

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***JUNIPERUS OXYCEDRUS, SMILAX ASPERA, GANODERMA LUCIDUM*
TÜRLERİNDEN ELDE EDİLEN HAM ÖZÜTLERİN ANTİKANSER,
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

SEVGİ OĞUZ AKIN

KOCAELİ 2018

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

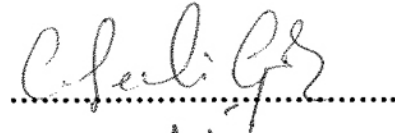
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

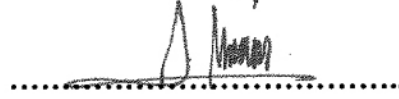
JUNIPERUS OXYCEDRUS, SMILAX ASPERA, GANODERMA LUCIDUM
TÜRLERİNDEN ELDE EDİLEN HAM ÖZÜTLERİN ANTİKANSER,
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

SEVGİ OĞUZ AKIN

Doç.Dr. Canan SEVİMLİ GÜR
Danışman, Kocaeli Ün.



Prof. Dr. Fazıl ÖZEN
Jüri Üyesi, Kocaeli Ün.



Yrd. Doç. Dr. Nermin SARIGÜL
Jüri Üyesi, Mehmet Akif Ersoy Ün.



Tezin Savunulduğu Tarih: 05/01/2018

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera* ve *Ganoderma lucidum* ham metanol özütlerinin sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmamda her türlü desteğini esirgemeyen, çalışmalarına ışık tutan sevgili danışman hocam Doç. Dr. Canan SEVİMLİ GÜR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada Ege üniversitesi Bilim – Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (EBİLTEM) Biyomühendislik Bölümü, Hücre kültürü ve Mikrobiyoloji Laboratuvarları alt yapı imkanları kullanılmıştır. Çalışmamızda bizden her türlü desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ başta olmak üzere Dr. Güner EKİZ, Cansu PALA ÇETİNER ve Yüksek Biyomühendis Aslıhan KAZAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her türlü desteği veren sevgili annem Cemile OĞUZ, sevgili babam Ekrem OĞUZ ve biricik ablam Eylem OĞUZ ALTINTAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak yol arkadaşım, canım eşim Onur Ali AKIN' a anlayışı ve desteği için sonsuz teşekkür ederim.

Ocak-2018

Sevgi OĞUZ AKIN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
TABLolar DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
GİRİŞ.....	1
1. GENEL BİLGİLER VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
1.1. <i>Juniperus oxycedrus</i> Hakkında Genel Bilgi ve Önceki Çalışmalar.....	3
1.2. <i>Smilax aspera</i> Hakkında Genel Bilgi ve Önceki Çalışmalar.....	11
1.3. <i>Ganoderma lucidum</i> Hakkında Genel Bilgi ve Önceki Çalışmalar.....	16
2. MATERYAL VE METOT.....	24
2.1. Materyal.....	24
2.1.1. Bitki ham özütlerinin hazırlanması.....	24
2.1.2. Kullanılan teknik aletler.....	24
2.1.3. Hücre kültürü ve sitotoksisite testi için kullanılan hücre hatları.....	24
2.2. Metotlar.....	26
2.2.1. Kullanılan bitki özütleri ile yapılan ön çalışmalar.....	26
2.2.2. Madde konsantrasyonlarının hazırlanması.....	26
2.2.3. Hücre kültüründe uygulanan metotlar.....	27
2.2.4. DPPH ile antioksidan aktivite tayini.....	33
2.2.5. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi(MİK Testi).....	34
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	35
3.1. Sitotoksisite Bulguları.....	35
3.2. Aktioksidan Aktivite Bulguları.....	42
3.3. Mikrobiyal Aktivite (MİK Testi) Bulguları.....	45
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	47
4.1. Sitotoksisite Sonuç ve Önerileri.....	47
4.2. Antioksidan Aktivite Sonuç ve Önerileri.....	49
4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuç ve Önerileri.....	50
KAYNAKLAR.....	52
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>J. oxycedrus</i> 'un illere göre Türkiye'de yayılımı.....	3
Şekil 1.2. <i>J. oxycedrus</i> dalı ve meyvesi	4
Şekil 1.3. <i>S. aspera</i> illere göre Türkiye'de yayılımı	12
Şekil 1.4. <i>S. aspera</i> bitkisinin dalı ve meyveleri.....	12
Şekil 1.5. <i>G. lucidum</i>	16
Şekil 2.1. Kullanılan hücre hatlarının mikroskoptaki görüntüleri	25
Şekil 2.2. Hücrelerin pasajlanması.....	28
Şekil 2.3. MTT testi için hazırlanan hücreler	30
Şekil 2.4. Madde konsantrasyonlarının hücrelere eklenmesi.....	31
Şekil 2.5. Versamax Tunable Microplate Reader	32
Şekil 2.6. Mikroplaka okuyucu	32
Şekil 2.7. Amersham Pharmacia Ultrospec 1100 Pro UV/ Visible Spectrophotometer	33
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki <i>Juniperus oxycedrus</i> ham metanol özütünün, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının ve normal hücre hattının hücre canlılıklarına olan etkisi.....	36
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki <i>Smilax aspera</i> ham metanol özütünün 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının ve normal hücre hattının hücre canlılıklarına olan etkisi.....	38
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki <i>Ganoderma lucidum</i> ham metanol özütünün, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının ve normal hücre hattının hücre canlılıklarına olan etkisi.....	40
Şekil 3.4. Soldan sağa kör, <i>J. oxycedrus</i> , <i>S. aspera</i> , <i>G. lucidum</i>	44
Şekil 3.5. <i>Juniperus oxycedrus</i> , <i>Smilax aspera</i> ve <i>Ganoderma lucidum</i> özütlerinin DPPH radikal süpürme aktivite bulguları.....	44
Şekil 3.6. <i>Juniperus oxycedrus</i> , <i>Smilax aspera</i> , <i>Ganoderma lucidum</i> özütlerinin MİK testi sonuç grafiği.....	46

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1. <i>J. oxycedrus</i> taksonomik sınıflandırılması	3
Tablo 1.2. <i>S. aspera</i> taksonomik sınıflandırılması	11
Tablo 1.3. <i>G. lucidum</i> taksonomik sınıflandırılması.....	16
Tablo 1.4. Polisakkaritlerin antitümör etkileri	21
Tablo 1.5. Terpenoid türleri ve antitümör etkileri	22
Tablo 2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması için gerekli malzeme miktarları	26
Tablo 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki <i>Juniperus oxycedrus</i> ham metanol özütünün, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının ve normal hücre hattının hücre canlılıklarına olan etkisi.....	35
Tablo 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki <i>Smilax aspera</i> ham metanol özütünün 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının ve normal hücre hattının hücre canlılıklarına olan etkisi.....	37
Tablo 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki <i>Ganoderma lucidum</i> ham metanol özütünün, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının ve normal hücre hattının hücre canlılıklarına olan etkisi.....	40
Tablo 3.4. <i>G. lucidum</i> , <i>J. oxycedrus</i> ve <i>S. aspera</i> 'nın IC ₅₀ değerleri.....	42
Tablo 3.5. DPPH ile Antioksidan Aktivite tayin sonuçları.....	43
Tablo 3.6. MİK testi ile antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	45

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µl	: Mikro litre
µg	: Mikro gram
µM	: Mikro molar

Kısaltmalar

ABTS	: 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonik asit)
AChE	: Asetilkolinesteraz
BChE	: Bütilkolinesteraz
BHA	: Bütilenmiş Hidroksianisol
BHT	: Bütilenmiş Hidroksitolüen
BSLT	: Brine Shrimp Lethality Test (Deniz Karidesi Ölümcül Testi)
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
DAD	: Diode Array Detector (Diyot Dizi Dedektörü)
DMEM-F12	: Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-picrylhidrazil (2.2.-Difenil-1-pikrihidraliz)
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid (Etilendiamin tetra asetik asit)
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Enzim Bağlı İmmünsorbet Deneyi)
ESI	: Electrospray Ionization (Elektrospray İyonizasyon)
FBS	: Fetal Bovine Serum (Fetal Sığır Serumu)
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power (Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü)
GAE	: Gallic Acid Equivalents (Gallik Asit Eşdeğeri)
GC-MS	: Gas Chromatography–Mass Spectrometry (Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometri)
GLIS	: <i>Ganoderma lucidum</i> Proteoglikan Fraksiyonları
HeLa	: İnsan Serviks Adenokarsinomu
HepG2	: Human Liver Cancer Cell Line (İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hattı)
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi)
IC ₅₀	: The Half Maximal Inhibitory Concentration (Yarı Maksimal İnhibisyon Konsantrasyonu)
Jom	: <i>Juniperus oxycedrus</i> L. subsp. <i>macrocarpa</i>
Joo	: <i>Juniperus oxycedrus</i> L. subsp. <i>oxycedrus</i>
KB	: İnsan Epidermal Karsinomu
LC ₅₀	: Lethal Concentration 50 (Öldürücü Konsantrasyon 50)

LC ₉₀	: Lethal Concentration 90 (Öldürücü Konsantrasyon 90)
LC-MS/MS	: Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry (Tandem Kütle Spektrometresi ile birleştirilmiş Sıvı Kromatografi)
MBC	: Minimum Bakterisit Konsantrasyonu
MDA-MB 468	: İnsan Meme Adenokarsinomu
MHB	: Mueller-Hinton Besiyeri
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MS	: Mass Spectrometry (Kütle Spektrofotometri)
MTT	: 3-4,5-dimetil-tiyazolil-. 2,5- difeniltetrazolyum bromid
PBS	: Phosphate-Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuz)
PG	: Propil Galat
PGE2	: Prostaglandin E2
RPMI	: Roswell Park Memorial Enstitü
TBA	: Thiobarbituric Acid (Tiyobarbiturik Asit)
TBHQ	: Tert-bütilhidrokinon

***JUNIPERUS OXYCEDRUS, SMILAX ASPERA, GANODERMA LUCIDUM* TÜRLERİNDEN ELDE EDİLEN HAM ÖZÜTLERİN ANTİKANSER, ANTIOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

Günümüzde kanser insan hayatını tehdit eden en önemli hastalıklardan biridir. Doğal bitkilerden elde edilen bazı bileşiklerin kanserli hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi bilim insanlarının dikkatini bu alan üzerine çekti. Bu çalışmada *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*, *Ganoderma lucidum* türlerinden elde edilen özütlerin antikarsinojenik aktiviteleri MCF7 (insan meme adenokarsinoma), A549 (İnsan küçük hücreli akciğer karsinomu), MDAMB231 (insan meme adenokarsinoma), Saos2 (İnsan osteosarkom), Neuro2A (*Mus musculus* nöroblastoma), NA2B (İnsan nöroblastoma) kanser hücre hatları ve VERO (Afrika yeşil maymun böbreği fibroblastı) normal hücre hattı üzerinde MTT testi ile analiz edildi. Test edilen özütlerden en yüksek sitotoksik aktivite *Juniperus oxycedrus* tarafından 7,2 µg/ml'lik IC₅₀ değeri ile A549 hücre hattına karşı elde edildi. Bunun yanında VERO hücre hattında sitotoksik olmadığı ve bunun sonucunda akciğer karsinomuna karşı ideal bir aday olduğunu gösterdi. Antimikrobiyal etkiler MİK testi ile analiz edildi ve elde edilen sonuçlar bu türlerin potansiyel antimikrobiyal ajan olarak umut vaat ettiğini gösterdi. Bu çalışmada, *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*, *Ganoderma lucidum* özütleri 517 nm'de karakteristik absorpsiyona sahip kararlı bir serbest radikal olan DPPH ile radikal süpürme kapasiteleri için tarandı. En yüksek radikal süpürücü aktivite sırasıyla *S. aspera* (%61), *G. lucidum* (%50,1) ve *J. oxycedrus* (47,3) olarak elde edildi.

Anahtar kelimeler: Antikanser, Antimikrobiyal, Antioksidan, *Ganoderma lucidum*, *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*.

INVESTIGATION OF ANTICANCER, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL EFFECTS OF RAW EXTRACTS FROM *JUNIPERUS OXYCEDRUS*, *SMILAX ASPERA*, *GANODERMA LUCIDUM* AND COMPARISON OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

ABSTRACT

Today, cancer is one of the most important diseases that threaten human life. The cytotoxic effect of certain compounds derived from natural plants on cancerous cells has attracted the attention of scientists to this field. In this study, the anticarcinogenic activities of extracts from *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera* and *Ganoderma lucidum* were investigated for MCF7 (Human, breast, adenocarcinoma), A549 (Human small cell lung carcinoma), MDAMB231 (human, breast, adenocarcinoma), Saos2 (Human osteosarcoma), Neuro2A (*Mus musculus* neuroblastoma), NA2B (Mouse neuroblastoma) cancer cells and VERO (African green monkey kidney fibroblast) normal cell lines by using MTT test. The highest cytotoxic activity from the tested extracts was obtained by *Juniperus oxycedrus* versus A549 cell line with IC₅₀ value of 7,2µg/ml. However, it has been shown that extract is not cytotoxic in the high cell viability of the VERO cell line, and as a result it is an ideal candidate for lung carcinoma. Antimicrobial effects were analyzed by MIC test and the results showed that these species are promising as potential antimicrobial agents. In this study, *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*, *Ganoderma lucidum* extracts were screened for radical sweeping capacities with DPPH, a stable free radical with characteristic absorption at 517 nm. The highest radical scavenging activity was obtained as *S. aspera* (61%), *G. lucidum* (50,1%) and *J. oxycedrus* (47,3), respectively.

Keywords: Anticancer, Antimicrobial, Antioxidant, *Ganoderma lucidum*, *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*.

GİRİŞ

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasıdır (URL-1). Kanser insan hayatını tehdit eden en önemli hastalıklardan biridir. Doğal ürünlerden izole edilen bazı potansiyel antitümör bileşikler araştırmacıları bitkilerin değişik kısımlarının antitümör aktivitesini belirlemeye yöneltmiştir. Birçok kozalaklı türün bazı tümör hücre hatları üzerinde sitotoksik aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir (Sadeghi-aliabadi ve diğ., 2009).

Canlılarda kimyasal süreçler, özellikle oksitlenme, serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Yüksek derecede reaktif olan serbest radikaller farklı moleküller ile kolayca reaksiyona girebilir ve bu nedenle hücrelerin, zarar görmesine neden olabilir. Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek hücrelere zarar vermelerini önlemektedir. Antioksidanlar bu özellikleriyle hücrelerin anormalleşme ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini ve hücre yıkımını azalttıkları için daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir yaşam şansı sağlarlar (URL-2).

Son yıllarda, yaygın bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılan ticari antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel ve yanlış kullanılması nedeniyle, insan patojenik mikroorganizmalarında çoklu ilaç direnci gelişmiştir. Bu durum, bilim adamlarını yeni antimikrobiyal kemoterapötik ajanların iyi bir kaynağı olan tıbbi bitkiler gibi çeşitli kaynaklardan gelen yeni antimikrobiyal maddeler aramak için teşvik etmiştir (Karaman ve diğ., 2003).

Cupressaceae (servi) ailesine ait kozalaklı cinslerin en çeşitlilik gösterenlerinden biri *Juniperus*'dur. *Juniperus oxycedrus* (katran ardıcı), bu cinsin en yaygın olan türüdür. Bir Akdeniz bitkisi olmasına karşın, Trakya'da ve Anadolu'nun birçok yöresinde rastlanır (Koyuncu ve diğ., 2007). Türkiye'de; katran ardıcı, yaprakları ve meyveleri yaygın olarak yaraları iyileştirmek, karın ağrısı ve mide bozuklukları, kadın hastalıkları, hemoroid, soğuk algınlığı, öksürük, bronşit, eklemlerde kalsinozis, mantar enfeksiyonlarına karşı, diyabetes mellitus, böbrek iltihabı ve böbrek taşı tedavisi için kullanılır (Tuzlacı ve Erol, 1993).

Saparna olarak bilinen *Smilax aspera* L., Liliaceae ailesine ait yaprak dökmeyen, son derece sert çalılardan oluşan, tipik bir Akdeniz Bölgesi bitkisidir. Son yıllarda, saponinler sahip oldukları antidiyabetik, antitümör, öksürük kesici ve antedemans ve platelet agregasyon inhibitörleri dâhil olmak üzere birçok farklı biyolojik aktivitelerden dolayı giderek artan bir ilgi çekmiştir (Sparg ve diğ., 2004).

Smilax'ın kanser, diyabet, yaralar, iltihaplar, kaynama ve ülser dahil deri hastalıkları gibi hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılan birçok farmakolojik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Damayanthi ve diğ., 2011). Ayrıca ateş, gut hastalığı, diüretik, oftalmi, infertilite gibi hastalıkların tedavisinde ve antioksidan kaynağı olarak da kullanılmaktadır.

Reishi mantarı (kelimenin tam anlamıyla "doğüstü mantar") ikibin yıldan fazla zamandır geleneksel Çin tıbbında önemli bir şifalı bitki olmuştur. Reishi mantarının en yaygın olarak kullanılan türü *Ganoderma lucidum* ticari olarak yetiştirilmektedir. *G. lucidum* Çin, Japonya ve diğ. Doğu ülkelerinde hipertansiyon, tümör oluşturuç hastalıklar ve immünolojik bozukluklar gibi çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılmaktadır (Russell ve Paterson, 2006).

Bu çalışmanın amacı, *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera* ve *Ganoderma lucidum* türlerinden soxhlet apareyi ile elde edilen özütlerin antioksidan, antimikrobiyal ve bazı kanser hücre hatları üzerindeki antikanser etkilerinin araştırılmasıdır.

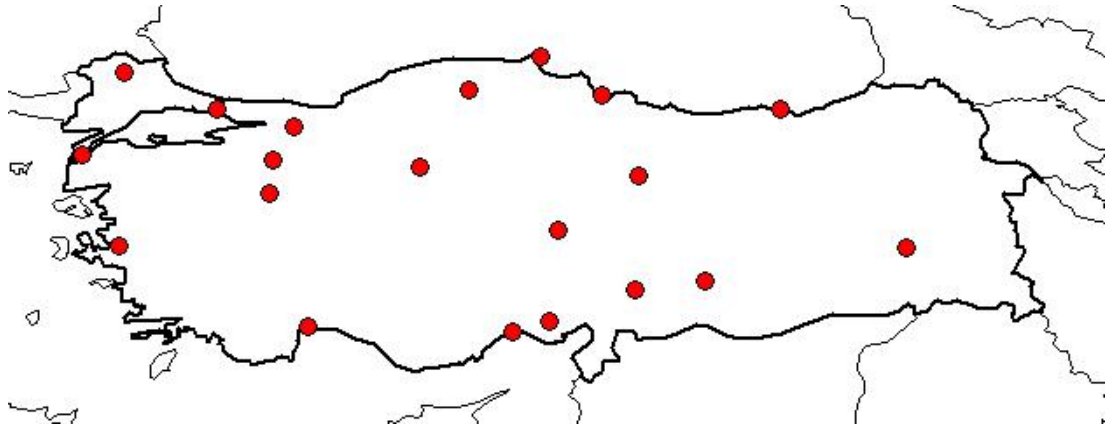
1. GENEL BİLGİLER VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

1.1. *Juniperus oxycedrus* Hakkında Genel Bilgi ve Önceki Çalışmalar

Tablo 1.1. *Juniperus oxycedrus* taksonomik sınıflandırılması (URL-3)

Alem	Plantae
Şube	Coniferophyta
Sınıf	Pinopsida
Takım	Pinales
Familya	Cupressaceae
Cins	<i>Juniperus</i>
Tür	<i>Juniperus oxycedrus</i> L.

Juniperus oxycedrus'un taksonomik sınıflandırılması Tablo 1.1'de gösterilmiştir. Çoğunlukla çalı durumunda gelişir. Yapraklar biz şeklinde, batıcı ve üçlü daireler şeklindedir. Yaprakların üst yüzünde orta damar ile ayrılmış 2 beyaz çizgi bulunur. Meyve kızılımsı kahverengi bir bakka olup Akdeniz bölgesi ağacıdır. Ülkemizde yaygın olarak bulunur (Akman, 1996).



Şekil 1.1. *Juniperus oxycedrus*'un illere göre Türkiye'de yayılımı (URL-3)



Şekil 1.2. *Juniperus oxycedrus* dalı ve meyvesi (URL-4)

Juniperus (ardıç) türleri monoik ya da dioik, ağaç veya çalı formunda bitkilerdir. Dişi kozalak etli pullardan oluşmuştur, bakka tipindedir. Bu cinsteki türlerin bir kısmında yapraklar subulattır (biz şeklinde). *Juniperus oxycedrus* (katran ardıcı), bu cinsin en yaygın olan türüdür. Bir Akdeniz bitkisi olmasına karşın, Trakya'da ve Anadolu'nun birçok yöresinde rastlanır. *Juniperus oxycedrus*'un Türkiye'deki yayılımı Şekil 1.1'de gösterilmiştir. Dioik ve sık bir çalı, bazen küçük bir ağaç formundadır. Yaprakları subulat, dala dik ve üçlü vertisillat dizilişli olup üst yüzünde boyuna, beyaz iki çizgi görülür. Bakka tipindeki meyveleri 6-9 mm çapında, küre şeklinde, kırmızımsı kahverengidir. Şekil 1.2'de *Juniperus oxycedrus*'un dalı ve meyveleri gösterilmiştir.

Katran ardıcı dallarının kuru distilasyonu ile Pix Juniperi (T.K.) (Katran ardıcı, Oleum cadinum) isimli bir drog (ilaç yapılmasında kullanılan doğal organik, inorganik veya sentetik kökenli, tedavi özelliği olan bütün ham maddelere verilen genel isimdir) elde edilmektedir. Kuvvetli antiseptik etki gösteren bu katran dışarıdan cilt hastalıklarında, uyuz, egzema, saçkıranda verilen pomatların, sabunların bileşimine girer, yağlı saçların tedavisinde kullanılır (Koyuncu ve diğ., 2007)

Juniperus, Cupressaceae (servi ailesi) familyasına ait kozalaklı cinslerin en çeşitlilik gösterenlerinden biridir. Bunlar geniş ölçüde kuzey yarımküre boyunca, kuzey kutup dairesinden Afrika'nın tropik dağlarına, yukarıda orman yetişmeyen bölge sınırından deniz seviyesine kadar dağılmıştır (Adams, 2011). Özellikle Avrupa mutfağında baharat olarak kullanılan ardıç meyveleri, kozalıklardan türetilen tek baharattır. Bu

ardıç meyveleri Kuzey Avrupa ve özellikle İskandinav mutfağında et yemeklerine keskin, net bir lezzet vermek için kullanılmaktadır (Loizzo ve diğ., 2007).

Ardıç bitkilerinin bazı türleri toksik etkilere sahip olmasına rağmen, dünyanın çeşitli yerlerinde halk hekimliğinde sıkça kullanılmaktadır (Seca ve Silva, 2006). Türkiyede; katran ardıcı yaprakları ve meyveleri yaygın olarak yaraları iyileştirmek, karın ağrısı ve mide bozuklukları, kadın hastalıkları, hemoroid, soğuk algınlığı, öksürük, bronşit, eklemlerde kalsinozis, mantar enfeksiyonlarına karşı, diyabetes mellitus, böbrek iltihabı ve böbrek taşı tedavisi için kullanılır (Tuzlacı ve Erol, 1993; Yesilada ve diğ., 1995; Honda ve diğ., 1996). Ayrıca kaynatılmış katran ardıcı yaprakları (*Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus L.*) Eğirdir ve Isparta'da kan şekeri seviyesini düşürmek için dahili olarak kullanılmaktadır (Tuzlacı ve Erol, 1993).

Katran ardıcı (*Juniperus oxycedrus L.*) dünya çapında *Juniperus* genusunun 10 türünden biridir (Adams, 1998). Bu çalı veya ağaç tipik bir Akdeniz dağılımına sahiptir ve İber Yarımadası'nda *J. oxycedrus ssp. oxycedrus* dâhil *J. oxycedrus ssp. macrocarpa* (Sibth & Sm.) Ball. ve *J. oxycedrus ssp. badia* Debeaux. olmak üzere üç alt türü kabul edilmiştir (Amaral Franco, 1964). İlk bahsedilen tür Türkiye'nin Marmara ve Ege bölgesinde en bol bulunanıdır (Amaral Franco, 1986).

Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus (İspanya'dan) yaprak ve köklerinin metanol ve diklorometan ekstraktları normotensif ratlarda kan basıncını düşürür, histamin seratonin ve asetilkolin tepkisini inhibe etmekte ve önemli ölçüde antienflamatuvar aktivite göstermektedir (Bello ve diğ., 1997; Moreno ve diğ., 1998; Moreno ve diğ., 1998).

Juniperus oxycedrus bitkisinin dalları ve odun kısmından yıkıcı distilasyonla elde edilen emprömatik bir yağ yaygın olarak kronik, egzama ve diğer cilt hastalıklarını tedavi etmek için, insan ve veteriner dermatolojisinde kullanılmaktadır (Bouhlal ve diğ., 1988).

Saf hale getirilmiş ardıç yağı sabunlar, deterjanlar, kremler, losyonlar ve parfümlerde bir koku bileşeni olarak kullanılmaktadır (Leung ve Foster, 1996). Ayrıca bu bitki aynı zamanda hiperglisemi, obezite, tüberküloz, bronşit ve pnömoni gibi çeşitli

rahatsızlıkların tedavisinde halk ilacı olarak kullanılmaktadır (Sanchez de Medina ve diğ., 1994; Swanston-Flatt ve diğ., 1990).

Son yıllarda, yaygın bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılan ticari antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel ve yanlış kullanılması nedeniyle, insan patojenik mikroorganizmalarında çoklu ilaç direnci gelişmiştir. Bu durum, yeni antimikrobiyal terapötik ajanların iyi bir kaynağı olan tıbbi bitkiler gibi çeşitli kaynaklardan gelen yeni antimikrobiyal maddeler aramak için bilim insanlarını teşvik etmiştir (Karaman ve diğ., 2003).

Juniperus türlerinin yaprakları ve meyvelerinden elde edilen uçucu yağlar, birkaç yüzyıldır kozmetik ve tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Meyve ve odun kısmının buhar damıtma yoluyla ya da odun özünün (katran ardıcı yağı) kuru damıtılması yolu ile elde edilen yağlar bağırsak şeridi (tenya), tifo, cüzzam gibi birçok hastalığın tedavisi için uygulanır. Ardıç meyveleri ve yaprakları diüretik, antiseptik, gaz giderici, antiromatizmal, antifungal ve dezenfektan özellikleri nedeniyle halk hekimliğinde kullanılmaktadır (Loizzo ve diğ., 2007).

Karaman ve ark. (2003) yaptığı bir çalışmada *Juniperus oxycedrus* yapraklarının sulu ve metanol özütlerinin *in vitro* antimikrobiyal özelliklerini araştırmıştır. Bitki örnekleri Türkiye'nin Marmara bölgesinde yer alan Kocaeli, Gebze Pelitli Köyü'nden toplanmıştır. Özütlerin antimikrobiyal aktivitesi 56 bakteri türüne ait 143 laboratuvar suşu ve 5 mantar türünden elde edilen 31 izolat üzerinde disk difüzyon testi, minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK), minimal bakterisit konsantrasyonu (MBK) değerlerine dayanılarak değerlendirilmiştir. *J. oxycedrus*'un sulu özütleri mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir öldürücü etki göstermezken, metanol özütleri *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Brucella*, *Enterobacter*,

Escherichia, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve *Xanthomonas* cinslerine ait 24 bakteri türünün 57 suşunun büyümesi üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu görülmüştür. Buna ek olarak 11 *Candida albicans* izolatı da 31,25-250µg/ml'lik konsantrasyonda inhibe edilmiştir (Karaman ve diğ., 2003).

Orhan ve ark. (2011) yaptığı çalışmada *Juniperus communis ssp. nana*, *Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus*, *Juniperus sabina*, *Juniperus foetidissima* ve *Juniperus*

excelsa türlerinin yaprakları, olgunlaşmış meyve ve olgunlaşmamış meyvelerinden elde edilen sulu ve etanol özütleri *in vitro* asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) inhibitör etkisi ve antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Özütlerin kolinesteraz inhibisyonu ELISA mikroplaka okuyucu kullanılarak taranmıştır. Özütlerin antioksidan aktivitesi 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) ve süperoksit radikal süpürücü, demir iyon şelatlama ve demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) deneyleri ile test edilmiştir. Özütlerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Özütler AChE karşı düşük ya da hiç inhibisyon göstermezken, *J. foetidissima* yaprağının sulu özütü yüksek BChE inhibisyonu göstermiştir ($93,94 \pm 0,01\%$). Yaprak özütleri, genellikle daha yüksek bir antioksidan aktivite ortaya koymuştur (Orhan ve diğ., 2011).

Yapılan bir çalışmada Türki'deki *Juniperus oxycedrus L. ssp oxycedrus* (Joo) ve *Juniperus oxycedrus L. ssp. macrocarpa* (Sibth.&Sm.) Ball. (Jom) olgun meyvelerinden elde edilen metanol özütlerinin fenolik profili ve bazı biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır. Toplam fenolik madde içeriği olarak Jom ($17,89 \pm 0,23$ mg GAE/g özütü) Joo ($5,14 \pm 0,06$ mg GAE/g özütü)'dan 3 kat daha yüksek olarak bulunmuştur. HPLC-DAD-ESI-MS analizi sonucu Joo ve Jom için benzer bir flavonoid parmak izi ortaya koyarken, kantitatif içeriğinde bir fark tespit edilmiştir (4632 ug/g ve 12.644 lg/g özüt). Buna ek olarak, Jom (5765 lg/g özüt)'da sadece üç fenolik asit olduğu ve bunlardan en bol olanı protokateşuik asit olduğu tespit edilmiştir. Özütlerin antioksidan kapasiteleri farklı *in vitro* deneyler ile değerlendirilmiştir: DPPH ve TBA testlerinde Jom daha güçlü bir aktivite gösterirken, Joo daha yüksek indirgeyici güç ve metal şelatlama aktivitesi göstermiştir. Joo ve Jom HepG2 hücre canlılığını etkilemediği ve her iki özütde de *Artemia salina*'ya karşı neredeyse toksik olmayan etki gösterdiği tespit edilmiştir (Taviano ve diğ., 2013).

Epidemiyolojik çalışmalar, antioksidan açısından zengin gıdaların tüketimi ve oksidatif strese bağlı çeşitli hastalıkların ortaya çıkışı arasında açık bir ters korelasyon olduğunu göstermiştir (Pandey ve Rizvi, 2009). Antioksidanlar ayrıca lipid peroksidasyonunu bastırmak ve dolayısıyla gıda kalitesi ve istikrarı geliştirmek için gıda endüstrisinde kullanılabilir. Gıda ve ilaç endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan antioksidanlar bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş

hidroksitolüen (BHT), tert-bütüldenidrokinon (TBHQ) ve propil galat (PG)'dir (Ngo ve diğ., 2011). Ancak, gıda ürünlerinde sentetik antioksidanların kullanımı bunların olası sağlık tehlikeleri nedeniyle yönetmeliklerle sıkı kontrol altındadır; üstelik tüketiciler gıda ve katkı maddelerinin besin değeri ve güvenliği hakkında giderek bilinçli hale gelmektedir. Bu nedenlerle bitkilerden elde edilen antioksidan kullanımı, sentetik olanlara bir alternatif olarak, gıda endüstrisinde giderek artan bir öneme sahip olmaktadır. Fenolik asitler, flavonoidler, tanen ve ligninleri içeren fenolik bileşikler, doğal antioksidanların ana sınıfını temsil eder. Fenolikler birkaç yoldan antioksidan olarak hareket ederler; bunlar radikal süpürücüdür çünkü fenolik gruplar mükemmel nükleofillerdir ve bunun yanında lipid peroksidasyonu sırasında üretilen serbest radikallere bağlanarak oksidasyon reaksiyon kırıncı olarak davranırlar. Buna ek olarak oksidasyon üreten metal iyonlarının şelatoru olarak hareket ederler (Han ve Baik, 2008). Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivite olarak önemi kanıtlanmıştır; çok sayıda patojenik bakteriye karşı mikrop öldürücü aktivitesi belgelenmiştir (Daglia, 2012; Fattouch ve diğ., 2007).

Halk hekimliğinde *J. oxycedrus* meyveleri yaygın olarak gastrointestinal bozukluklar, soğuk algınlığının tedavisinde, öksürük balgam söktürücü olarak, eklemlerde kalsinozisi tedavi etmek için ve böbrek taşı geçirmek için idrar söktürücü, ürinal iltihaplara karşı, hemoroid ve hipoglisemik olarak olarak kullanılmaktadır (Akkol ve diğ., 2009). Yaprakları ve meyveleri paraziter hastalık için dıştan uygulanır. *J. oxycedrus* yapraklar, reçine, kabuğu ve meyve özütlerinin çok sayıda mikroorganizmanın büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Karaman ve diğ., 2003). Ek olarak, *J. oxycedrus* Dalmaçya'da yaygın olarak geleneksel tıbbi konyak hazırlanması için kullanılmaktadır (Öztürk ve diğ., 2011). *J. oxycedrus ssp. oxycedrus* meyve ve yaprakları çay olarak dahili ve meyveleri dövülüp ezilerek diyabet tedavisi için Türkiye'de tüketilmektedir (Orhan ve diğ., 2012).

Loizzo ve ark. (2007) yaptığı çalışmada *J. oxycedrus ssp. oxycedrus* meyve ve odun kısımlarının esansiyel yağlarını deneme olarak GC ve GC/MS ile tespit etmiştir. Meyvelerinden 50 bileşik elde edilirken, odun kısmının esansiyel yağından 23 bileşik tespit edilmiştir. *J. oxycedrus ssp. oxycedrus* meyve yağları yüksek α -pinen (% 27,4) ve β -mirsen (% 18,9) içerikleriyle karakterize edilmiştir. Antioksidan aktivitesinin DPPH yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirilmesi sonucu hem odun için 1,45 μ l/ml

hem de meyve için 7,42µl/ml 'lik IC₅₀ değerleriyle önemli bir etki göstermiştir. Hipoglisemik aktivite α-amilaz inhibisyonu yoluyla araştırılmıştır. Sonuçlar *J.oxycedrus ssp. oxycedrus* odun kısmından hidrodistilasyonla elde edilen yağın 3,49µl/ml'lik IC₅₀ değeri ile ilginç bir aktivite sergilediğini ortaya koymuştur (Loizzo ve diğ., 2007).

Sadeghi-aliabadi ve ark. (2009) yaptığı bir çalışmada *Juniperus excelsa ssp. excelsa* ve *J. excelsa ssp. polycarpos* uç dalları ve meyveleri toplanmış, kurutulmuş ve perkolasyon prosedürü yoluyla etanol/H₂O (80/20 hacim/hacim) ile ekstrakt edilmiştir. Özütlere kurutulmuş, etanol içinde yeniden teşekkül ettirilmiş ve sitotoksik etkileri farklı konsantrasyonlarda ELISA ile MTT deneyi kullanılarak kanser hücreleri üzerinde belirlenmiştir. Bu çalışmada MDAMB468 (insan meme adenokarsinomu), HeLa (insan serviks adenokarsinomu) ve KB (insan epidermal karsinomu) hücreleri kullanılmıştır.

J. excelsa ssp. polycarpos erkek ve dişi dalların özütleri yanı sıra *J. excelsa ssp. excelsa* meyve özütleri KB (insan epidermal karsinomu) hücrelerine karşı inhibitör etkinlik göstermiştir. *J. excelsa ssp. polycarpos* dişi dal ve meyve özütleri 3 hücre hattına karşı da sitotoksik etki göstermiştir. *J. excelsa ssp. polycarpos*'tan elde edilen özütler test edilen pekçok hücre hattına karşı doksorubisin ile karşılaştırılabilir sitotoksik etki gösterirken, *J. excelsa ssp. excelsa* meyve özütleri sadece KB (insan epidermal karsinomu) hücrelerine karşı inhibitör etki göstermiştir (Sadeghi-aliabadi ve diğ., 2009).

Yapılan diğer bir çalışmada *Juniperus macrocarpa* türlerinden elde edilen özüt ve esansiyel yağlarının fenolik ve terpen profilleri ayrıca antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. 45 fenolik içeriği LC-MS / MS ile tespit edilmiştir. Buna göre, yaprak ve kozalak tohumu özütleri arasında önemli ölçüde farklı kompozisyonlar bulunurken, baskın bileşikler ise rutin, kateşin, quersitrin, epikateşin ve amentoflavone olarak belirlenmiştir. GC-MS monotерpenler baskın ve en bol bileşik olarak bir α-pinen olmakla birlikte, basit terpen kompozisyonu göstermiştir. *J. macrocarpa* özütü ve uçucu yağları butile hidroksianisol (BHA) ile karşılaştırılabilir orta derecede yüksek aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Kozalak tohumları, PGE2 üretimine karşı yüksek proenflamatuvar aktiviteye sahip özütleri ile önemli

antiinflatuar aktivite göstermiştir. Uçucu (esansiyel) yağlar, gram pozitif bakterilere karşı, özellikle yapraklar *Clostridium perfringens*'e karşı önemli antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Lesjaka ve diğ., 2014).

Doğal ürünlerden izole edilen bazı potansiyel antitümör bileşikler araştırmacıları bitkilerin değişik kısımlarının antitümör etkisini belirlemeye teşvik etmiştir. Birçok kozalaklı türün bazı tümör hücre hatları üzerinde sitotoksik aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada *Juniperus foetidissima* ve *J. sabina* meyveleri ve dalları toplanmış, kurutulmuş ve bunların etanol özütleri filtreleme kullanılarak elde edilmiştir. Özütler düşük basınç ile kurutulmuştur ve farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 20µg/ml) sitotoksik etkileri üç tümör hücre hattına (HeLa (insan serviks adenokarsinomu), KB (insan epidermal karsinomu), MDAMB468 (insan meme adenokarsinomu)) karşı 540nm'de ELISA kullanılarak, MTT testi ile değerlendirilmiştir. *J. foetidissima*'nın erkek ve dişi dal özütleri ve *J. sabina*'nın meyve özütleri KB (insan epidermal karsinomu) hücrelerine karşı inhibitör aktivite sergilemiştir. *J. foetidissima* erkek dal özütleri ve *J. sabina* meyve özütleri HeLa (insan serviks adenokarsinomu) hücre hattına karşı sitotoksik (hücre hayatta kalma %50'den az) etki göstermiştir. MDAMB468 (insan meme adenokarsinomu) ile ilgili olarak, sadece *J. foetidissima* erkek dal özütleri sitotoksik etki göstermiştir. *J. sabina* özütleri test edilen konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermemiştir. MTT testi ile elde edilen sonuçlara göre KB hücreleri, diğer hücre hatlarından çok daha hassas olduğu görülmüştür (Sadeghi-aliabadi ve diğ., 2009).

Angioni ve ark. (2003) yaptığı bir çalışmada *Juniperus oxycedrus L. spp. oxycedrus*, *Juniperus phoenicea spp. turbinata* ve *Juniperus communis spp. communis* olgun ve olgunlaşmamış meyve ve yapraklarından elde edilen uçucu yağların bileşimi GC-MS ile analiz edilmiş ve mikrobiyolojik deneyleri gerçekleştirilmiştir. Numuneler değişik yörelerden (Sardinya, İtalya) toplanmış ve hidro distile edilmiştir. Ürün verimleri %2,54±0,21 (v/w kuru ağırlık) ve %0,04±0,00 arasında değişmektedir. 36 bileşenin tamamı tanımlanmıştır. Uçucu yağlardaki temel bileşikler; R-pinen, a-pinen, A-3-carene, sabinen, mirsen, K-felandren, limonen ve D-germakren. Hem türler arasında ve bitkinin farklı parçaları arasındaki nitel ve nicel farklılıklar gözlenmiştir. Uçucu yağlar ve bunların ana bileşikleri *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı test edilmiştir ve minimum

inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakteri öldürücü konsantrasyonları (MBK) tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, anlamlı olmayan bir inhibitör etkiye götürmüştür, bununla birlikte *Juniperus phoenicea ssp. turbinata*'dan elde edilen tüm uçucu yağlar ve *Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus* yapraklarından elde edilen uçucu yağlar *Candida albicans* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı nispeten iyi veya zayıf bir aktivite sergilemiştir (Angioni ve diğ., 2003).

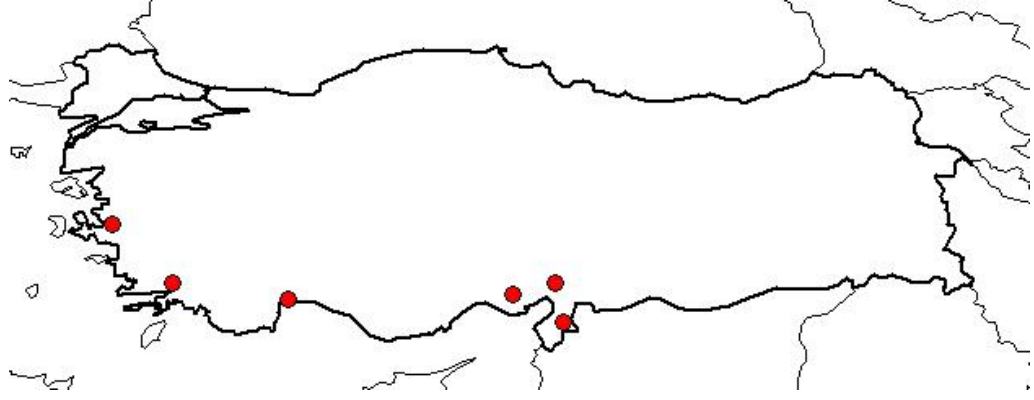
1.2 *Smilax aspera* Hakkında Genel Bilgi ve Önceki Çalışmalar

Tablo 1.2. *Smilax aspera* taksonomik sınıflandırılması (URL-5)

Alem	Plantae
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Liliopsida
Takım	Liliidae
Familya	Smilacaceae(Liliaceae)
Cins	<i>Smilax</i>
Tür	<i>Smilax aspera</i> L.

Saparna olarak bilinen *Smilax aspera* L., Liliaceae ailesine ait yaprak dökmeyen, son derece sert çalılardan oluşan, tipik bir Akdeniz Bölgesi bitkisidir. *Smilax aspera*'nın taksonomik sınıflandırılması Tablo 1.2'de gösterilmiştir.

Smilax cinsinin yurdumuzda iki türü yetişir. Biri yaprakları kordat, meyveleri küremsi olan ve daha çok Kuzey Anadolu' da yayılış gösteren *S. exelsa*, diğeri de yaprakları sagittat, meyvaları armut şeklinde ve kahverengi olan ve genellikle Batı ve Güney'de yetişen *S. aspera*' dır. Birincinin tohumlarındaki zar (arillus) gıcır ismiyle esneklik vermek için sakıza katılır. Ayrıca kırmızı renkli bakkalardan oluşan meyve durumları *Ruscus aculeatus* veya *Ilex* dallarının tepesine bağlanarak kokina adıyla süs çiçeği olarak satılır. Her iki türün de genç sürgünleri Anadolu' da sebze olarak, haşlandıktan sonra yumurta ile pişirilerek yenilebilmektedir (Koyuncu ve diğ., 2007). *Smilax aspera*'nın Türkiye'deki yayılımı Şekil 1.3'de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. *Smilax aspera*'nın illere göre Türkiye'de yayılımı (URL-5)



Şekil 1.4. *Smilax aspera* bitkisi dalı ve meyveleri (URL-6)

Smilax (saparna) cinsi tırmanıcı, dikenli gövdeli çok yıllık bitkilerdir. Yaprakları alternan dizilişli lamina ovat kordat veya sagittat ve saplı olup stipulları metamorfoze olarak sülük şeklini almıştır. Çiçekler yaprakların koltuğunda, salkım veya basit şemsiye durumundadır. Meyve kırmızı veya kahverengidir. *Smilax aspera*'nın dalı ve meyvesi Şekil 1.4'te gösterilmiştir. Bu cinsin Orta Amerika'da yetişen *Smilax ornata*, *S. medica*, *S. officinalis* ve *S. utilis* türlerinin kökleri *Radix sarsaparillae* T.K. (Saparna kökü) adı verilen ve bir çok kodeks ve farmakopede kayıtlı olan bir drogdur. Bileşiminde saponozit yapısında bileşikler bulunur, başlıcaları sarsaponozit ve smilasaponozit'tir, ayrıca nişasta da vardır. Deri hastalıklarında, diüretik olarak ve cüzzamda yani antileprö (lepra=cüzzam) olarak kullanılır.

Smilax aspera bitkisinin yaprakları ve köklerinin yenebilen kullanımı vardır: kökleri yumuşak içeceklerin bir bileşeni olarak kullanılır ve genç sürgünleri pişirilerek kuşkonmazın yerine kullanılmaktadır (Longo ve Vasapollo, 2006). Bunun yanında *S. aspera* geleneksel olarak sifilis, diyabet ve romatizma tedavisi için ve kadınlarda menopoz semptomlarının tedavisinde bir antioksidan olarak kullanılır (Harb ve diğ., 2009). Ayrıca *S. aspera* temizleyici, terletici, idrar söktürücü, uyarıcı ve tonik aktivitesinden dolayı bitkisel ilaç uygulamalarında yer almaktadır (Longo ve Vasapollo, 2006).

Steroida saponinler ileri oluşum, hemolitik aktivite, balık toksisite ve kolesterin kompleks oluşumu gibi özelliklere sahiptirler (Kang ve diğ., 2007). Son yıllarda, saponinler sahip oldukları antidiyabetik, antitümör, öksürük kesici, antidemans ve platelet agregasyon inhibitörleri dâhil olmak üzere birçok farklı biyolojik aktivitelerden dolayı giderek artan bir ilgi çekmiştir (Sparg ve diğ., 2004).

Smilax aspera L. bitkisinin petiol (yaprak sapı) tabanında parlak ve kalp şeklindeki yapraklara bir çift sarmaşık filizi eşlik eder. Dallanmış kümeler şeklinde olan çiçekler dioiktir (erkek ve dişiler ayrı bitkilerde); boyutları 2-4 mm arasında olan meyveler olgunlaştığında kırmızı bir renk alır. Ayrıca tıbbi kullanımı vardır: köklerinin temizleyici, terletici, idrar söktürücü, uyarıcı ve tonik özellikleri vardır (Chiej, 1984).

Yapılan bir çalışma ikisi yeni bulunan ((25S)-26-O- β -D-glucopyranosyl-5 β -furostan-1 β ,3 β ,22 α ,26-tetraol-1-O- β -D-glucopyranoside ve (25S)-26-O- β -D-glucopyranosyl-5 β -furostan-1 β ,2 β ,3 β ,5 β ,22 α ,26-hexaol) ve 5 tanesi önceden bilinen ((25S)-26-O- β -D-glucopyranosyl-5 β -furostan-3 β ,22 α ,26-triol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-glucopyranoside,(25S)-26-O- β -Dglucopyranosyl-5 β -furostan-3 β ,22 α ,26-triol-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β glucopyranoside, trans-resveratrol, (+) catechin ve (-) epicatechin) toplamda 7 saponin kullanılarak yapılmıştır. Tüm saponinler, kapsamlı spektroskopik çözümlenmeye tabi tutulmuş 22-OMe türevleri gibi izole edilmiştir. İzole furostanol saponinler nötral kırmızı ve MTT testi kullanılarak normal insan amniyotik ve insan akciğer karsinoma hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesi için değerlendirilmiştir. *In vitro* deneyler 32,98-94,53 μ M aralığında değişen IC₅₀ değerleri ile, doza bağlı olarak önemli bir sitotoksisite göstermiştir (Ivanova ve diğ., 2011).

Bir serbest radikal en az bir çiftlenmemiş elektrona sahip ve bu nedenle stabil olmayan ve yüksek ölçüde reaktif bir atom veya atomlar grubudur. İnsan radyasyon ve kirlilik yoluyla ortamda serbest radikallere maruz kalmaktadır. Serbest radikaller hücre zarına saldırır, DNA dâhil olmak üzere hücre organellerine zarar vererek genetik materyalin yanlış translasyonuna sebep olur (Patel ve diğ., 1999). Onların bu aktivitelerine antioksidanlar reaktif ara ürünleri detoksifiye eden veya oluşan hasarı kolayca tamir eden dengeleyici ve koordine edici sistemleri ile karşı koymaktadır. Antioksidanlar bu serbest radikalleri temizler ve hücrelerin gençleşmesine veya yaşam sürecini stabilize etmesine olanak vermektedir. Bu dengenin altüst olması, hücre hasarı ve ölüme yol açan oksidatif strese neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 1984). Yapılan bir çalışma *Smilax zeylanica L.* rizomları ve köklerinin antioksidan özelliği araştırmak amacıyla *in vitro* yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Bitkinin, metanol ve sulu özütleri antioksidan aktivitesi için *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Metanol özütü DPPH, hidrojen peroksit ve ABTS serbest radikallere karşı potansiyel süpürücü bir etki göstermiştir. HPLC çalışmaları, her iki özüt üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma, *S. zeylanica* özütlerinin farklı *in vitro* sistemlerde güçlü antioksidan etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Muralı ve diğ., 2011).

S. aspera çalılık veya seyrek ormanlıkta yetişir. Tohumları genellikle kuşlar tarafından yayılır. Tür, Akdeniz ve Doğu Afrika'nın doğusundan, Hindistan, Keşmir, Sri Lanka, Himalaya ve Yunanistanın kuzeybatısı, Çin boyunca dağılım gösterir. Bu türün yaygın dağılımına bakıldığında, *S. aspera* nüfusu genetik analiz türlerinin evrimini etkileyen tarihsel süreçleri anlaması ve ayrıca Akdeniz'de büyük kara parçalarına kıyasla okyanus adalarında mikroevrimsel süreçleri araştırmak için yararlı olmaktadır. Yapılan bir çalışmada *S. aspera* için 14 yeni bileşik mikrosatellit markeri karakterize edilmiş ve cinsin diğer türlere onların aktarılabilişliği düşünülmüştür. Mikrosatellit belirteçler bu türün populasyon genetiği incelemek için *Smilax aspera* için geliştirilmiştir. Bileşik mikrosatellit işaretleyici tekniği kullanarak, 11 polimorfik, üçü monomorfik olmak üzere toplam 14 çift primer *S. aspera* için geliştirilmiştir. 11 belirteçteki polimorfizm düzeyleri Yunanistan ve İtalya'daki 2 populasyondan toplanan 43 birey üzerinde kontrol edilmiştir. Lokus başına allel sayısı ortalama olarak 15,55 allel olmak üzere 10 ila 26 arasında değişmektedir. Bu primerlerin hepsi ikinci bir tür, *S. hispida*'ya, amplifiye edilebilmektedir. Bu mikro belirteçler, *S. aspera*

genetik çeşitliliğin gelecekteki çalışmaları yanı sıra diğer ilgili takson için kullanılabilmekte ve Akdeniz bölgesinde bu türün mikroevrimsel süreçleri anlayışımızı geliştirmek için bize yardımcı olmaktadır (Xi-hui ve diğ., 2011).

Smilacaceae familyası beş cinsten oluşmaktadır: *Anikenton*, *Corp Osmanthus Hetero Smilax*, *Nemexia* ve *Smilax*. *Smilax* cinsi yaklaşık 260 türden oluşur ve dünyada yaygın bir biçimde görülür (Challinor ve diğ., 2012). Bu cinsin türleri hakkında rapor edilen çalışmalar antibakteriyel, antifungal ve sitotoksik dahil olmak üzere birçok biyolojik aktiviteleri olduğunu göstermiştir (Jena ve diğ., 2012). *Smilax* türü kullanılarak yapılan kimyasal çalışmalar steroidal saponin, furostanol saponinler, Sieboldgenin gibi yeni bileşikler ve flavonoidler, polifenoller ve kumarinler gibi bilinen fitokimyasallar ortaya koymuştur (Ivanova ve diğ., 2011; Khan ve diğ., 2009; Wungsintaweekul, 2011; Huang ve diğ., 2009).

Smilax larvata Griseb. (Smilacaceae) halk hekimliğinde "Unha-de-gato" ve "salsaparrilha" olarak bilinen Brezilya'ya endemik bir tırmanan bitkidir (Andreato, 2012). Bu bitkinin çayı Curitiba, Parana'da antiinflamatuvar ajan olarak kullanılmaktadır. *S. larvata*'ya gelince, bu halk hekimliğinde kullanılmaktadır; ancak, biyolojik faaliyetleri hakkında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Yapılan bir çalışmada, *S. larvata* özütlerinin toksisite, antimikrobiyal ve larvisit aktivitesinin değerlendirilmiştir. Bir ön toksisite araştırması deniz karidesi ölümcül testi (BSLT) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu deney öngörüş sunmayı amaçlayan genel bir toksisite değerlendirme yöntemidir ve daha sofistike testleri desteklemek için bir alt yapı oluşturmaktadır. Bu teknik ucuz, hızlı, basittir ve test malzemelerinin az bir miktar kullanılmaktadır. BSLT ayrıca çevre ile ilgili ekotoksikoloji çalışmaları araştırmak için laboratuvarlar tarafından kullanılmaktadır. *S. larvata* özütlerinin larvasit potansiyeli üçüncü dönem *Aedes aegypti* larvalarına karşı değerlendirilmiştir. Antibakteriyel aktivite araştırılması için bir difüzyon disk deneyi, bir mantar, iki gram pozitif ve üç gram-negatif bakteriye karşı yapılmıştır. *Smilax* cinsi saponin içermesiyle ünlüdür ve bu sınıf sekonder metabolitleri saptamak için hemoliz deneyleri kullanılmıştır. Hemoliz etkinliği kan agar plakaları ve bir seyreltme metodu ile değerlendirilmiştir. *S. larvata* özütleri karides için toksik bulunmamıştır ve hemoliz testinde sadece heksan, kloroform ve etanolik özütler 1000 µg/ml (sırasıyla %100, %59

ve %40)' da anlamlı hemolitik aktivite göstermiştir. Ham etanolik özütleri $LC_{50} = 225\mu\text{gml}^{-1}$ ve $LC_{90} = 350\mu\text{g/ml}$ ile üçüncü evre *Aedes aegypti* larvaları üzerinde larvisit etkisi göstermiş ve *C. albicans*'a karşı antifungal aktivite göstermiştir. Bu sonuçlar, *S. larvata* özütlerinin antifungal maddeler ve yeni çevre dostu larva öldürücü bileşikler için potansiyel bir kaynak olduğunu göstermektedir (Hirota ve diğ., 2015).

Yapılan bir çalışmada *Smilax aspera subsp. mauritanica* köklerinden iki yeni steroidal saponin ile birlikte bilinen curillin, asparagosit, asparoside ve fenolik bileşik resveratrol izole edilmiştir. Yapıları 600 MHz2D-NMR spektrum verileri temelinde esas alınarak tespit edilmiştir. Curillin, insan patojenik mayaları olan *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*'e karşı antifungal aktivite sergilemiştir (sırasıyla, minimum inhibe edici konsantrasyonlar (MİK) 25, 25 ve 50 $\mu\text{g/ml}$) diğer bileşikler ise inaktif bulunmuştur (Belhouchet ve diğ., 2008).

1.3. *Ganoderma lucidum* Hakkında Genel Bilgi ve Önceki Çalışmalar

Tablo 1.3. *Ganoderma lucidum* taksonomik sınıflandırılması

Alem	Fungi
Şube	Basidiomycota
Sınıf	Agaricomycetes
Takım	Polyporales
Familya	Ganodermataceae
Cins	<i>Ganoderma</i>
Tür	<i>Ganoderma lucidum</i>



Şekil 1.5. *Ganoderma lucidum* (URL-7)

Ganoderma lucidum (Reishi mantarı), Japonya'da 'Reishi' ve Çin'de 'Lingzhi' olarak bilinen Polyporaceae (Leyss.ex Fr. Karst) familyasına ait bir lamelsiz basidio-

mycetous mantarlarıdır. Taksonomik sınıflandırılması Tablo 1.3'te, doğal ortamındaki görüntüsü ise Şekil 1.5'te gösterilen *G. lucidum* Çin geleneksel tıpında 4000'den fazla yıldır önemli bir rol oynamıştır. Eski Çin tıp bilginlerinin görüşlerinin ardından, Asya ülkelerinde genel sağlık ve uzun ömürü desteklemek için yaygın olarak *G. lucidum* kullanılmaktadır (Lin ve diğ., 2005). *G. lucidum* aynı zamanda, alerji, artrit, bronşit, mide ülseri, hiperglisemi, hipertansiyon, kronik hepatit, hepatopati, uykusuzluk, nefrit, neurasthenia, skleroderma, iltihap ve kanser gibi çeşitli insan hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır (Sliva, 2003). Yeni çalışmalar viral enfeksiyon tedavisinde, özellikle de HIV, için potansiyelini vurgulamaktadır (Boh ve diğ., 2007).

Çok sayıda farmakolojik araştırma, *G. lucidum* özütlerinin *in vitro* ve *in vivo* olarak pek çok tümörlü fare modelinde tümör büyümesini inhibe edici olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte bu etkinin mekanizması iyi anlaşılmamıştır (Boh ve diğ., 2007; Wasser, 2002). *G. lucidum*'un farmakolojik olarak en önemli aktif bileşenlerinin triterpenoidler ve polisakkaritler olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra *G. lucidum* sulu özütleri, polisakkarit fraksiyonları ve triterpenoidleri antitümör aktivite ortaya koymaktadır (Boh ve diğ., 2007). Son zamanlarda, insan akciğer kanser hücrelerinin antianjiyojenik etkisi *G. lucidum* polisakkarit peptitlerine atfedilmektedir (Cao ve Lin, 2006).

Ganoderma polisakkaritleri çok çeşitli fizikokimyasal özellikleri ile biyolojik makromoleküllerin yapısal olarak farklı bir sınıfını temsil ederler (Efferth ve diğ., 2007). Yapılan çok sayıda çalışma, *G. lucidum* polisakkaritlerin özellikle de β -D-glukanlar'ın, bağışıklık sisteminin bir çok bileşeninin fonksiyonlarını modüle edebildiğini göstermiştir. Örneğin antijen bulunan hücreler, T ve B lenfositleri (Boh ve diğ., 2007; Wasser, 2002), NK hücreleri (Chien ve diğ., 2004), nötrofil granülositler (Hsu ve diğ., 2003) ve dendritik hücreler (Cao ve Lin, 2002; Lin ve diğ., 2005) gibidir.

Ganoderma lucidum, geleneksel bir Çin ilacı, bağışıklık sistemi fonksiyonlarının iyi bir modülatörü ve bir antitümör ajanı olarak da bilinmektedir. Bununla birlikte, aktif bileşikleri ve bunların moleküler etki mekanizmaları tam olarak belirlenmemiştir. GLIS, *G. lucidum* meyve gövdesinden izole edilen bir proteoglikan, doğrudan B lenfositlerin aktivasyonunu uyarmaktadır. Yapılan bir çalışmada, GLIS 'in immün aktivasyon kapasiteleri ve antitümör etkisi *in vitro* ve *in vivo* olarak incelenmiştir.

Tümör taşıyan fareler BALB/c farelere, fare sarkoma S180 hücrelerinin aşılınması ile hazırlanmıştır. Lenfositler ve kemik iliği türevli makrofajlar, sırasıyla, dalak ve kaval kemiği/uyluk kemiklerinden izole edilmiştir. GLIS ile stimülyasyondan sonra bu hücrelerin farklı bağışıklık yanıtları analiz edilmiştir. GLIS antitümör etkisi belirlenmiştir. GLIS ile yapılan uygulamadan sonra, tümör taşıyan farelerin dalağında alınan B lenfositler aktif hale gelmiş, yayılmıştır. Büyük miktarda immünoglobülin ürettiği gözlenmiştir. Tümör taşıyan farelerin kemik iliğinden elde edilen makrofajlar aynı zamanda GLIS'e maruz kaldıktan sonra aktif hale gelmiştir. IL-1p, TNF-a ve NO benzeri reaktif nitrojen ara ürünleri gibi önemli immünomodülatör maddeler üretmiştir. GLIS makrofajların fagositozunu belirgin bir şekilde arttırmış ve en önemlisi, makrofaj aracılı tümör sitotoksitesini belirgin bir düzeyde arttırmıştır. Fareler üzerindeki GLIS uygulaması, fare sarkoma S180 tümör büyümesinin *in vivo* olarak %60 inhibisyonuna neden olmuştur. Bu sonuçlar, GLIS'in tümör taşıyan farelerin humoral ve hücresele immün aktivitelerini oldukça arttırıcı bir kapasitesi olduğunu ve tümör büyümesini anlamlı ölçüde inhibe ettiğini göstermektedir (Zhang ve diğ., 2010).

Reishi mantarı (kelimenin tam anlamıyla "doğüstü mantar") ikibin yıldan fazla zamandır geleneksel Çin tıbbında önemli bir şifalı bitki olmuştur. Reishi mantarının en yaygın olarak kullanılan türü *Ganoderma lucidum* ticari olarak yetiştirilmektedir. *G. lucidum* Çin, Japonya ve diğere Doğu ülkelerinde hipertansiyon, tümör oluşturuucu hastalıklar ve immünolojik bozukluklar gibi çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılmaktadır (Russell ve Paterson, 2006).

G. lucidum meyve gövdeleri eski zamanlardan beri geleneksel bitkisel ilaç olarak kullanılmasına rağmen, sporları sadece 20. yüzyılın sonlarında kullanılır hale gelmiştir (Liu ve diğ., 2002). Sporlar meyve gövdesinde olduğu gibi biyoaktif maddeler, esas olarak lanostane tipi triterpenler ve polisakkarit ihtiva etmektedir (Min ve diğ., 2000).

Polisakkaritler genellikle bağışıklık üzerinde sistemik etki yoluyla antitümör etkilere neden olduğu düşünölmektedir. Lanostane tipi triterpenler örneğın ganoderic alkoller (Lucidumol A ve Ganoderiol F) doğrudan tümör hücrelerine karşı sitotoksiktir (Gu ve Belury, 2006). Yue ve ark. (2008) antitümör ve tümör taşıyan farelerde *G. lucidum* meyve gövdesinin farklı bölgelerinden gelen sıcak su özütünün immünomodülatör

faaliyetlerini bildirmiştir. Ancak, yine de, antitümör etkinliğinden hangi bileşenlerin sorumlu olduğu bilinmemektedir (Yue ve diğ., 2008).

Gao ve ark. (2012) daha önce *Ganoderma lucidum* sporların etanolik özütlerinin tümör hücresi çoğalmasını inhibe ettiğini ve HL60 (İnsan promiyelositik lösemi hücreleri) hücrelerinin apoptozuna neden olduğunu göstermiştir. Aktif bileşenlerin uzun zincirli yağlı asitler, özellikle de karbon-19 (C-19) yağ asitleri olduğu ortaya çıkmıştır. Bunlar *Ganoderma lucidum* sporlarında rapor edilmemiştir. Bu çalışmada, kilit bileşikler olan bu C-19 yağ asitlerinden ikisi sporlardan elde edilen yağlı asitlerin bir karışımının esterifikasyonu sonucunda 2-naftil ester türevleri olarak tanımlanmıştır. Aktif bileşikler, nonadekanoik asit ve cis-9-heksadesenoik asit olarak belirlenmiştir. Cis-9-heksadesenoik asitteki çift bağın yeri, yağ asidi ve dimetil disülfid hazırlanan adüktün fragmentasyon örneği baz alınarak, GC-MS analizi ile gösterilmiştir (Gao ve diğ., 2012).

Ganoderma lucidum misel, meyve gövdeleri ve sporlarından izole edilen polisakkaritler ve triterpenler ile ilişkilendirilen immünomodülatör ve antitümör özelliklere sahip yenilebilir tıbbi bir mantardır. *G. lucidum* tıbbi içecek ve nutrasötik gıda (genellikle kurutulmuş) gibi bir toz halinde kullanılmaktadır (Camargo ve Kaneno, 2011).

Japonya'da Reishi veya Mannentake, Çin'de Lingzhi olarak bilinen yenilebilir mantar *Ganoderma lucidum* (*G. lucidum*) mantarlar alemine, Polyporales takımı ve Ganodermataceae familyasına ait bir türdür. İçsel bağışıklık düzenleyici (immünomodülatör) ve antitümör özellikleri nedeniyle, Asya ülkelerinde yaygın olarak sağlık ve uzun ömürün desteklenmesi için kullanılmaktadır. Ming Hanedanı döneminde, bu basidiyomiset "ölümsüzlük mantarı" ve/veya "muhteşem bitki" olarak bilinmekte ve hepatopati, hipertansiyon, nefrit, bronşit ve kanser gibi çeşitli insan hastalıklarının tedavisi için bir tonik olarak kullanılmaktadır (Sliva ve diğ., 2002). Antik Çin İmparatorluk sarayında, özellikle kurutulmuş toz halindeki *Ganoderma lucidum* bir kanser kemoterapötik ajanı olarak popüler olmuştur (Mizushina ve diğ., 1998). Günümüzde, *G. lucidum* toz formunda hem ilaç , hem de nutrasötik gıda olarak ticarileştirilmiştir.

Miselyum, meyve gövdesi veya sporlardan özüt edilen çeşitli biyolojik faaliyetleri sahip farklı bileşiklerin çoğu antitümör etkiler ile ilişkilidir (Chiu ve diğ., 2000). *G. lucidum* antitümör etkileri konusunda ilk bilimsel raporlardan biri Maruyama ve diğ. (1989) tarafından yayımlanmıştır. Bu çalışmada bu mantarın sulu ancak etanolik olmayan özütlerinin murin (sıçangil) sarkoma 180 subkutan büyümesinin inhibe edilmesinde son derece etkili olduğu görülmüştür. Bu etki özellikle iyon değişim kromatografisi ile elde edilen bir karbohidrat zengini fraksiyona bağlanmıştır ve en yüksek etkiyi hayvanların karın içine aşılandığında göstermiştir (Maruyama ve diğ., 1989).

Yapılan bir çalışmada toz haline getirilmiş sporlar ve meyve gövdelerinden elde edilen özütler aktif transkripsiyon ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA) ve reseptörünün ekspresyonunu inhibe ederek, göğüs ve prostat kanser hücrelerinde AP-1 enzim ve NF-kB faktörleri inhibe edebildiği görülmüştür. Aslında, ürokinaz ifade seviyeleri habislik ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir ve bu enzimin inhibisyonu, göğüs ve prostat kanseri hücrelerinin metastazını baskıladığı gözlemlenmiştir (Sliva ve diğ., 2002). Sıvı besi ortamında büyüyen miselyumlardan elde edilen bir suda çözünür özütünün 1,5g/gün olarak beslenmeye eklenmesiyle, 12 aylık bir uygulamadan sonra kolorektal adenomların önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Oka ve diğ., 2010).

Zhuang ve diğ. (2009) yaptığı çalışmada kemoterapi ve/veya radyoterapi altında farklı kanser tiplerine sahip hastaların 6 hafta *G. lucidum*'lu bir diyet kompleksi ile beslendiğinde hem lökopeni ve nötropeni düşüşlerine, hem de NK-hücre ve CD4 lenfosit sayılarının düşmesinde bir gecikme gözlemlendiğini rapor edilmiştir. Diyet kompleksi ile NK hücrelerinin korunması *G. lucidum* polisakkaritlerinin aktivitesine bağlanmıştır. Ancak, bu kompleksin diğer birçok fitoterapötik türler ile hazırlanmasından dolayı nihai etkinin *Ganoderma*'nın sayesinde olduğu sonucuna varılmasını engellemektedir (Zhuang ve diğ., 2009).

Farmakolojik ve bağışıklık düzenleyici (immunomodülatör) özellikler gösteren bileşikler arasında, en özel ilgi polisakkaritler ve triterpenlere yönelik olmuştur.

G. lucidum polisakkaritlerinin İmmunomodülatör etkileri:

G.lucidum'dan orijinal olarak izole edilmiş ve saflaştırılmış temel biyoaktif bileşikler polisakkaritler (GL-PS) olarak tanımlanmıştır. GL-PS'nin geniş immünomodülatör etkileri; mononükleer fagosit fonksiyonların aktivasyonu, humoral ve hücrel bağışıklık ve immün öncül hücrelerin efektör hücrelere farklılaşması ve yayılmasını içerir (Cao ve Lin, 2002). GL-PS özütünün en immünojenik polisakkarit kısmının (1→6)-β-glukanlar olduğu gösterilmiştir (Chan ve diğ., 2007). Polisakkaritlerin temel özellikleri Tablo 1.4'de özetlenmiştir.

Tablo 1.4. *G. lucidum* polisakkaritlerinin antitümör etkileri (Camargo, 2011)

	Antitümör etkiler	Referanslar
Sitokinler, kemokinler	INF-γ artırır.	Cheng <i>et al.</i> ,2007
	IL-1β, TNF-α, IL-6 artırır.	Wang <i>et al.</i> ,1997
	Dalak hücrelerinin yayılımını ve IL-1, IL-2 ve INF-γ ekspresyonunu stimüle eder.	Wang <i>et al.</i> ,2002
	INF-γ ve IL-10 artırır, TNF-α , NO üretimini ve CD3 ve CD8 dalak hücrelerini düşürür.	Rubel <i>et al.</i> ,2010
	IL-12 düşürür.	Cao&Lin 2002
	IL-1β, TNF-α,NO üretimini ve fagositozu artırır.	Zhang <i>et al.</i> ,2010
	IL-12 ve IL-10 üretimini artırır.	Chan <i>et al.</i> ,2007
	IL-1 ekspersyonu indükler.	Chen <i>et al.</i> ,2004
	U937 ve HL 60 hücrelerinin apoptozunu indükleyerek bu hücrelerin kolonizasyonunu ve yayılmasını baskılar.	Lieu <i>et al</i> 1992; Wang <i>et al.</i> ,1997
Proliferasyon, farklılaşma, olgunlaşma		Zhang <i>et al.</i> , 2010
	Monositik lösemi hücre hatlarının monosit/makrofaj hücrelerine farklılaşmasını indükler.	Lieu <i>et al.</i> , 1992
	Dalak hücrelerinin büyümesini teşvik eder.	Li <i>et al.</i> , 2010
	Makrofajlar, humoral ve hücrel bağışıklık, efektör hücrelerin farklılaşması ve yayılması aracılığıyla sitotoksiteyi artırır.	Cao & Lin 2002; Zhang <i>et al.</i> , 2010; Chan <i>et al.</i> , 2007
	DC olgunlaşmasını ve aktivasyonunu teşvik eder.	Cao & Lin 2002;; Lin <i>et al.</i> , 2006; Chan <i>et al.</i> , 2007
	Hücre döngüsünü G0/G1 fazında durdurur, NF-kB ve D siklin azaltır.	Jiang <i>et al.</i> , 2004

Tablo 1.4. (Devam) *G. lucidum* polisakaritlerinin antitümör etkileri

Hücre döngüsü	G2 / M fazında hücre döngüsünü durdurur, yumurtalık kanseri hücrelerinin apoptozunu indükler, kaspaz-3'ü aktive eder.	Zhao <i>et al.</i> , 2011
	Kimyasal, kolon kanserinin kolonik anormal kript odaklarının gelişimini önler.	Lu <i>et al.</i> , 2001, 2002, 2003
	Murin makrofajlar ve B hücrelerindeki TLR4 ve insan DC hücrelerini aktive eder.	Hsu <i>et al.</i> , 2004; Shao <i>et al.</i> , 2004
Ligandlar	Makrofajlar üzerindeki TLR4'lere Polisakaritleri bağlamak ve ERK, JNK ve p38'i aktive eder.	Chen <i>et al.</i> , 2004
	Ölüm reseptör ligandlarını (TRAIL) indükler	Cheng <i>et al.</i> , 2007
	T lenfositlerinin hazırlanmasını geliştirme yeteneğini artırmak.	Cao & Lin 2002
Diğer etkiler	IgM Arttırmak ve makrofajları aktive etmek.	Zhang <i>et al.</i> , 2010
	HepG2, HeLe ve A549 tümör hücrelerine karşı sitotoksik etkiyi indüklemek.	Li <i>et al.</i> , 2010
	Hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları inaktive etmek ve DNA zincirindeki kırılmaları azaltmak.	Lu <i>et al.</i> , 2001
	Akut ve kronik inflamatuvar reaksiyonları azaltmak.	Laksmi <i>et al.</i> , 2003

Ganoderma lucidum terpenoidleri:

Lanostane tipi triterpenoidlerin yüksek oksijenli bir çeşidi olan ganoderic asitler (GAs), bazı yazarlar tarafından çalışılan *G. lucidum*'dan izole edilen bileşiklerin başka bir grubunu teşkil eder. γ , δ , ϵ , ζ , η ve τ olarak adlandırılan altı ganoderik asit, sporelerden izole edilmiş ve kimyasal olarak Min ve diğ. (2000) tarafından karakterize edilmiş ve Meth-A (sarkom) ve LLC (akciğer), tümör hücresi hatlarına karşı sitotoksik etkiler göstermiştir (Min ve diğ., 2000). Terpenoid türleri ve onların ana etkileri Tablo 1.5' de özetlenmiştir.

Tablo 1.5. *G. lucidum* terpenoid türleri ve antitümör etkileri (Camargo, 2011)

Proliferasyon ve Apoptoz	Antitümör etkileri	Referanslar
	X (ξ) ve T (τ) asitleri; insan hepatoma ve metastatik akciğer tümör hücrelerinde apoptozu, mitokondriyal fonksiyon bozukluklarını ve kaspaz-3 aktivitesinin stimülasyonunu indükler.	Li <i>et al.</i> , 2005; Tang <i>et al.</i> , 2006

Tablo 1.5. (Devam) *G. lucidum* terpenoid türleri ve antitümör etkileri

Proliferasyon ve Apoptoz	Anti-apoptotik Bcl-2 protein baskılar, Bax / Bcl-2 oranını yükseltmek, kaspaz-8 ve 9 artış, toplam Bid ekspresyon düzeyini düşürür, kaspaz-9 ve 3 aktive eder ve insan mide kanseri AGS hücrelerinin PI3K/Akt 'lerini inaktive eder.	Jang <i>et al.</i> , 2010
	EGDT apoptozu aktive eder, DNA parçalanması ve kaspaz-3 aktivasyonunu teşvik eder ve önemli ölçüde LLC büyümesini azaltır.	Lee <i>et al.</i> , 2011
	GLme B16 fare melanoma hücrelerinin hücre proliferasyonunu inhibe eder.	Harhaji <i>et al.</i> ,2009
	GNDT in vitro HCT-116 proliferasyonu ve HT-29 kolon kanseri hücreleri inhibe eder ve çıplak farelerde tümör büyümesini bastırır.	Jedinak, 2011
	A (α), F (Φ) ve H (η), insan meme kanseri hücrelerinin uPA'ların invazyonunu, hücre çoğalmasını, koloni oluşumunu, yapışma(adezyon), yer değiştirmesini ve proliferasyonunu inhibe edebilir.	Jiang, 2008
	Cdk4 ekspresyonunu ve insan göğüs kanseri hücrelerinin uPA'sının supresyonunu baskılar.	Jiang, 2008
Ligandlar	Lanosteroidler NAD(P)H kinon oksidaz aktivitesini artırır.	Ha <i>et al.</i> , 2000
	p53 molekülünü Up-regüle eder, Bcl-2 ekspresyonunu inhibe eder ve reaktif oksijen türlerinin üretimini yoğunlaştırır.	Harhaji <i>et al.</i> ,2009
	β -kateninin transkripsiyonel aktivitesini ve siklin D1, Cdk-4 ve PCNA'nın protein ekspresyonunu inhibe eder, ve E kadherin ve β -katenin protein ekspresyonunu artırır.	Jedinak, 2011
γ , δ , ϵ , ζ , η ve τ asitleri Meth-A ve LLC tümör hücre hatlarına karşı sitotoksik etki gösterir.	Min <i>et al.</i> , 2000	
Diğer	F (Φ) K (κ), B (β), D (δ) ve AM1 asitleri HeLa hücrelerine karşı sitotoksikite gösterirler.	Yue <i>et al.</i> , 2010
	IL-17E, TPM4-Alk, ribonükleoprotein K, ubikitin 2, 14-3-3ba, peroksiredoksin 2, nucleobinding-1 ve reticulocalbin-1 üretimini indüklerler.	Yue <i>et al.</i> , 2010

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Bitki ham özütlerinin hazırlanması

Araştırmada 2 bitki ve 1 mantar türüne ait ham metanol özütleri kullanılmıştır. Bu türler *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera* ve *Ganoderma lucidum* (red reishi)'dur. Bu çalışmada kullanılan ham metanol özütler Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Doç.Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ'ın sorumlu olduğu süperkritik akışkan teknolojileri laboratuvarında Soxhlet aparey kullanılarak metanol ile özüt edildi. Çözücüler bir döner vakum evaporatör kullanılarak buharlaştırıldı ve özütler kullanılmadan önce -20 ° C'de saklandı.

2.1.2. Kullanılan teknik aletler

- Liyofilizatör
- Laminar-hava akışlı kabin
- CO₂'li inkübatör
- Inverted mikroskop
- Soğutmalı santrifüj
- Sirkülatörlü su banyosu
- Otomatik pipet tabancası
- Spektrofotometre
- Mikroplaka okuyucu

2.1.3. Hücre kültürü ve sitotoksite testi için kullanılan hücre hatları

- Tümör Hücre Hatları

A549	(İnsan küçük hücreli akciğer karsinomu)
MCF7	(İnsan meme adenokarsinom)
MDAMB231	(İnsan meme adenokarsinom)

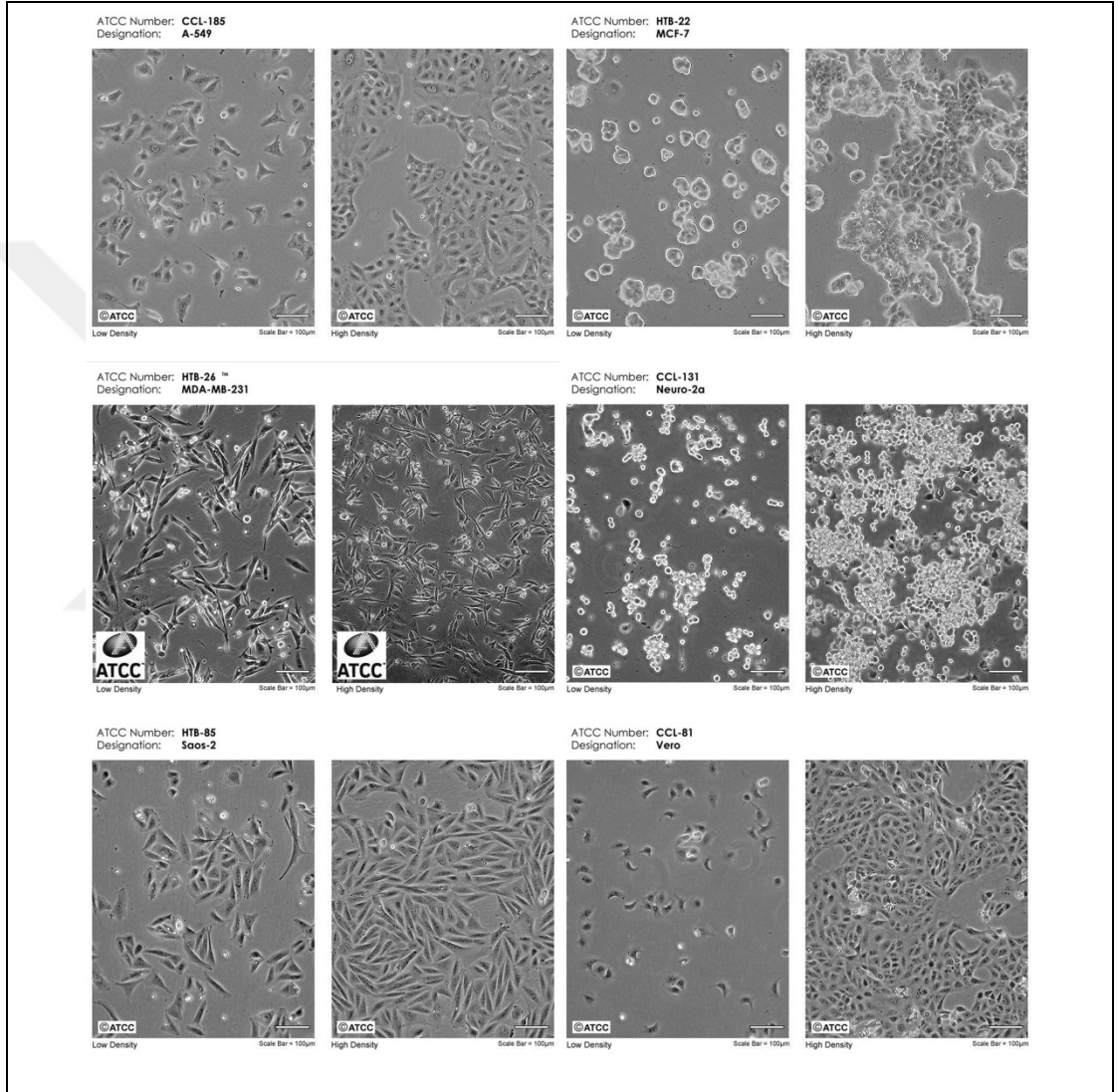
Neuro2a (*Mus musculus* beyin nöroblastoma)

Saos2 (İnsan osteosarkom)

NA2B (İnsan nöroblastoma)

➤ Normal Hücre Hatları

VERO (Afrika yeşil maymunu böbrek fibroblastı)



Şekil 2.1. Kullanılan hücre hatlarının mikroskoptaki görüntüleri (URL-8)

Kullanılan Kanser hücre hatları ve normal hücre hattı ATCC (Amerikan Tür Kültür Koleksiyonu) ‘den temin edilmiştir. Bu hücre hatlarının mikroskop görüntüleri Şekil 2.1’de gösterilmiştir.

2.2 Metotlar

2.2.1. Kullanılan bitki özütleri ile yapılan ön çalışmalar

Buzdolabının -24°C bölmesinde saklanan özütler buradan alındı. Liyofilizasyon işlemi uygulanarak kurutuldu. Kuru özütler DMSO içinde çözdürülerek deneyde kullanılacak konsantrasyonlar hazırlandı.

2.2.2. Madde konsantrasyonlarının hazırlanması

Madde (özüt) konsantrasyonları 1ml çözelti içinde 100mg madde olacak şekilde hazırlandı. Maddeler DMSO içinde çözdürüldü. Kullanılacak konsantrasyonlar 1/100, 1/50, 1/25, 1/12.5 ve 1/6.25 olacak şekilde hazırlandı. 1/100'lük konsantrasyon için kullanılan madde miktarları Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması için gerekli malzeme miktarları

	Madde miktarı (mg)	DMSO miktarı (µl)
<i>S. aspera</i>	17,6	176
<i>J. oxycedrus</i>	17,1	171
<i>G. lucidum</i>	19,2	192

Diğer konsantrasyonlar 1/100'lük konsantrasyon üzerinden seyreltme yapılarak hazırlandı. Hesaplama yapılırken Formül (1.1) kullanılmıştır.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2 \quad (1.1)$$

C1: Stok solüsyon konsantrasyonu

V1: Stok solüsyondan alınacak hacim

C2: Hazırlanacak solüsyon konsantrasyonu

V2: Hazırlanacak solüsyonun son hacmi

2.2.3. Hücre kültüründe uygulanan metotlar:

A. Sıvı azot içerisinde saklanan hücrelerden yeni kültürlerin hazırlanması

Sıvı azot içerisinde donmuş olarak ampul içinde saklanan hücre hatları azot kabından çıkarılır çıkarılmaz 37 °C su banyosuna daldırıldı ve sıvının çözülmeye başlamasına kadar burada bekletildi. Çözülme başlayınca, beklemeksizin dış kısmı alkolle silinerek dezenfekte edilen ampuller laminar hava akışlı kabine alındı. Çözülmüş ampul içeriği bir santrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra üzerine 10ml besi ortamı damla damla ilave edildi. Böylece kriptopektan %10-0,5 seyreltilmiş oldu. Ardından santrifügasyonla hücreler çöktürüldü ve taze hazırlanmış 37 °C'ye ısıtılmış besi ortamı ile kültür kabına geçirilerek inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonra besi ortamı değiştirildi. Böylece hem kriyopropektanın toksik etkisi hem de dilüsyon şoku riskine karşı önlem alınmış oldu.

B. Hücrelerin pasajlanması:

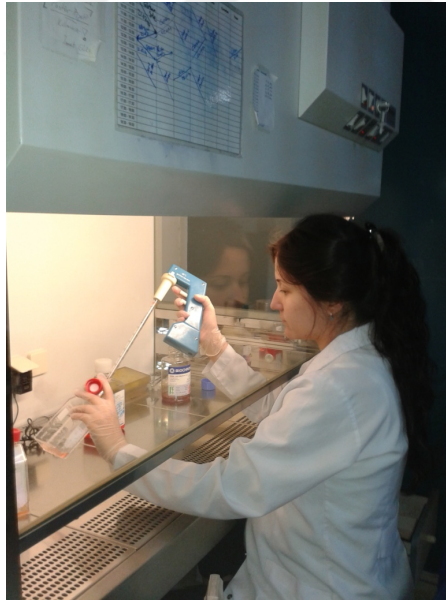
Kullanılan materyaller :

- Steril pipetler
- Besi ortamı (DMEM-F12 %10 FBS içerir.)
- Steril PBS
- Steril 37°C'ye ısıtılmış enzim solüsyonu (tripsin EDTA)
- Kültür kapları
- Üremiş monolayer hücre kültürü

Monolayer olarak üretilen hücrelerin yetiştirildiği kültür kaplarındaki, kullanılmış besi ortamı hücrelere zarar vermeyecek şekilde uzaklaştırıldıktan sonra, kültür yüzeyi PBS ile bir kez yıkandı. Bu işlem sırasında, hücrelerin olmadığı yüzeyden PBS ilave edildi ve hücrelerin üzerinde PBS yavaşça 2-3 kez dolaştırılıp yıkandı ve tekrar boşaltıldı. Daha sonra, yine hücrelerin bulunmadığı yüzeyden, tripsin+EDTA solüsyonu ilave edildikten sonra hücrelerin üzerinde tamamen yayılması sağlandı. Tripsin+EDTA solüsyonu ekledikten ve hücrelerin üzerinde tamamen dağılması sağlandıktan sonra, 15-30 sn kadar bekletilip, boşaltıldı. Daha sonra kültür kabı 5-15 dakika kadar inkübatörde inkübe edildi. Bu işlemle hücrelerin yuvarlaklaşarak yüzeyden ayrılmaları

sağlandı. Bu süre, her kültüre göre farklı olacağı için mikroskop ile gözlemlendi. Hücrelerin, uzun süre tripsin+EDTA solüsyonunda bekletilmemelerine dikkat edildi.

İnkübatörde inkübe edildikten sonra mikroskop ile gözlemlenen kültür kabına besi ortamı ilave edilip hücreler pipet yardımıyla homojenize edildiler. Bunun için kültür kabı bir köşesine doğru eğilip ve pipetin ucu köşede biriken hücre süspansiyonuna daldırılarak, par yardımıyla süspansiyon pipete çekilip boşaltıldı ve hücre paketlerinin parçalanarak homojen bir hücre süspansiyonunun oluşması sağlandı. Bu işlem sırasında köpük oluşmamasına dikkat edildi. İyi bir homojenizasyondan sonra, hücre süspansiyonu üzerine 10-20 ml taze besi ortamı ilave edilip, pipet yardımıyla tekrar homojenize edildi. Hücre süspansiyonu pipetle kültür kaplarına dağıtıldı. Kültür kaplarının kapakları kapatılarak, yavaşça besi ortamının kabın yüzeyine eşit olarak yayılması sağlandı ve kültür kabının üzerine hücre adı, pasaj numarası, tarihi yazıldı. Bu işlemlerden sonra kültür kapları üretme yüzeyleri alta gelecek şekilde inkübatöre yerleştirildi. Şekil 2.2’de hücre pasajlaması yaparken çekilmiş bir fotoğraf gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Hücrelerin pasajlanması

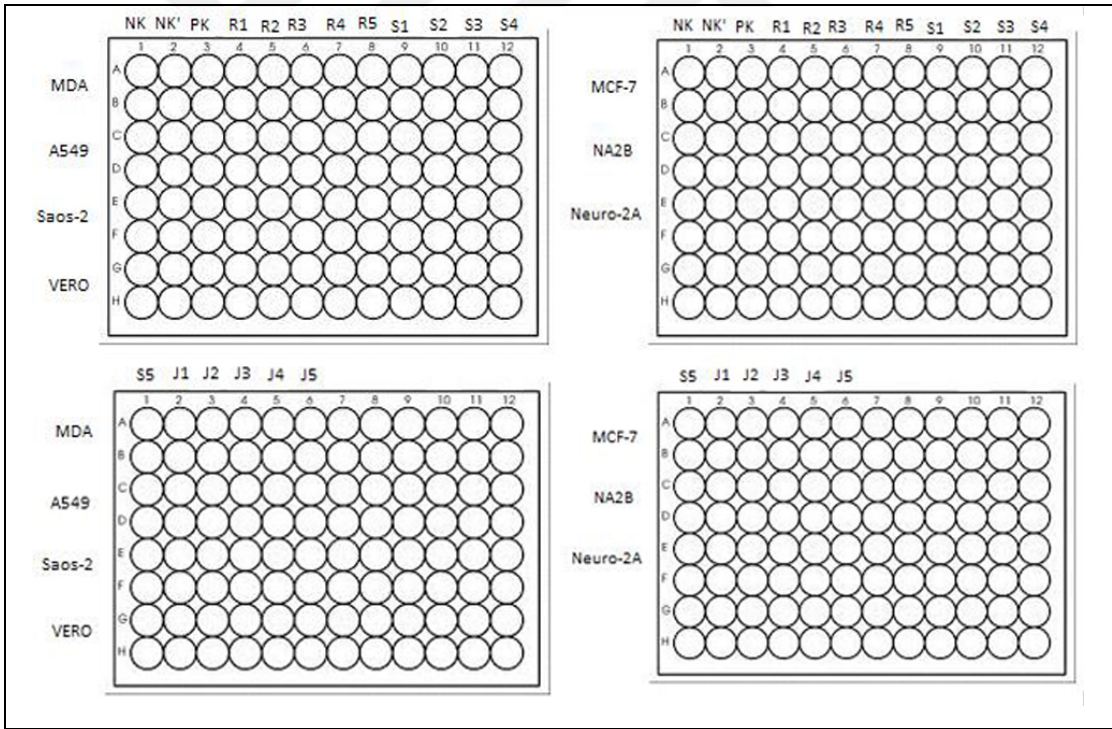
C. Hücrelerin deney için split edilmesi:

Hücreler besi ortamı içinde 75 cm² flasklarda inkübatör (37°C’de, %5 CO²) içinde üretildi. Kültür kabı, besi ortamını uzaklaştırmak amacıyla soğuk PBS (+4°C) ile

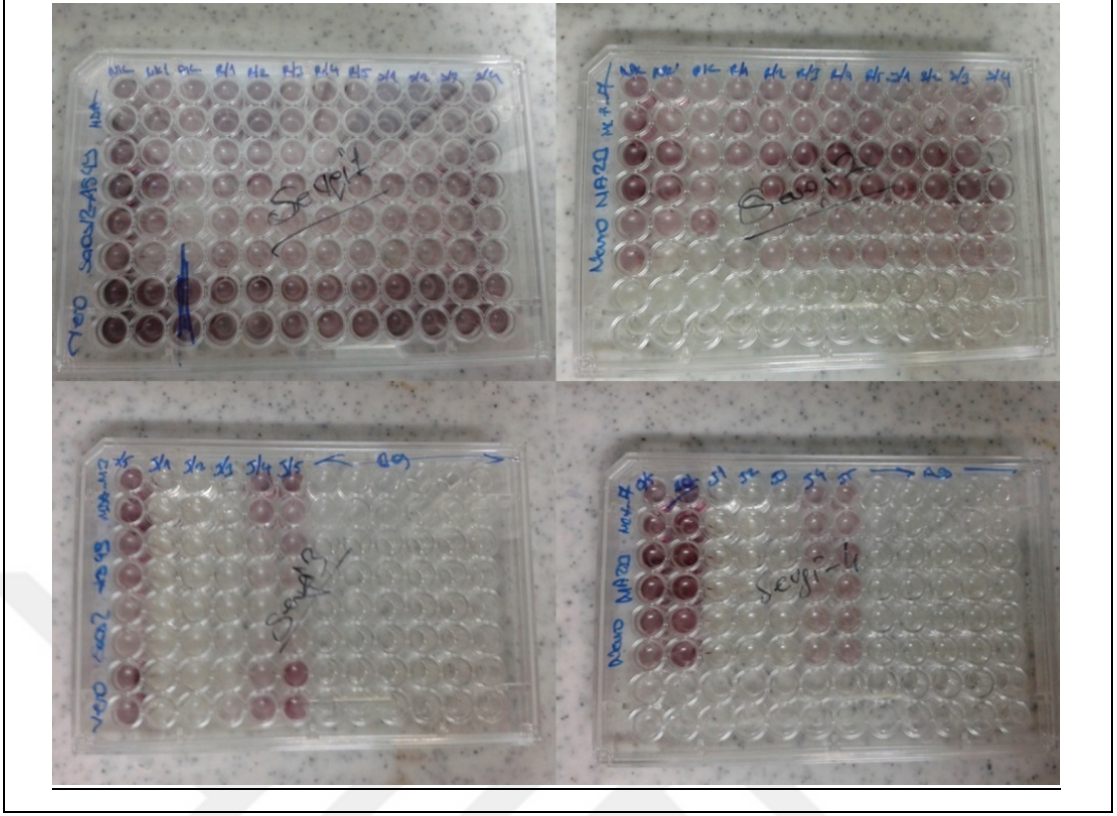
yıkandıktan sonra, 500 µl tripsin-EDTA eklenerek, 5 dakika etüvde bekletildi. Etüvden alınan hücreler, 10 ml besi ortamı ile süspansiyon edilip, 15 ml'lik santrifüj tüplerine aktarıldıktan sonra, 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra hücreler, 10 ml besi ortamı ile yıkandıktan sonra tekrar 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip, süpernatant uzaklaştırıldı. Elde edilen hücre pelleti 10 ml besi ortamı ile resüspansiyon edildi.

Hücre Boyama ve Sayımı

Canlılık ve hücre yoğunluğu Bürker hemositometri yöntemi kullanılarak tripan mavisi ile belirlendi. (900 µl hücre + 100 µl tripan mavisi). Hücreler 5×10^4 hücre/ml olacak şekilde besi ortamı ile dilüe edildi. Dilüe edilen hücreler, 100 µl/well (her kuyucukta 5000 hücre) olacak şekilde 96 kuyucuklu pleytlere dağıtıldı. Monolayer kültürler, tutunmaları için bir gün boyunca etüvde inkübasyona bırakıldı (%5 CO², 37°C'de).



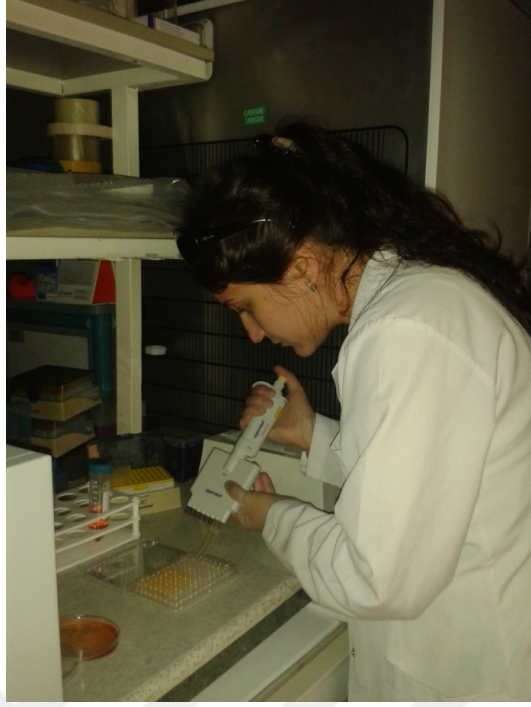
Şekil 2.3. (a) Deney Düzenegi



Şekil 2.3. (b) MTT testi için hazırlanan hücreler, NK: Negatif kontrol (hücre) NK':Negatif Kontrol 1,(Hücre+DMSO),PK:Pozitif Kontrol(Doksorubisin)

Madde Konsantrasyonlarının Hücelere eklenmesi:

Hücrelerin split edilmesinden bir gün sonra hazırlanan madde konsantrasyonları deney düzeneğinde gösterilen mikroyelllerdeki her kuyucuğa 1µl olacak şekilde dağıtıldı ve 2 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Şekil 2.4'te hücelere ham özütler eklenirken çekilmiş bir fotoğraf gösterilmiştir. Şekil 2.3'te deney için hazırlanmış olan mikroyelller gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Madde konsantrasyonlarının hücelere eklenmesi

D. MTT testi:

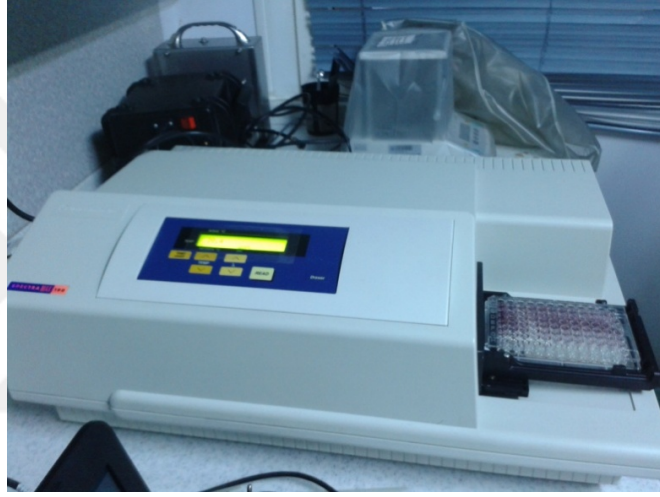
MTT stok solüsyonunun hazırlanması (5 mg/ml)

50mg MTT, 10ml PBS ile çözüldükten sonra (genellikle 50 ml PBS içinde 0,25gr MTT çözdürülür), 1 ml'lik eppendorflara dağıtıldı. Bu işlemler sırasında az ışıklı ortamda çalışıldı. Eppendorflar, alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra +4°C'de buzdolabında saklandı.

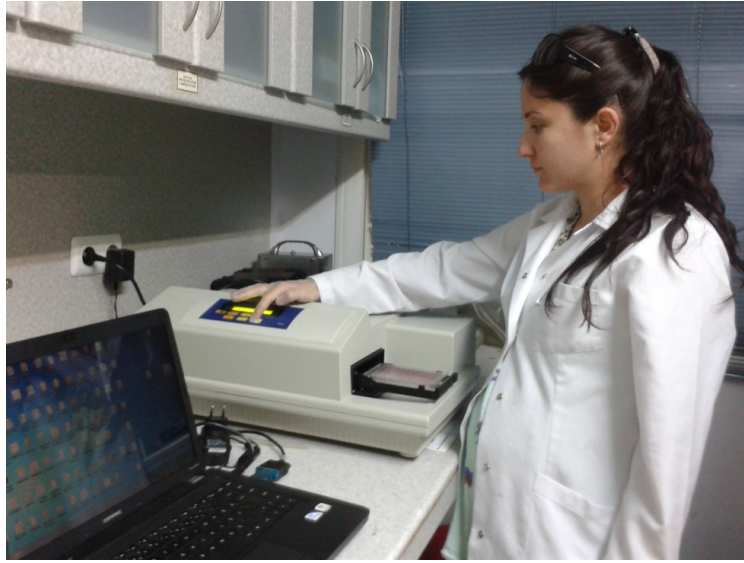
MTT çalışma Solüsyonunun hazırlanması (0,5mg/ml)

1ml MTT stok solüsyonu 9 ml besi ortamı ile dilüe edildikten sonra her kuyucuğa 100µl olacak şekilde mikropleytlere dağıtıldı.

MTT testi yapılırken, işlemlerin tümü olabildiğince az ışıklı ortamda yapılmıştır. Hücrelerin bulunduğu pleytlerdeki besi ortamı boşaltıldıktan sonra, 100 µl/well MTT çalışma solüsyonu eklenip, 3 saat boyunca 37°C'de %5 CO²'li ortamda inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonunda solüsyon boşaltılıp, 200 µl DMSO eklenerek oluşan formazan kristalleri çözülmüştür. Ardından, mavi formazan ürün miktarları mikrolaka okuyucu (Şekil 2.5) kullanılarak 570 ile 690 nm arasında ölçülmüştür. Hücre canlılığı Softmax pro analiz programında değerlendirilmiştir. Şekil 2.6'da MTT testi yaparken çekilmiş bir fotoğraf gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Versamax, Tunable Microplate Reader



Şekil 2.6. Mikrolaka okuyucu

2.2.4. DPPH ile antioksidan aktivite tayini:

Bu tayin yöntemi, antioksidan aktivite gösteren maddelerin, kararlı yapıda ve mor renkli DPPH radikalini süpürme etkilerinin ölçülmesine dayanmaktadır. DPPH radikali, antioksidan bir madde (AH) ile reaksiyone girdiğinde, antioksidan madde tarafından indirgenen okside edici bir radikal gibi davranmaktadır. Denklem (1.2) deki gibidir;



DPPH radikalinin absorpsiyonundaki azalma spektrofotometre ile ölçülmektedir. Mor (aktivite yok) ile sarı renk (yüksek aktivite) arasında değişen renk dağılımı antioksidan aktivitenin göstergesidir. DPPH metodu saf fenolik bileşenler ve doğal bitkisel özütler için yaygın olarak kullanılmaktadırlar ve tekrarlanabilirliği iyi olan bir yöntemdir (Awika ve diğ., 2003). DPPH ile antioksidan aktivite tayininde, Amarowicz ve diğ. (2004) kullandığı metot uygulanmıştır. 0,25 mg/ml konsantrasyondaki özütler 4 ml etanol içinde çözüldü ve 0,5 ml, 1 mM 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil hidrat (DPPH) etanolik solüsyonuna ilave edildi. Elde edilen solüsyon 15 saniye karıştırıldıktan sonra 30 dakika boyunca oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. Solüsyonun absorbansı 517 nm'de etanole karşı spektrofotometrik olarak okundu.



Şekil 2.7. Amersham Pharmacia Ultrospec 1100 Pro UV/ Visible Spectrophotometer

Okunan absorbans değerleri Antioksidan aktivite DPPH radikalinin % engellenmesi (% I) olarak, Eşitlik (1.3)'den (Yen ve Duh, 1994) yararlanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Engelleme (I)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{control}}}{1} \times 100 \quad (1.3)$$

2.2.5 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi (MİK testi)

Bitki özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) 96-kuyucuklu kültür kaplarında sıvı-mikrodilüsyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Test bakterileri MRSA (*S. aureus* ATCC 43300) ve *E. coli* O157:H7 RSKK 234 CLSI, M07-A9 standardına göre katyon-ayarlı MHB içerisinde 37°C'de 24 saatlik aktif kültürleri hazırlandıktan sonra 0,5 McFarland standardına göre inokulum standardize edildi. Her bir kuyucuğa 100 µl MHB (Mueller-Hinton) sıvı besiyeri dağıtıldı. Ardından DMSO içerisinde stok solüsyonları hazırlanan özütlerin 1250µg/ml-0,225µg/ml konsantrasyon aralığında olacak şekilde kuyucuklara eklenerek seri seyreltmeleri yapıldı. Bakteriler için son inokulum konsantrasyonu 5×10⁵kob/ml yoğunlukta olacak şekilde 100'er µl kuyucuklara eklendi. İnokülasyonun ardından plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildi ve sonuçlar değerlendirildi.

Candida albicans için MİK testi CLSI, M27-A2 standardına uygun olarak RPMI-1640 besi ortamı kullanılarak gerçekleştirildi ve özütler yukarıda anlatıldığı gibi seri seyreltmeleri yapılarak kuyucuklara dağıtıldı. Maya 24 saatlik aktif kültürü hazırlandıktan sonra son konsantrasyonu 0,5x10³-2,5x10³kob/ml olacak şekilde kuyucuklara eklendi ve 35°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Test 3 tekrarlı gerçekleştirildi. Sterilite kontrolü için özüt solüsyonu ve besi ortamı içeren bir kuyucuk, üreme kontrolü için ise bakteriyel süspansiyon ve besi ortamı içeren bir kuyucuk kullanıldı. Çalışmada Ampisilin bakteriler için pozitif kontrol olarak kullanılırken, maya için sikloheksimit kullanıldı.

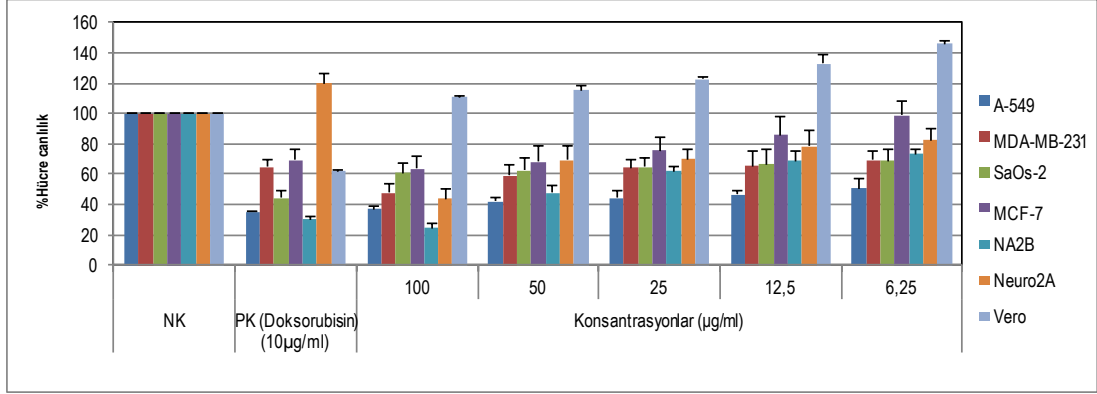
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Sitotoksosite Bulguları

İki bitki ve bir mantar türüne (*Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera* ve *Ganoderma lucidum* (red reishi) ait ham metanol özütler, altı tümör hücre hattı; A549 (İnsan küçük hücreli akciğer karsinomu), MCF7 (insan meme adenokarsinom), MDAMB231 (insan meme adenokarsinom), Neuro2a (fare nöroblastoma), Saos2 (insan osteosarkom), NA2B (insan nöroblastoma) ve bir normal hücre hattına; VERO (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) karşı antiproliferasyon etkileri Tablo 3.1, Tablo 3.2 ve Tablo 3.3’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki *Juniperus oxycedrus* ham metanol ektresinin, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MDAMB-231, Saos2, MCF7, NA2B, Neuro2A) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK (hücre+medium+%0,1 DMSO), negatif kontrol; PK, pozitif kontrol (doksorubisin, 10µg/ml)

	NK	PK	Konsantrasyon (µg/ml)(±SH)				
			100	50	25	12,5	6,25
A-549	100	35 (±1,4)	37 (±2,4)	42 (±4,4)	44,5 (±2,4)	46,5 (±6,4)	50,5 (±3,4)
MDA-MB-231	100	65 (±4,6)	47,5 (±5,6)	59 (±7,6)	64 (±5,6)	65,5 (±9,6)	69 (±6,6)
SaOs-2	100	44 (±5,4)	60,5 (±6,4)	62,5 (±8,4)	64,5 (±6,4)	66,5 (±10,4)	68,5 (±7,4)
MCF-7	100	69 (±7,5)	63,5 (±8,5)	68 (±10,5)	75,5 (±8,5)	86 (±12,5)	99 (±9,5)
NA2B	100	30 (±1,7)	24,5 (±2,7)	47,5 (±4,7)	62 (±2,7)	68,5 (±6,7)	73 (±3,7)
Neuro2A	100	120 (±5,9)	43,5 (±6,9)	69,5 (±8,9)	70 (±6,9)	78,5 (±10,9)	82,5 (±7,9)
Vero	100	62 (±0,3)	110,5 (±1,3)	115 (±3,3)	122,5 (±1,3)	133 (±5,3)	146 (±2,3)



Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki *Juniperus oxycedrus* ham metanol ektresinin, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MDAMB231, Saos2, MCF7, NA2B, Neuro2A) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK (hücre+medium+%0,1 DMSO), negatif kontrol; PK, pozitif kontrol (doksorubisin, 10 µg/ml)

Juniperus oxycedrus ham metanol ektresinin 100, 50, 25, 12,5, 6,25µg/mL konsantrasyonlarının sitotoksik aktivitesi, A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu), MDAMB231 (insan meme adenokarsinom), Saos2 (insan osteosarkom), MCF7 (insan meme adenokarsinom), NA2B (insan nöroblastoma), Neuro2a (fare nöroblastoma) tümör hücre hatları ve Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) normal hücre hatlarında MTT testi kullanılarak analiz edilmiştir. Pozitif kontrol olarak doksorubisin (10µg/ml) kullanılmıştır. Negatif kontrol %0,1 DMSO ile muamele edilmiştir.

Genel olarak özütün tüm hücre hatlarının doza bağlı hücre canlılığına olan etkisi benzer profil sergilemiştir. Tüm hücre hatlarında özüt konsantrasyonu arttıkça hücre canlılığı azalmaktadır.

Juniperus oxycedrus ham metanol özütünün 100µg/ml konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %24,5 lik hücre canlılığı ile NA2B (insan nöroblastoma) hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 100µG/mL konsantrasyonda %37'lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu)'da ve Neuro2a (fare nöroblastoma)'da %43,5 ve MDAMB231 (insan meme adenokarsinom) %47,5'luk hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı % 110,5 olarak saptanmıştır.

50µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %42' lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 50µg/mL konsantrasyonda NA2B (insan nöroblastoma) hücre hattında %47,5 lik hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı % 115 olarak saptanmıştır.

25µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %44,5 lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı %122,5 olarak saptanmıştır.

12,5µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %46,5 lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (12,5µG/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı %133 olarak saptanmıştır.

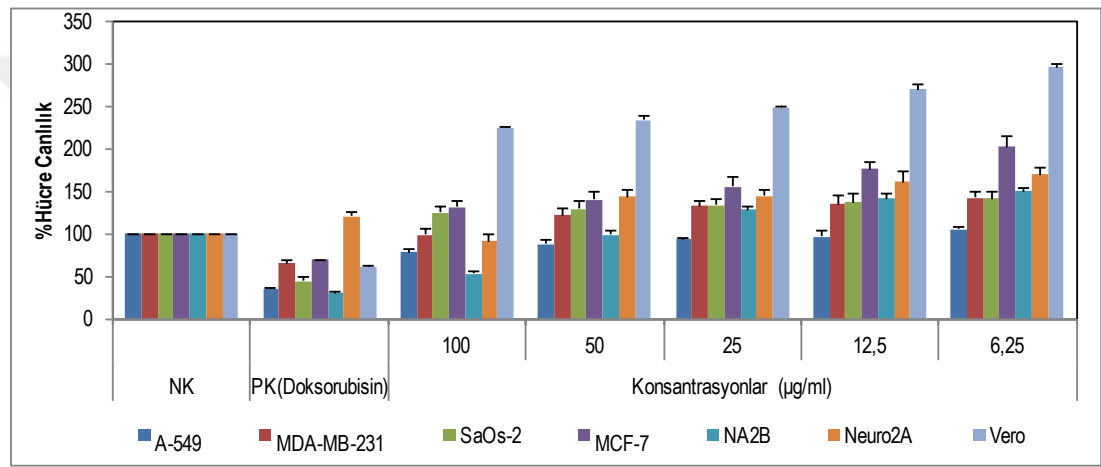
6,25µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %50,5 lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (6,25µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı %146 olarak saptanmıştır.

Tablo 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki *Smilax aspera* ham metanol ekstresinin, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MDAMB231, Saos2, MCF7, NA2B, Neuro2A) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µg/ml)

	NK	PK	Konsantrasyon (µG/mL)				
			100	50	25	12,5	6,25
A-549	100	35 (±1,4)	78 (±2,7)	88 (±4,7)	93 (±2,7)	97 (±6,7)	105 (±3,7)
MDAMB231	100	65 (±4,6)	99 (±5,9)	122 (±7,9)	132 (±5,9)	135 (±9,9)	142 (±6,9)
Saos-2	100	44 (±5,4)	125 (±6,7)	129 (±8,7)	133 (±6,7)	137 (±10,7)	141 (±7,7)

Tablo 3.2. (Devam) Farklı konsantrasyonlardaki *Smilax aspera* ham metanol ektresinin, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MDAMB231, Saos2, MCF7, NA2B, Neuro2A) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µg/ml)

MCF7	100	69 (±7,5)	131 (±8,8)	140 (±10,8)	155 (±8,8)	176 (±12,8)	202 (±9,8)
NA2B	100	30 (±1,7)	53 (±3)	99 (±5)	128 (±3)	141 (±7)	150 (±4)
Neuro2A	100	120 (±5,9)	91 (±7,2)	143 (±9,2)	144 (±7,2)	161 (±11,2)	169 (±8,2)
Vero	100	62 (±0,3)	225 (±1,6)	234 (±3,6)	249 (±1,6)	270 (±5,6)	296 (±2,6)



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki *Smilax aspera* ham metanol ektresinin, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MDAMB231, Saos2, MCF7, NA2B, Neuro2A) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µg/ml)

Smilax aspera ham metanol özütünün 100, 50, 25, 12,5, 6,25µg/mL konsantrasyonlarının sitotoksik aktivitesi, A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu), MDAMB231 (insan meme adenokarsinom), Saos2 (insan osteosarkom), MCF7 (insan meme adenokarsinom), NA2B (insan nöroblastoma), Neuro2a (fare nöroblastoma) tümör hücre hatları ve Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) normal hücre hatlarında MTT testi kullanılarak analiz edilmiştir. Pozitif kontrol olarak doksorubisin (10µg/mL) kullanılmıştır. Negatif kontrol %0,1 DMSO ile muamele edilmiştir.

Genel olarak özütün tüm hücre hatlarının doza bağlı hücre canlılığına olan etkisi benzer profil sergilemiştir. Tüm hücre hatlarında özüt konsantrasyonu arttıkça hücre canlılığı azalmaktadır.

Smilax aspera ham metanol ekstresinin 100µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %53'lük hücre canlılığı ile NA2B (insan nöroblastoma) hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 100µg/mL konsantrasyonda A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu)'da %78'lik hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı % 225 olarak saptanmıştır.

50µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %88'lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) da hücre canlılığı %234 olarak saptanmıştır.

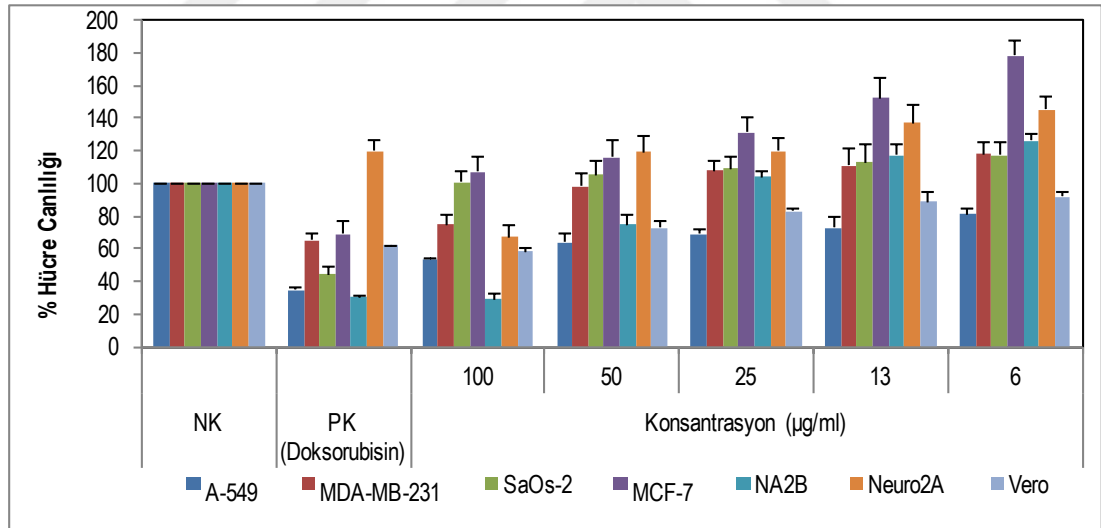
25µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %93 lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) da hücre canlılığı %249 olarak saptanmıştır.

12,5µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %97 lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (12,5µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) da hücre canlılığı %270 olarak saptanmıştır.

6,25µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %105 lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (6,25µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) da hücre canlılığı %296 olarak bulundu.

Tablo 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki *Ganoderma lucidum* ham metanol ektresinin, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MDAMB231, Saos2, MCF7, NA2B, Neuro2A) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µg/ml)

	NK	PK	Konsantrasyon (µG/mL)				
			100	50	25	12,5	6,25
A549	100	35 (±1,4)	54 (±0,3)	64 (±5)	69 (±3)	73 (±7)	81 (±4)
MDA-MB231	100	65 (±4,6)	75 (±6,2)	98 (±8,2)	108 (±6,2)	111 (±10,2)	118 (±7,2)
Saos2	100	44 (±5,4)	101 (±7)	105 (±9)	109 (±7)	113 (±11)	117 (±8)
MCF-7	100	69 (±7,5)	107 (±9,1)	116 (±11,1)	131 (±9,1)	152 (±13,1)	178 (±10,1)
NA2B	100	30 (±1,7)	29 (±3,3)	75 (±5,3)	104 (±3,3)	117 (±7,3)	126 (±4,3)
Neuro2A	100	120 (±5,9)	67 (±7,5)	119 (±9,5)	120 (±7,5)	137 (±11,5)	145 (±8,5)
Vero	100	62 (±0,3)	58 (±1,9)	73 (±3,9)	83 (±1,9)	89 (±5,9)	92 (±2,9)



Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki *Ganoderma lucidum* ham metanol ektresinin, 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MDAMB231, Saos2, MCF7, NA2B, Neuro2A) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µg/ml)

Ganoderma lucidum ham metanol ektresinin 100, 50, 25, 12,5, 6,25µg/mL konsantrasyonlarının sitotoksik aktivitesi, A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu), MDAMB231 (insan meme adenokarsinom), Saos2 (insan osteosarkom), MCF7 (insan meme adenokarsinom), NA2B (insan nöroblastoma), Neuro-2a (fare

nöroblastoma) tümör hücre hatları ve Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) normal hücre hatlarında MTT testi kullanılarak analiz edilmiştir. Pozitif kontrol olarak doksorubisin (10µg/mL) kullanılmıştır. Negatif kontrol %0,1 DMSO ile muamele edilmiştir.

Genel olarak özütün tüm hücre hatlarının doza bağlı hücre canlılığına olan etkisi benzer profil sergilemiştir. Tüm hücre hatlarında özüt konsantrasyonu arttıkça hücre canlılığı azalmaktadır.

Ganoderma lucidum ham metanol özütünün 100µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %29'luk hücre canlılığı ile NA2B (insan nöroblastoma) hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 100µg/mL konsantrasyonda A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) da %54'lük hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) da hücre canlılığı %58 olarak saptanmıştır.

50µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %64'lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 50µg/mL konsantrasyonda NA2B hücre hattında %75'lik hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı %73 olarak saptanmıştır.

25µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %69'luk hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) da hücre canlılığı %83 olarak saptanmıştır.

12,5µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %73'lük hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (12,5µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast)'da hücre canlılığı %89 olarak saptanmıştır.

6,25µg/mL konsantrasyonunun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en yüksek sitotoksik aktivite %81'lik hücre canlılığı ile A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (6,25µg/mL) normal hücre hattı Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek fibroblast) da hücre canlılığı %92 olarak saptanmıştır.

Her hücre hattı 37 °C'de, 3 saat boyunca üç bitki özütünün 6,25, 12,5, 25, 50 ve 100µg/ml dozları ile inkübe edilmiştir. Daha sonra IC₅₀ değerlerini saptamak için MTT analizleri yapılmıştır. Her analiz ve her bir hücre hattı için üç well plate kullanılarak, üç bağımsız analizden gelen veriler değerlendirilmiştir.

Tablo (3.4)'deki IC₅₀ değerlerine bakıldığında en düşük değerini A549 kanser hücre hattına karşı 7,2µg/ml değeriyle *Juniperus oxycedrus* özütü sergilemiştir. Bunu 47,5µg/ml değeriyle NA2B, 62,4µg/ml değeriyle MDAMB231 ve 87,6 değeriyle Neuro2A hücre hatları takip etmiştir. *Ganoderma lucidum* NA2B hücre hattı üzerinde 72,4µg/ml'lik IC₅₀ değeriyle inhibisyon sağlamıştır.

Tablo 3.4. *G.lucidum*, *J. oxycedrus* ve *S. aspera*'nın IC₅₀ değerleri

Hücreler	IC ₅₀ (µg/ml)		
	<i>G. lucidum</i>	<i>J. oxycedrus</i>	<i>S. aspera</i>
A549	102,7 (±1,23)	7,2 (±0,21)	138,3 (±3,29)
MDAMB231	154,3 (±2,41)	62,4 (±0,52)	197,4 (±5,11)
Saos2	206,8 (±4,37)	112,4 (±2,21)	243,2 (±7,16)
MCF7	223,2 (±5,28)	124,7 (±2,38)	267,4 (±8,21)
NA2B	72,4 (±0,67)	47,5 (±0,29)	104,6 (±1,61)
Neuro2A	128,6 (±2,49)	87,6 (±1,69)	186,8 (±1,76)
Vero	113,1 (±1,82)	280,2 (±3,36)	372,7 (±8,18)

3.2. DPPH ile Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları

DPPH• radikali, birkaç kararlı organik azot radikalinden bir tanesidir. Koyu menekşe renktedir. UV-GB absorpsiyon maksimumu 515 nm'dir. Ticari olarak bulunur ve ABTS•+ radikali gibi deneyden önce hazırlanması zorunlu değildir (Prior ve diğ., 2005). Bu metot DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonuna

bağlı olarak süpürülmesi temeline dayanır. Etanolik DPPH çözeltisinin koyu menekşe rengi açılır ve absorbanstaki azalma UV-GB spektrofotometresiyle ölçülür. Alternatif olarak, antioksidan indirgeme yeteneği, elektron spin rezonans ile de değerlendirilebilir. Etanolik DPPH çözeltisindeki daha fazla renk açılması, reaksiyon karışımının absorbanсында daha fazla düşme, dolayısıyla yüksek radikal süpürme kapasitesi demektir (Ndhlala ve diğ., 2010).

DPPH radikalinin absorpsiyonundaki azalma spektrofotometre ile ölçülmektedir. Mor (aktivite yok) ile sarı renk (yüksek aktivite) arasında değişen renk dağılımı antioksidan aktivitenin göstergesidir. DPPH metodu saf fenolik bileşenler ve doğal bitkisel ekstraktlar için yaygın olarak kullanılmaktadırlar ve tekrarlanabilirliği iyi olan bir yöntemdir (Awika ve diğ., 2003).

Bu çalışmada, *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*, *Ganoderma lucidum* özütleri 517 nm'de karakteristik absorpsiyona sahip kararlı bir serbest radikal olan DPPH ile radikal süpürme kapasiteleri için tarandı.

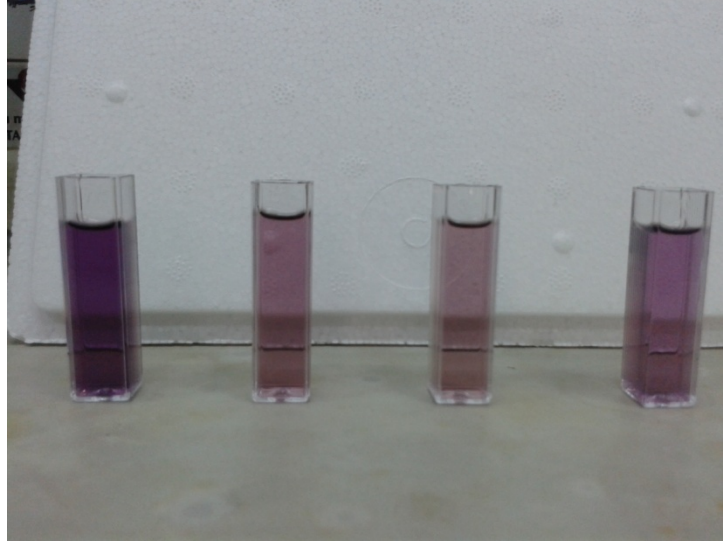
Elde edilen absorban değerleri sonuçları Formül (1.4)'e göre her bir örnek için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Engelleme (I)} = [(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}) / Abs_{\text{control}}] \times 100 \quad (1.4)$$

En yüksek radikal süpürücü aktivite Tablo (3.5)'te görüldüğü gibi sırasıyla *S. aspera* (%61), *G. lucidum* (%50,1) ve *J. oxycedrus* (%47,3) olarak elde edildi.

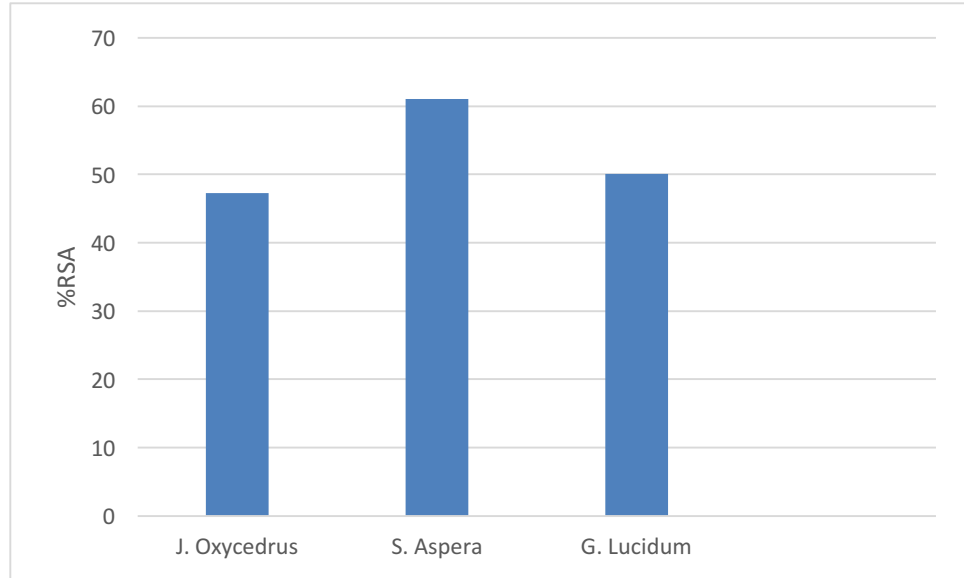
Tablo 3.5. DPPH ile Antioksidan Aktivite tayin sonuçları(*EtoH, **DPPH solüsyon)

	Absorbans değeri	Radikal süpürme aktivitesi(%)
Kör*	0,052	-
<i>J. oxycedrus</i>	0,713	%47,3
<i>S. aspera</i>	0,528	%61
<i>G. lucidum</i>	0,675	%50,1
Kontrol**	1,353	-



Şekil 3.4. Soldan sağa kör, *J. oxycedrus*, *S. aspera*, *G. lucidum*'un spektrofotometre ile ölçülmeden önceki renk olarak görüntüleri.

Şekil 3.4 'de de görüldüğü gibi kör olarak kullanılan EtoH mor menekşe renginde görünürken, *S. aspera*'nın bulunduğu tüpte rengin en açık olduğu, dolayısıyla radikal süpürme aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 3.5'te *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*, *Ganoderma lucidum* ve özütlerinin DPPH radikal süpürme aktiviteleri grafik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.5. *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*, *Ganoderma lucidum* özütlerinin DPPH radikal süpürme aktivite bulguları

3.3. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Bitki özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) 96-kuyucuklu kültür kaplarında sıvı-mikrodilüsyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Test bakterilerinin CLSI, M07-A9 standardına göre katyon-ayarlı MHB içerisinde 37°C’de 24 saatlik aktif kültürleri hazırlandıktan sonra 0.5 McFarland standardına göre inokulum standardize edilmiştir. Test bulguları Tablo 3.6’da gösterilmiştir. Bulguların grafiği ise Şekil 3.6’da gösterilmiştir.

MRSA ile yapılan MİK testi sonucunda elde edilen verilere göre *J. oxycedrus*, *S. aspera* ve *G. lucidum*’un MIC değerleri sırasıyla 31,25µg/ml, 62,5µg/ml ve 62,5µg/ml olarak saptanmıştır. MRSA’nın pozitif kontrol olarak seçilen ampisilin’e karşı MİK değeri ise 80µg/ml olarak belirlenmiştir.

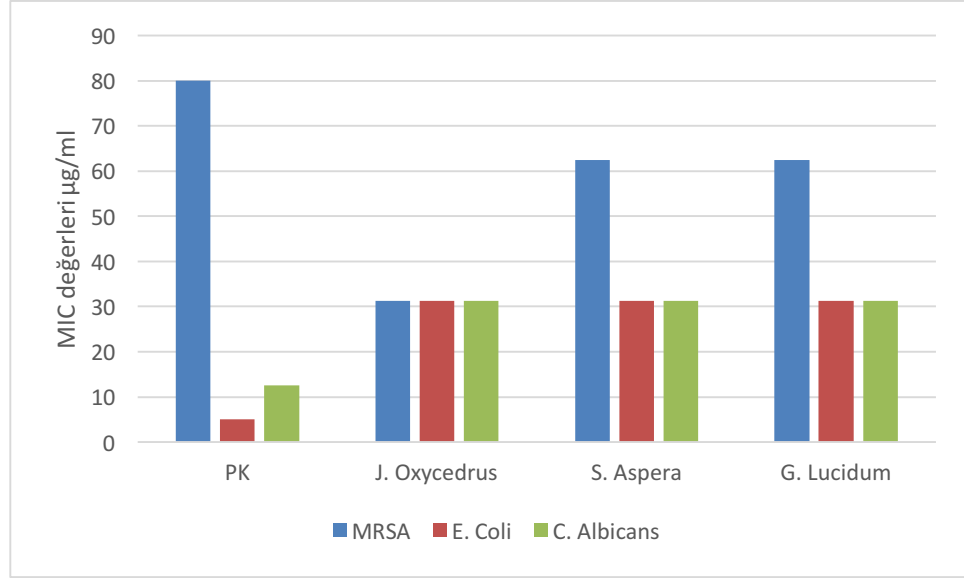
E. coli (O157:H7 RSKK 234) ile yapılan MİK testi sonuçlarına göre *J. oxycedrus*, *S. aspera* ve *G. lucidum* özütlerinin MİK değerleri hepsinde 31,25µg/ml olarak saptanmıştır. *E. coli*’nin pozitif kontrol olarak seçilen ampisilin’e karşı MİK değeri ise 5µg/ml olarak belirlenmiştir.

Candida albicans ile yapılan MİK testi sonucunda *J. oxycedrus*, *S. aspera* ve *G. lucidum*’un MİK değerleri hepsinde 31,25µg/ml olarak saptanmıştır. Maya için pozitif kontrol olarak seçilen sikloheksimite karşı MİK değeri ise 12,5µg/ml olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.6. MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) testi bulguları

Test organizmaları	<i>J. oxy</i>	<i>S. asp</i>	<i>G. luc</i>	Ampisilin ^a	Sikloheksimit ^b
MRSA (<i>S. aureus</i> ATCC 43300)	31,25 (µg/ml)	62,5 (µg/ml)	62,5 (µg/ml)	80 (µg/ml)	nd
<i>E. coli</i> O157:H7 RSKK 234	31,25 (µg/ml)	31,25 (µg/ml)	31,25 (µg/ml)	5 (µg/ml)	nd
<i>Candida albicans</i>	31,25 (µg/ml)	31,25 (µg/ml)	31,25 (µg/ml)	nd	12,5 (µg/ml)

^aBakteriler için pozitif kontrol, ^b Maya için pozitif control



Şekil 3.6. *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera*, *Ganoderma lucidum* özütlerinin MİK testi bulgu grafiği

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1. Sitotoksisite Sonuçlar ve Öneriler

Hücre modelleri üzerine giderek artan bir literatür veri tabanı, *Juniperus*, *Smilax* ve *Ganoderma* türlerinin potansiyel antikanser aktivitesi ile biyoaktif bileşik kaynağı olabileceğini düşündürmektedir.

Taviano ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada *J. oxycedrus*'un 0-10µg/ml konsantrasyonlarda HepG2 (insan hepatosellular karaciğer karsinomu) tümör hücre hattı üzerinde, 10µg/ml'lik konsantrasyonda %100'lük hücre canlılığı ile sitotoksik etkisi olmadığını tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada *J. oxycedrus* 6,25µg/ml'lik konsantrasyonda NA2B (insan nöroblastoma) tümör hücre hattı üzerinde %73'lük hücre canlılığı ile sitotoksik bir etki göstermiştir.

Ivanova ve ark. (2010) *S. aspera* ile FL (normal amniyotik insan hücresi) normal hücre hattı ve A549 (insan akciğer karsinomu) ile yaptığı sitotoksik testler sonucunda *S. aspera*'dan izole edilen bazı saponinlerin A549 hücre hattı için 62,94µg/ml'lik IC₅₀ değeriyle potansiyel terapötik ajanlar olabileceğini tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise IC₅₀ değeri A549 hücre hattı için 138,3µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Zhao ve ark. (2009) *G. lucidum* polisakkaritleri ile RAW 264,7 (*Mus musculus* lösemi makrofajı) ve MDAMB231 (insan meme kanseri) hücre hatları üzerinde yaptığı sitotoksik çalışmada, MDAMB231 hücre hattına karşı 50µg/ml konsantrasyonda %95,8 hücre canlılığı bulurken bizim çalışmamızda aynı konsantrasyonda bu oran %98 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera* ve *Ganoderma lucidum* türlerinin metanol özütleri 6 kanser hücre hattı A549 (İnsan küçük hücreli akciğer karsinomu), MCF7 (İnsan meme adenokarsinom), MDAMB231 üzerinde, IC₅₀ değerleri belirlenmek üzere, 6,25-100µg/ml konsantrasyonlarda, MTT analizi ile sitotoksisite testleri yapılmıştır.

Sitotoksosite testleri sonucunda *J. oxycedrus* türünün ham metanol özütünün 100µg/ml'lik konsantrasyonunda, A549 ve NA2B tümör hücreleri üzerindeki büyüme inhibisyonu sırasıyla %37 ve %24,5 olarak bulunmuştur. 6,25 µg/ml'lik konsantrasyonda ise sırasıyla %50,5 ve %73 olarak hesaplanmıştır. Pozitif kontrol olan doksorubisinin bu hücre hatları üzerindeki inhibisyonu sırasıyla %35 ve %30 olduğu göz önüne alınırsa; *J. oxycedrus*'un özellikle 100µg/ml konsantrasyonda NA2B hücre hattında %24,5'lik bir hücre canlılığı ile doksorubisinden daha iyi bir sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca Doksorubisinin *Vero* normal hücre hattındaki hücre canlılığı %62 iken, *J. oxycedrus*'un 100µg/ml konsantrasyonda hücre canlılığı %110,5 olarak bulunmuştur. Bu da bize *J. oxycedrus*'un özellikle NA2B hücre hattı üzerinde gösterdiği bu sitotoksik etkinin, nöroblastoma tedavisinde kullanımı için umut vaat edebileceğini göstermektedir.

S. aspera türünün ham metanol özütünün 100µg/ml'lik konsantrasyonunda, A549 ve NA2B tümör hücreleri üzerindeki büyüme inhibisyonu sırasıyla %78 ve %53 olarak bulunmuştur. *S. aspera*'nın *Vero* normal hücre hattı üzerinde %225'lik hücre canlılığı ile sitotoksik olmadığı tespit edilmiştir.

G. lucidum türünün ham metanol özütünün 100µg/ml'lik konsantrasyonunda, A549 ve NA2B tümör hücreleri üzerindeki büyüme inhibisyonu sırasıyla %54 ve %29 olarak bulunmuştur. *G. lucidum Vero* normal hücre hattı üzerinde %58'lik hücre canlılığı ile doksorubisine göre (%62) daha sitotoksik bir etki gösterdiği bulunmuştur.

IC₅₀ değerlerine bakıldığında en düşük değerini A549 kanser hücre hattına karşı 7,2µg/ml değeriyle *Juniperus oxycedrus* özütü sergilemiştir. Bunu 47,5µg/ml değeriyle NA2B, 62,4µg/ml değeriyle MDAMB231 ve 87,6µg/ml değeriyle Neuro2A hücre hatları takip etmiştir. *Ganoderma lucidum* NA2B hücre hattı üzerinde 72,4µg/ml'lik IC₅₀ değeriyle inhibisyon sağlamıştır.

J. oxycedrus, *S. aspera* ve *G. lucidum* metanol özütleri ile hem tümör hücreleri hem de normal hücre hatları üzerinde, MTT analizi ile gerçekleştirilen sitotoksosite sonuçlarında gözlemlenen IC₅₀ değerlerinden yola çıkılarak ülkemizde yaygın olarak bulunan *Juniperus oxycedrus* türü üzerinde yoğunlaşılmasının uygun olacağı önerilebilir.

4.2. Antioksidan Aktivite Testi Sonuçlar ve Öneriler

J. oxycedrus, *S. aspera* ve *G. lucidum* türlerinin ham metanol özütleri antioksidan aktivite bakımından DPPH testi ile değerlendirilmiştir.

Literatüre baktığımızda, yapılan bir çalışmada *J. chinensis*'den elde edilen özütler DPPH radikal süpürme aktivitesi testinde güçlü bir antioksidan aktivite göstererek, bu bitkiden serbest radikal süpürücü olduğu belirtilen çeşitli fenolikler (quercetin, naringenin, taxifolin, aromadendrin ve izoerkesrin) elde edilmiştir (Lim ve diğ., 2002).

Orhan N. ve ark. (2011) yaptığı bir çalışmada *J. oxycedrus*'tan elde edilen etanol özütlerinin DPPH radikal süpürme aktivitesini %55 olarak bulmuştur, bizim çalışmamızda *J. oxycedrus* ham metanol özütünün DPPH radikal süpürme aktivitesi %47,3 olarak tespit edilmiştir.

S. zeylanica kök ve rizom metanol özütleri ile yapılan antioksidan aktivite çalışmasında DPPH radikal süpürme aktivitesi IC₅₀ değeri 7,6µg/ml olarak bulunmuştur ve değişik *in vitro* ortamlarda güçlü antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Muralı ve diğ., 2010). Bizim *S. aspera* ham metanol özütü ile yaptığımız çalışmada DPPH radikal süpürme aktivitesi %61 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada *S. macrophylla* yaprakları, kuru bitki maddesinin toplam fenolik içeriğinin (2,2-6,2 Gallik asit eşdeğeri mg/g) ve toplam flavonoid içeriğinin (1,2-4,5 Catechin, mg/g) önemli düzeyde olduğunu göstermiştir. Yaprak özütü ve fraksiyonlar DPPH radikal süpürme testi ile ölçüldüğünde iyi bir antioksidan potansiyeli sergilediği (İnhibitör konsantrasyonu%50 =33,4-72,3İg/mL) bulunmuştur (Zubair ve diğ., 2012). Bizim *S. aspera* ham metanol özütü ile yaptığımız çalışmada DPPH radikal süpürme aktivitesi %61 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada *G. lucidum* 'un sahip olduğu toplam triterpenlerin DPPH serbest radikalleri temizleme aktivitesi %81,81 olarak bulunmuştur (Smina ve diğ., 2011). Bizim çalışmamızda ise *G. lucidum* 'un DPPH serbest radikalleri temizleme aktivitesi %50,1 olarak tespit edilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada ise DPPH radikal süpürücü aktivitesi en yüksek olan özüt %61 ile *S. aspera*'ya aittir. Bunu sırasıyla %50,1 ile *G. lucidum* ve %47,3 ile *J.*

oxycedrus takip etmiştir. Tüm bu sonuçlar gözönüne alındığında *S. aspera*'nın potansiyel bir antioksidan olduğunu söylenebilir ve gıda sektöründe kullanılabilecek potansiyel bir doğal antioksidan görevi üstlenebileceği öngörülmektedir.

4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçlar ve Öneriler

1961 yılında ilk metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşunun saptanmasından sonra bu suşların meydana getirdiği hastalıkların tedavisi tüm dünyada hastane enfeksiyonu etkenleri arasında önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda kullanılan özütlerin MRSA'ya karşı aktivitesinin yüksek olması özellikle önem teşkil etmektedir.

Literatüre baktığımızda gentamisin, vankomisin, daptomisin gibi antibiyotiklerin MRSA'ya karşı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen MİK değerleri sırasıyla 0,25µg/ml, 1µg/ml, 2µg/ml olduğunu görmekteyiz (URL-9). Bizim yaptığımız çalışmada *J. oxycedrus*'un MRSA'ya karşı MİK değeri 31,25µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Cavaleiro ve ark. (2005) *Juniperus oxycedrus*'tan elde ettikleri esansiyel yağlarla yaptıkları bir antifungal aktivite çalışmasında *Candida albicans*'ın MİK değerini 1,25-2,5µg/ml olarak bulmuşlardır. Bizim yaptığımız çalışmada ise *Candida albicans*'ın MİK değeri 31,25µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada *Juniperus macrocarpa* esansiyel yağlarının, gram pozitif bakterilere karşı, özellikle de *Clostridium perfringens*'e karşı 2-8µg/ml arasında değişen MİK değerleriyle önemli bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Lesjak ve diğ., 2014). Bizim yaptığımız çalışmada *J. oxycedrus*'un *S. aureus*'a karşı MİK değeri 31,25µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Memiş (2011) tez çalışmasında *Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus* meyvelerinden elde ettiği özütleri sırasıyla 0,3g/mL ve 0,6g/mL konsantrasyonlarda *S. aureus* Koog (+), *E. coli* ATCC 35218, *albicans* ATCC 16231 mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite tespit etmediğini belirtmiştir (Memiş, 2011). Bizim yaptığımız çalışmada *J. oxycedrus*'un *S. aureus* ve *E.coli*'ye karşı MİK değerleri 31,25µg/ml olarak tespit edilmiştir.

G. lucidum aseton özütü ile yapılan antimikrobiyal bir çalışmada *E. Coli* (MTCC-443)'ye karşı 20,8mg/ml ve *S. aureus* (MTCC-737)'ye karşı 8,17mg/ml'lik MİK değerleriyle patojen mikroorganizmaların neden olduğu çeşitli hastalıklarla mücadele etmek için kullanılabileceği tespit edilmiştir (Quereshi ve diğ., 2010). Bizim çalışmamızda *G. lucidum* ham metanol özütünün *E. coli* ve *S. aureus* için MİK değerleri sırasıyla 31,25µg/ml ve 62,5µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Bizim yaptığımız antimikrobiyal aktivite testi sonuçlarına göre *Juniperus oxycedrus*, *Smilax aspera* ve *Ganoderma lucidum* özütlerinin MİK değerlerine bakıldığında antimikrobiyal ve antikandidal etki bakımından anlamlı bir aktiviteye olduğunu söyleyebiliriz. Özellikle 31,25 µg/ml'lik MİK değeriyle *J. oxycedrus*'un MRSA'ya karşı antimikrobiyal etkisi biyolojik ajan olması için umut vaat etmektedir.

J. oxycedrus, *S. aspera* ve *G. lucidum* ham metanol özütleri ile yaptığımız antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda, antikanser aktivite bakımından en aktif olan özütün A549 kanser hücre hattına karşı 7,2µg/ml'lik IC₅₀ değeriyle *J. oxycedrus*'a ait olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteye bakıldığında bu türler arasında en aktif olan türün MRSA'ya karşı 31,25µg/ml'lik MİK değeriyle *J. oxycedrus* olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite bakımından ise en yüksek DPPH radikal süpürücü aktivitenin %61 ile *S. aspera*'ya ait olduğu tespit edilmiştir.

Elde ettiğimiz bu verilerin ileride yapılacak olan bioaktivite rehberli izolasyon çalışmalarında rehberlik edeceğini umut etmekteyiz. Özellikle *Juniperus oxycedrus* üzerinde yoğunlaşılması gerektiği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

Adams R.P., The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Juniperus* sect *Juniperus*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 1998, **26**, 637–645.

Adams R.P., *Junipers of the World: The Genus Juniperus*, 3rd ed., Trafford Publishing, USA, 2011.

Akkol K.E., Güvenç A., Yesilada E., A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa, *J.Ethnopharmacol*, 2009, **125**, 330–336.

Akman Y., *Botanik*, 7. Basım, Palme yayınları, Ankara, 1996.

Amaral Franco J., *Juniperus L.*, Editors: Tutin et al., *Flora Europaea*, 1st ed., Cambridge University Press, Cambridge, 38-39, 1964.

Amaral Franco J., *Juniperus L.*, Editors: Castroviejo et al., *Flora Iberica*, vol. 1, Real Jardin Botanico, Madrid, 181-188, 1986.

Amarowicz R., Pegg R.B., Raim-Mohaddam P., Bral B., Weil J.A., Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the *Canadian Prairies*, *Food Chem.*, DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00278-4.

Angioni A., Barra A., Russo M.T., Coroneo V., Dessia S., Cabras P., Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity, *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 3073-3078.

Bello R., Moreno L., Beltran B., Primo-Yufera E., Esplugues J., Effects on arteriolar blood pressure of methanol and dichloromethanol extracts from *J. oxycedrus L.*, *Phytotherapy Research*, 1997, **11**, 161–162.

Belhouchet Z., Sautour M., Miyamoto T., Lacaille-Dubois M.A., Steroidal Saponins from the Roots of *Smilax aspera* subsp. *mauritanica*, *Chem. Pharm. Bull.*, 2008, **56(9)**, 1324-1327.

Bouhlal K., Meynadier J.M., Peyron J.L., Peyron L., Marion J.P., Bonetti G., Meynadier J., Le cade en dermatology, *Parfums, Cosmetiques et Aromes*, 1988, **83**, 73–82.

Boh B., Berovic M., Zhang J., Zhi-Bin L., *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds, *Biotechnol Annu Rev*, 2007, **13**, 265–301.

Camargo M.R., Kaneno R., Antitumor Properties of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides and Terpenoids, *Annual Review of Biomedical Sciences*, 2011, **13**, 1-8

Cao L.Z. and Lin Z.B., Regulation on maturation and function of dendritic cells by *Ganoderma lucidum* polysaccharides, *Immunology Letters*, 2002; **83**, 163-169.

Cao Q.Z., Lin Z.B., *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide inhibits the growth of vascular endothelial cell and the induction of VEGF in human lung cancer cell, *Life Sci*, 2006, **78**(13), 1457–1463.

Cavaleiro C., Pinto E., Gonçalves M.J. and Salgueiro, Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophyte *Aspergillus* and *Candida* strains, *Journal of Applied Microbiology*, 2006, **100**(6), 1333-1338.

Challinor V.L., Parsons P.G., Chap S., White E.F., Blanchfield J.T., Lehmann R.P., Steroidal saponins from the roots of *Smilax* sp: structure and bioactivity. *Steroids* 2012, **77**, 504-511.

Chan W.K., Law H.K.W., Lin Z.B., Lau Y.L., Chan G.C.F., Response of human dendritic cells to different immunomodulatory polysaccharides derived from mushroom and barley, *International Immunology*, 2007, **19**, 891–899.

Chiej R., *Encyclopaedia of medicinal plants*, 1st ed., MacDonald Press, London, 1984.

Chiu S.W., Wang Z.M., Leung T.M., Moore D., Nutritional value of *Ganoderma* extract and assessment of its genotoxicity and antigenotoxicity using comet assays of mouse lymphocytes, *Food Chem. Toxicol.*, 2000, **38**, 173-178.

Daglia M., Polyphenols as antimicrobial agents, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2012, **23**, 174–181.

Damayanthi D., Mab A., Ahk A., Hamid A., Khh N., Effects of *Smilax myosotiflora* on testicular 11 α -hydroxysteroid dehydro- genase oxidative activity and plasma hormone levels in rats, *Biomed. Res.*, 2011, **22**, 188–193.

Deliloğlu Gürkan İ., Nalbantsoy A., Özdal Kurt F., Sevimli Gür C., Gülçe İz S., *Biyomühendislik Laboratuvarı II*, 3. baskı, Bornova, 2009.

Efferth T., Li P.C., Konkimalla V.S., Kaina B., From traditional Chinese medicine to rational cancer therapy, *Trends Mol Med*, 2007, **13**(8), 353–61.

Fattouch S., Caboni P., Coroneo V., Tuberoso C.I.G., Angioni A., Dessi S., Marzouki N., Cabras P., Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia oblonga* Miller) pulp and peel polyphenolic extracts, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 963–969.

Gao P., Hirano T., Chen Z., Yasuhara T., Nakata Y., Sugimoto A., Isolation and identification of C-19 fatty acids with anti-tumor activity from the spores of *Ganoderma lucidum* (reishi mushroom), *Fitoterapia*, 2012, **83**, 490–499.

Gu Y.H., Belury M.A., Selective induction of apoptosis in murine skin carcinoma cells (CH72) by an ethanol extract of *Lentinula edodes*. *Cancer Lett*, 2005, **220**, 21–28.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 1st ed., Oxford University Press, New York, 1984.

Han H., Baik B.-K., Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. *Int., J. Food Sci. Technol.*, 2008, **43**, 1971–1978.

Harb A.H., Zarga M., Abdalla S., Effect of trans-resveratrol, isolated from *Smilax aspera*, on smooth muscle, blood pressure and inflammation in rats and nociception in mice, *Jordan J Biol Sci*, 2009, **2**, 69–76.

Hirota B.C.K., Dos Santos Verdam M.C., Da Silva Paula De Oliveira C., Merina F.J.Z., Silva C.B., Murakami F.S., Miguel O.G., Miguel M.D., Larvicide and Antifungal activities of Sarsaparilla (*Smilax larvata*) extracts, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2015, **7**, 308-311.

Honda G., Yesilada E., Tabata M., Sezik E., Fujita T., Takeda Y., Takaishi Y., Tanaka T., Traditional medicine in Turkey. VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces, *Journal of Ethnopharmacology*, 1996, **53**, 75–87.

Huang H.L., Liu R.H., Shao F., Structural determination of two new steroidal saponins from *Smilax china*, 2009, **47**, 741-745.

Ivanova A., Mikhova B., Batsalova T., Dzhambazov B., Kostova I., New furostanol saponins from *Smilax aspera* L. and their in vitro cytotoxicity, *Fitoterapia*, 2011, **82**, 282–287.

Jena P.K., Dinda S.C., Ellaiah P., Physical evaluation and antibacterial activity of various leafy extracts of *Smilax zeylanica* linn, *J Pharm Res*, 2012, **5**(9), 4723-4725.

Kang L.P., Zhang L., Tan D.W., Zhao Y., Chen H.B., Ma B.P., New furostanol saponins from *Allium ascalonicum* L., *Magn Res Chem*, 2007, **45**, 725–733.

Karaman İ, Sahin F., Güllüce M., Ögütçü H., Sengül M., Adıgüzel A., Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L., *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, **85**, 231–235.

Khan I., Nisar M., Ebad F., Nadeem S., Saeed M., Khan H., Anti-inflammatory activities of Sieboldogenin from *Smilax china* Linn: Experimental and computational studies, *J Ethnopharmacol* 2009, **121**, 175-7.

Koyuncu M., Çoşkun M., Tanker N., *Farmasötik Botanik*, 3. Baskı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, 2007.

Lesjaka M.M., Beara I.N., Orcic D.Z., Petar K.N., Simin N-D., Emilija S-D., Mimica-Dukic N.M., Phytochemical composition and antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Juniperus macrocarpa* Sibth. et Sm., *Journal of Functional Foods*, 2014, **7**, 257–268.

Leung A.Y., Foster S., *Encyclopedia of Common Natural Ingredients: used in food, drugs and cosmetics*, 1st ed., Wiley, New York, 1996.

Liu X., Yuan J.P., Chung C.K., Chen X.J., Antitumor activity of the sporodermbroken germinating spores of *Ganoderma lucidum*, *Cancer Lett*, 2002, **182**, 155–61.

Lim, J.P., Song, Y.C., Kim, J.W., Ku, C.H., Eun, J.S., Leem, K.H., Kim, D.K., Free radical scavengers from the heartwood of *Juniperus chinensis*, *Arch. Pharm. Res.*, 2002, **25**, 449–452.

Lin Y.L., Liang Y.C., Lee S.S., Chiang B.L., Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* induced activation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells by the NF-kappaB and p38 mitogen-activated protein kinase pathways, *J Leukoc Biol*, 2005, **78**(2), 533–543.

Loizzo M.R., Tundis R., Conforti F., Saab A.M., Statti G.A., Menichini F., Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon, *Food Chemistry*, 2007, **105**, 572–578.

Longo L., Vasapollo G., Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries, *Food Chem*, 2006, **94**, 226–231.

Maruyama H., Yamazaki K., Murofushi S., Konda C., Ikekawa T., Antitumor activity of *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito and *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst., *J. Pharmacobiodyn*, 1989, **12**, 118-123.

Memiş Y., Bazı *Juniperus* türlerinden uçucu yağların ekstraksiyonu ve bunların biyolojik aktivitelerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde, 2011, 285323.

Min B.S., Gao J.J., Nakamura N., Hattori M., Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against meth-A and LLC tumor cells. *Chem Pharm Bull*, 2000, **48**, 1026-33.

Mizushina Y., Hanashima L., Yamaguchi T., Takemura M., Sugawara F., Saneyoshi M., Matsukage A., Yoshida S., Sakaguchi K., A mushroom fruiting body-inducing substance inhibits activities of replicative DNA polymerases, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, **249**, 17–22.

Moreno L., Bello R., Beltran B., Calatayud S., Primo-Yufera E., Esplugues J., Pharmacological screening of different *J. oxycedrus* L. extracts, *Pharmacology and Toxicology*, 1998, **82**, 108–112.

Moreno L., Bello R., Primo-Yufera E., Esplugues J., In vitro studies of methanol and dichlorometanol extracts of *J. oxycedrus* L., *Phytotherapy Research*, 1998, **11**, 309–311.

Muralı A., Ashok P., Madhavan V., In vitro antioxidant activity and HPTLC studies on the roots and rhizomes of *Smilax zeylenica* L. (*Smilacaceae*), *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011, **3**, 192-195.

Ndhlala A.R., Moyo M., Van Staden J., Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules, *Molecules*, DOI: 10.3390/molecules15106905.

Ngo D.-H., Wijesekara I., Vo T.-S., Ta Q.V., Kim S.-K., Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: an overview, *Food Res. Int.*, 2011, **44**, 523–529.

Oka S., Tanaka S., Yoshida S., Hiyama T., Ueno Y., Ito M., Kitadai Y., Yoshihara M., Chayama K., A watersoluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia suppresses the development of colorectal adenomas, *Hiroshima J Med Sci.*, 2010, **59**, 1-6.

Orhan N., Orhan İ. E., Ergun F., Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five *Juniperus* species, *Food and Chemical Toxicology*, 2011, **49**, 2305–2312.

Orhan N., Aslan M., Demirci B., Ergun F., A bioactivity guided study on the antidiabetic activity of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* L. leaves, *J. Ethnopharmacol*, 2012, **140**, 409–415.

Öztürk M., Tümen I., Uğur A., Aydoğmuş-Öztürk F., Topçu G., Evaluation of fruit extracts of six Turkish *Juniperus* species for their antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities, *J. Sci. Food Agric*, 2011, **91**, 867–876.

Pandey K.B., Rizvi S.I., Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxid. Med. Cell. Longev*, 2009, **2**, 270–278.

Patel R.P., Cornwell T., Darley-Usmar V.M., The biochemistry of nitric oxide and peroxynitrite: implications for mitochondrial function., Editors: Packer L., Cadenas E., *Understanding the process of aging: the roles of mitochondria, free radicals, and antioxidants*, Marcel Dekker, New York, 1999, 39-56.

Prior R.L., Wu X., Schaich K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *J Agr Food Chem*, 2005, **53**, 4290-4302.

Quereshi S., Pandey A.K., Sandhu S.S., Evaluation of antibacterial activity of different *Ganoderma lucidum* extracts, *People's Journal of Scientific Research*, 2010, **3**(1), 9-14.

Russell R., Paterson M., *Ganoderma* a therapeutic fungal biofactory, *Phytochemistry*, 2006, **67**, 1985–2001.

Sadeghi-aliabadi H., Emami A., Saidi M., Sadeghi B. and Jafarian A., Evaluation of in vitro cytotoxic effects of *Juniperus foetidissima* and *Juniperus sabina* extracts against a panel of cancer cells, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2009, **8** (4), 281-286.

Sanchez de Medina F., Gamez M.J., Jimenez I., Jimenez J., Osuna J.I., Zarzuelo A., Hypoglycemic activity of juniper berries. *Planta Medica*, 1994, **60**, 197–200.

Seca A.M.L., Silva A.M.S., The chemical composition of the *Juniperus* genus (1970–2004). Editors: Govil, J.N., Singh V.K. (Eds.), Recent Progress in Medicinal Plants, *Phytomedicines*, Studium Press LLC, Houston, 2006, **16**, 399–520.

Sliva D., Labarrere C., Slivova V., Sedlak M., Lloyd F.P., Ho N.W.Y., *Ganoderma lucidum* suppresses motility of highly invasive breast and prostate cancer cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, **298**, 603–612.

Sliva D., *Ganoderma lucidum* (Reishi) in cancer treatment, *Integr Cancer Ther*, 2003, **2**(4), 358–364.

Smina TP, Mathew J, Janardhanan KK, Devasagayam TP, Antioxidant activity and toxicity profile of total triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst occurring in South India., *Environ Toxicol Pharmacol*, 2011, **32**(3), 438-46, DOI: 10.1016/j.etap.2011.08.011.

Sparg S.G., Light M.E., van Staden J., Biological activities and distribution of plant saponins, *J Ethnopharm*, 2004, **94**, 219–243.

Swanston-Flatt S.K., Day C., Bailey C.J., Flatt P.R., Traditional plant treatments for diabets. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice, *Diabetologia*, 1990, **33**, 462–464.

Tang W., Gu T.Y., Zhong J.J., Separation of targeted ganoderic acids from *Ganoderma lucidum* by reversed phase liquid chromatography with ultraviolet and mass spectrometry detections, *Biochem Eng J*, 2006, **32**, 205–210.

Taviano M. F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L., Güvenç A., De Pasquale R., Miceli N., *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. “berries” from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities, *Food and Chemical Toxicology*, 2013, **58**, 22–29.

Tuzlacı, E., Erol, M. K., Turkish folk medicinal plants, Part II, Eğirdir (Isparta) *Fitoterapia*, 1993, **70**, 593–610.

URL-1: <http://www.kanser.gov.tr/kanser/kanser-nedir.html> (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-2: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan#Kaynaklar> (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-3: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=121 (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-4: http://plants.nature4stock.com/?page_id=2320 (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-5: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8813 (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-6:<http://www.actaplantarum.org/floraitaliae/viewtopic.php?t=6444>(Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-7:<https://mushroomsworld.wordpress.com/category/lingzhi-ganoderma-lucidum> (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-8: https://www.atcc.org/en/Products/Cells_and_Microorganisms.aspx (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

URL-9:http://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu_folder/2011-03/html/2011-4503565-576.htm (Ziyaret tarihi: 22 Ekim 2017)

Wasser S.P., Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, **60(3)**, 258–74.

Wungsintaweekul B., Umehara K., Miyase T., Noguchi H., Estrogenic and anti-estrogenic compounds from the Thai medicinal plant, *Smilax corbularia* (*Smilacaceae*), *Phytochem*, 2011, **72**, 495-502.

Xu X., Wan Y., Qi Z.C., Qiu Y.X. and Fu C.X., Isolation of compound microsatellite markers for the common mediterranean shrub *Smilax aspera* (*Smilacaceae*), *American Journal of Botany*, 2011, **98**, 64–66.

Yen G.C. and Duh P.D., Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species, *J Agric Food Chem*, 1994, **42**, 629-632.

Yesilada E., Honda G., Sezik E., Tabata M., Fujita T., Tanaka T., Takeda Y., Takaishi Y., Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the Inner Taurus mountains, *Journal of Ethnopharmacology*, 1995, **46**, 133–152.

Yue G.G.L., Fung K.P., Leung P.C., Lau C.B.S., Comparative studies on the immunomodulatory and antitumor activities of the different parts of fruiting body of *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma* spores, *Phytother Res*, 2008, **22**, 1282–91.

Zhang J., Tang Q., Zhou C., Jia W., Da Silva L., Nguyen L.D., Reutter W., Fan H., GLIS, a bioactive proteoglycan fraction from *Ganoderma lucidum*, displays anti-tumour activity by increasing both humoral and cellular immune response, *Life Sciences*, 2010, **87**, 628–637.

Zhuang S.R. et al., Effect of Citronellol and the Chinese Medical Herb Complex on Cellular Immunity of Cancer Patients Receiving Chemotherapy/Radiotherapy. *Phytother. Res.*, 2009, **23**, 785–90.

Zubair M., Rizwan K., Rashid U., Saeed R., Saeed A.A., Rasool N., Riaz M., GC/MS profiling, in vitro antioxidant, antimicrobial and haemolytic activities of *Smilax macrophylla* leaves, *Arabian Journal of Chemistry*, 2017, **10**, 1460–1468.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Sevimli Gür C., **Oğuz Akın S.**, Türkiye'deki Juniper sp., Smilax sp., Ganoderma sp. türlerinin ham metanol özütlерinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması, *Türkbilim*, 2017, **6**, 25-32.



ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Diyarbakır'da doğmuş olup aslen Balıkesirlidir. İlköğrenimine Kalkım'da başladı ve Edremit'te devam etti. Ortaokul ve liseyi Edremit Anadolu Lisesi'nde 2003 yılında tamamladı ve aynı sene Gazi Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği bölümünü kazandı.2008 yılında bu bölümden tezsiz yüksek lisans derecesi ve yüksek onur derecesiyle mezun oldu. Yine aynı yılın Kasım ayında Düzce Gümüşova Lisesi'ne Biyoloji öğretmeni olarak atandı. 2012 yılı güz döneminde Kocaeli üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji bölümü Tezli yüksek lisans programını kazandı. Halen Değirmendere Hacı Halit Erkul Anadolu Lisesinde Biyoloji Öğretmeni olarak görev yapmaktadır. Evli ve Zeynep Ada adında bir kızı vardır.