTA	gokaek2014@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Tutku Tunç			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Farmasötik Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Bölümü			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yüksek lisans tezi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Muhittin Sönmez  
İmza:



# CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Palmarosa ( <i>Cymbopogon martinii</i> ) ve Nioli ( <i>Melaleuca viridiflora</i> ) Uçucu Yağlarının, Antimikrobiyal, Antitümör ve Sitotoksik Aktivitelerinin Araştırılması
-----------------------	--

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BİYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	Başlık değişikliğine dair dilekçe					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2018-02/73	Tarih: 26.02.2018					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili dilekçede; 08.11.2017 tarih ve 2017-11/13 karar numarası ile kabul edilen "Palmarosa ( <i>Cymbopogon martinii</i> ) ve Nioli ( <i>Melaleuca viridiflora</i> ) Uçucu Yağlarının, Antimikrobiyal, Antitümör ve İnsan Fibroblast Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik Aktivitelerinin Araştırılması" başlıklı akademik amaçlı çalışmaya ait başlığın, "Palmarosa ( <i>Cymbopogon martinii</i> ) ve Nioli ( <i>Melaleuca viridiflora</i> ) Uçucu Yağlarının, Antimikrobiyal, Antitümör ve Sitotoksik Aktivitelerinin Araştırılması" olarak değiştirilmesinde araştırmamanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmamanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerden gerekli izin alınarak gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Helsinki Bildirgesi, Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Muhittin Sönmez

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Muhittin Sönmez	Anotomi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yalçın Karagöz	Biyoistatistik	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hatice Özer	Patoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ercan Özdemir	Fizyoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ataş	Farmasötik Mikrobiyoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Binnur Bağcı	Beslenme ve Diyetetik	Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimler Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Engin Altunkaya	İç Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Melih Ülgey	Protetik Diş Tedavisi	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş hekimliği Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*: Toplantıda bulunma

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Muhittin Sönmez

İmza: