

**Ehrlich Asit Tumorü Taşıyan Balb/C Irkı Farelerde
Plantago major L. Ekstraktının Antitümöral Etkisinin İn
Vivo Olarak Araştırılması**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman
Doç. Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Işık Didem AFACAN
Ocak 2006**

ÖZET

EHRlich ASİT TÜMÖRÜ TAŞIYAN BALB/C İRKi FARELERDE *Plantago major* L. EKSTRAKTININ ANTİTÜMÖRAL ETKİSİNİN İN VİVO OLARAK ARAŞTIRILMASI

AFACAN, Işık Didem

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Danışman: Doç. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Ocak 2006, 108 sayfa

Dünyadaki 250 000 yüksek yapılı bitkiden ancak %10'u kimyasal ve farmakolojik olarak araştırılmış vinblastin ve irinotekan gibi bitkilerden türevlenen çok etkili antikanser ajanları geliştirilmiştir. *Plantago major* L.un antikanser etkisi ile ilgili birçok in vitro çalışma bulunmasına rağmen in vivo çalışmalara rastlanmamıştır. Bu çalışmada, *P. major* bitkisinin Ehrlich asit tümörü (EAT) taşıyan Balb/C ırkı farelere gavaj yoluyla verilerek in vivo antitümöral etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 30 adet Balb/C ırkı erkek fareden oluşan üçü deney, ikisi kontrol olmak üzere beş grup oluşturulmuştur. Deney gruplarına sırasıyla 1×10^6 EAT hücresi periton altına inoküle edilmiştir. İnokülasyondan sonraki günden başlanarak 10 gün süresince hayvanlara %1'lik (I.Grup), %2'lik (II.Grup) ve %3'lük (III.Grup) konsantrasyonlu *P. major* ekstresleri 0.1 ml/gün oral olarak verilmiştir. (+) Kontrol grubuna sadece serum fizyolojik uygulanmış, (-) Kontrol grubuna ise sadece 1×10^6 EAT hücresi uygulanmıştır. Deney süresince tüm grupların kilo değişimleri kaydedilmiştir. 11. günde hayvanlar sakrifiye edilerek doku örnekleri alınmış ve Hematoksilen-eozin boyamasını takiben patolojik incelemeleri yapılmıştır. Grup I. II. III ve (-) kontrolde tümör oluşumundan dolayı kilo artışları gözlenmiştir. Bu kilo artışları en çok (-) kontrol grubunda saptanırken en az kilo artışı ise Grup I'de tespit edilmiştir. Patolojik değerlendirmeler neticesinde de *P. major* ekstresinin (özellikle %1'lik konsantrasyonda) EAT oluşumunu gözle görülür bir şekilde engellediği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Plantago major* L., Ehrlich, antitümöral, Balb/C.

ABSTRACT

ANTITUMORAL EFFECT OF *Plantago major* L. EXTRACT AGAINST EHRlich ASCITES CARCINOMA IN BALB/C MICE

AFACAN, Işık Didem

M. Sc. In Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

January 2006, 108 pages

Only ten percent of the approximately 250 000 species of higher plants have been chemically and pharmacologically investigated and found effective anticancer agents, which derived from plants such as vinblastin and irinotecan have been provided in current days. Despite much reports about uses of *Plantago major* L. as anticancer agents in vitro there is no report in vivo. In this study, we have investigated antitumor activity of *P. major* extract in Ehrlich ascites carcinoma bearing Balb/C mice in vivo. 30 male Balb/C mice were divided into 5 groups: three of them were treatment groups and two of them were control groups (n:6). Treatment groups and negative control group were injected with EAC (1×10^6) intraperitoneally to develop ascites tumor. Treatment with three doses of *P. major* (%1, %2 and %3 extracts, 0.1 ml/day/mouse) p.o. were given for ten consecutive days. The control groups were treated with SF (0.1 ml/day/mouse). Body weight changings of all animals were recorded. On the eleventh day, all animals were sacrificed and their tissues were stained with haematoxilen-eosin for pathological studies. Body weight of group I, group II, group III and group negative control were increased because of tumor boarden. The maximal weight increase was recorded in group (-) control and the minimal weight increase was recorded in group I. Also pathologically studies showed that *P. major* extract (especially %1 concentration) has inhibition effect against EAC.

Key words: *Plantago major* L., Ehrlich, Antitumor, Balb/C.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı yürütürken beni hiçbir zaman yalnız bırakmayıp daima destek olan, beni cesaretlendirip bana güç veren, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili hocam ve danışmanım Doç. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a;

Çalışmamın patolojik değerlendirmelerini gerçekleştiren ve yorumlarıyla ufkumu açan Prof. Dr. İbrahim SARI hocama;

Tezimin laboratuvar çalışmaları aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı tekniker kadrosuna;

Bölüm içerisinde tecrübelerinden ve yardımlarından faydalandığım sevgili arkadaşım Araş. Gör. Türkan AYTEKİN'e ;

Bana destek ve yardımcı olan arkadaşım Araş. Gör. İbrahim Halil KILIÇ'a;

Tezin yazımı sırasında gayret gösteren ve yardım eden arkadaşlarım Araş.Gör. Fatih YAYLA'ya ve Seden BEHZETOĞLU'na;

Laboratuvar denemelerimi beraber yürüttüğüm Biyoloji Bölümü öğrencilerinden Meral BARTIN, Medine Münevver UMA ve Aygül OĞUZ'a;

Tezimin hazırlanışı sırasında geçirdiğim zor günlerimde elimi hiç bırakmayan ve geri kalan yaşamımda da desteğini benden esirgemeyecek olan nişanlım Dr. Alper KARAGÖZ'e;

Hayatım boyunca bana en büyük desteği ve sevgiyi veren, sınırsız hoşgörü ve fedakarlık gösteren biricik anneme;

Teşekkürü bir borç bilirim...

Işık Didem AFACAN

İÇİNDEKİLER	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Deneysel Kanser Modellerinin Tarihçesi.....	3
1.2.Ehrlich Ascites Tümörü (EAT).....	4
1.3. Kemoterapi.....	9
1.4. <i>Plantago major L.</i> (Büyük Sınırlı Otu).....	12
1.4.1.Botanik Bilgileri.....	12
1.4.2.Tarihçesi.....	13
1.4.3.Geleneksel Tıpta Kullanımı.....	14
1.4.4.Kimyasal İçerikleri ve Bunların Biyolojik Aktiviteleri.....	19
1.4.4.1.Karbonhidratlar.....	19
1.4.4.2.Lipitler.....	21
1.4.4.3.Alkoloidler.....	23
1.4.4.4.Kafeik Asit Türevleri.....	23
1.4.4.5.Flavonoidler.....	24
1.4.4.6.İridoid Glikozitler.....	26
1.4.4.7.Diğer Terpenoidler.....	27
1.4.4.8.Glukozinolatlar.....	27

1.4.4.9.Vitaminler.....	28
1.4.4.10.Diğer Organik Asitler.....	28
1.4.5.Ekstrelerin Biyolojik Aktiviteleri.....	28
1.4.5.1.Anti-ülserojenik Aktivite.....	29
1.4.5.2.Anti-kanser Aktivite.....	29
1.4.5.3.İmmün-modülatör Aktivite.....	30
1.4.5.4.İn vitroda Anti-infektif Testler.....	30
1.4.5.4.1.Antibiyotik ve Antifungal Aktivite.....	30
1.4.5.4.2.Anti-giardiasik Aktivite.....	32
1.4.5.4.3.Anti-malaryal Aktivite.....	32
1.4.5.4.4.Antiviral Aktivite.....	32
1.4.5.5.Anti-enflamatuar ve Analjezik Aktivite.....	32
1.4.5.6.Antioksidan ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivite.....	33
1.4.5.7.Di-üretik Etki.....	33
1.4.5.8.Hipotansif Etki.....	34
1.4.5.9.Hipoglisemik Etki.....	34
1.4.6.Toksisitesi.....	34
2.LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ.....	37
3.MATERYAL VE METOT.....	51
3.1.Araç ve Gereçler.....	51
3.1.1.Kimyasal Maddeler.....	51
3.1.2.Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	51
3.1.3.Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları.....	51
3.2.Yöntemler.....	53
3.2.1. <i>Mus musculus</i> Balb/C Türü Farelerde Ehrlich Ascites Tümör (EAT) Oluşturulması.....	53

3.2.2. <i>Plantago major L.</i> (Büyük Sinirli Otu) Ekstresinin Eldesi.....	54
3.3. <i>Plantago major L.</i> (Büyük Sinirli Otu) Ekstresinin Sıvı EAT Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması.....	55
3.3.1. Oluşturulan Gruplar ve Yapılan İşlemler.....	55
3.4.Tümör Gelişiminin Takip Edilmesi.....	56
3.5.EAT' nin Patolojik Olarak İncelenmesi.....	56
4.BULGULAR.....	57
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	71
KAYNAKLAR.....	80
EKLER.....	108

ŞEKİLLER LİSTESİ	Sayfa
Şekil 3.1. Deney Hayvanları Laboratuvarı.....	51
Şekil 3.2. Deney Hayvanlarının Yetiştirildiği Tel Kafesler.....	51
Şekil 4.1. Değişik Dozlarda <i>Plantago major</i> L. Ekstresinin Etkisi ile <i>Mus musculus</i> Balb/C Türü Farelerde Gözlenen Ağırlık Değişimleri Grafiği.....	56
Şekil 4.2. (-) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Böbrek Dokusu Kesiti.....	58
Şekil 4.3. (-) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Karaciğer Dokusu Kesiti.....	59
Şekil 4.4. (-) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Mide Dokusu Kesiti.....	59
Şekil 4.5. (-) Kontrol Grubuna Ait Nekroze Olmuş İnce Barsak Doku Kesiti.....	60
Şekil 4.6. (-) Kontrol Grubuna Ait Tümör Hücreleri Tarafından İnvaze Olmuş Kalın Barsak Doku Kesiti.....	60
Şekil 4.7. (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip İnce Barsak Doku Kesiti.....	61
Şekil 4.8. (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Kalın Barsak Doku Kesiti.....	62
Şekil 4.9. (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Karaciğer Doku Kesiti.....	62
Şekil 4.10. (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Mide Doku Kesiti..	63
Şekil 4.11. (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Böbrek Doku Kesiti.....	63
Şekil 4.12. I. Gruba Ait Tamamen Nekroze Olmuş İnce Barsak Dokusu.....	64

Şekil 4.13. I. Gruba Ait Sadece Serozaya Tutunmuş Tümör Hücrelerinin Görüldüğü Kalın Barsak Doku Kesiti.....	65
Şekil 4.14. II. Gruba Ait Serozaya Tutunmuş Tümör Hücrelerinin Gözlendiği Kalın Barsak Doku Kesiti.....	66
Şekil 4.15. II. Gruba Ait Normal Histolojiye Sahip Kalın Barsak Doku Kesiti.....	66
Şekil 4.16. II. Gruba Ait Tüm Tabakalarına Tümör Hücrelerinin İnvaze Olduğu İnce Barsak Dokusu.....	67
Şekil 4.17. III. Gruba Ait Tüm Tabakalarına Tümör Hücrelerinin İnvazyonunun Gözlendiği İnce Barsak Doku Kesiti.....	68
Şekil 4.18. III. Gruba Ait Histolojisi Normal Gözlenen Kalın Barsak Doku Kesiti..	68
Şekil 4.19. III. Gruba Ait Seroza Tabakasına Tümör Hücrelerinin İnvaze Olduğu Kalın Barsak Doku Kesiti.....	69

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. <i>Plantago major</i> L.un Geleneksel Tıptaki Kullanımları.....	14
Tablo 1.2. <i>Plantago major</i> L.daki Polisakkaritler.....	20
Tablo 1.3. <i>Plantago major</i> L. Tohumlarından İzole Edilen Yağ Asitleri.....	21
Tablo 1.4. <i>Plantago major</i> L. Yapraklarındaki Yağ Asitleri.....	22
Tablo 1.5. <i>Plantago major</i> L.da Bulunan Flavonoidler.....	24
Tablo 1.6. <i>Plantago major</i> L.dan İzole Edilen İridoid Glikozitler.....	26
Tablo 1.7. Agar Plaklarında Bulunan Bakteri Kültürleri Üzerine Ekstre İçeren Disklerin İnhibisyon Zonları Ölçülerek Belirlenen <i>Plantago major</i> L. Su Ekstresi, Metanolik Ekstresi (MeOH), %50 ve %70'lik Etanolik Ekstresinin (EtOH) Antibiyotik Aktivitesi.....	30
Tablo 1.8. <i>Plantago major</i> L. Yaprak Ekstrelerinin Toksisitesi.....	35
Tablo 2.1. Bitkilerden Elde Edilen Bazı Antitümöral Maddeler.....	37
Tablo 3.1. Deney Hayvanlarına Verilen Yemin İçeriği.....	52
Tablo 3.2. Deney Hayvanlarına Verilen Yemdeki Besin Maddeleri ve Bunların Enerji Düzeyleri.....	53
Tablo 4.1. Değişik Dozlarda <i>Plantago major</i> L. Ekstresinin Etkisi ile <i>Mus musculus</i> Balb/C Türü Farelerde Gözlenen Ağırlık Değişimleri.....	57
Tablo 5.1. Önemli Ascites Türleri.....	71

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ADV	Adeno Virus
BCC	Bazal Cell Carcinoma
BCG	Bacillus Calmette Guerin
CC ₅₀	%50 Cytotoxic Concentration
CCl ₄	Carbon Tetra Clorür
DLA	Dalton's Lymphoma Ascites
DPPH	Diphenil Picril Hidrazin
EA	Ehrlich Ascites
EACF	Ehrlich Ascites Carcinoma Factor
EAT	Ehrlich Ascites Tümör
GF	Growth Factor
GSH	Redükte Glutatyon
HCl	Hidrojen Clorür
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HSV	Herpes Simplex Virus
IC ₅₀	%50 Inhibition Concentration
i.p.	Intra Peritoneal
KVS	Kardiyo Vasküler Sistem
LC ₅₀	%50 Lethal Concentration
LD ₅₀	%50 Lethal Dose
LPS	Lipopolisakkarit
20-MC	20-Metil Colantren
MDA	Malodialdehit
ME	Metanolik Ekstre
MRSA	Methicilin Resistant Stafilococcus aureus
NCI	National Cancer Institute
NK	Natural Killer
NO	Azot oksit

PBS	Phosphate buffered saline
PEF	Petrolyum Eter Fraksiyonu
PMII	Pektin monosakkarit
ROS	Reactive Oksigen Species
s.c.	Sub Cutan
SI	Selectivity Index
Tc	Cycle Time
Td	Dublication Time
TNF-alfa	Tümör Nekroz Faktör-alfa
TPA	12-0-Tetradecanoil Phorbol Acetat
TSTA	Tümör Spesifik Transplantasyon Antijenleri

1.GİRİŞ

Kanser üzerine yapılan araştırmalar oldukça uzun bir geçmişe dayanmaktadır. Bu konu ile ilgili çalışmalar, 14. yy'dan bu yana devam etmektedir. Söz konusu zaman zarfında araştırmalar için çeşitli kimyasal bileşiklerden yararlanarak model oluşturmanın yanında onkolojik bakımdan anlamlı ilerleme kaydedebilmek için kemoterapötik açıdan somut sonuçlara ulaşmak gerekmiştir (Manso vd., 1958; Sugiura, 1962).

İşte bu noktada, deneysel çalışmaların mutlak gerekliliği karşımıza çıkar. Bu konuda önemli olabilecek ilk kayıtlar, 1889 yılında yapılan tümör çalışmalarından elde edilmektedir (Sugiura, 1962).

Onkoloji çalışmalarında kullanılan spontan veya indüklenen tümör modelleri için çok sayıda hayvan ve fazla miktarda maddi olanak ile uzun zaman gerektiğinden, bir çok araştırmacı tarafından daha az tercih edilmişlerdir. Bunun yanında transplante edilebilen tümörler, söz konusu dezavantajları avantaja çevirdiği için daha çok kullanılır olmuşlardır. Dolayısıyla özellikle 1950'li yıllardan sonra transplante edilebilen tümörlerin oluşturduğu modellerin tercih edildiği kanser araştırmaları ön plana çıkmaktadır (Zeybek, 1996).

Bu çalışmada kullandığımız tümör modeli EAT (Ehrlich Ascites Tumor, Ehrlich Asit Tümörü), transplante edilebilir bir tümör modelidir ve farelere özgü olmasından (Kaleoğlu ve İşli, 1997; Zeybek, 1996) dolayı EAT'nin çalışılması tümör değerlendirmesi ve izlenmesi açısından kolaylık sağlar. Çalışmamızda, çok agresif bir tümör olan EAT'nin asit formu kullanılmıştır. Klinik durumlarda, asit oluşumu genellikle yumurtalık kanseri gibi ilerlemiş kanserli hastalarda sıklıkla gözlenir (Mycek vd., 1998). İnteraperitoneal dağılım gösteren asit birikimi bir kez oluştuğu zaman prognoz kötüdür. Abdominal parasentez hastanın semptomlarını azaltmak için geliştirilir. Fakat hastanın genel şartlarının zayıflığına bağlı olarak yeterli miktarda anti-tümör ilaç verilemezken tekrar asit birikimi çok

hızlı gelişmektedir (Mycek vd., 1998). Bu yüzden, asit taşıyan kanser hastalarının tedavisi için yeni, efektif uygulamaların geliştirilmesi son derece önemlidir.

Asırlardır, insanlar çok çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi özelliklere sahip doğal ürünleri kullanmaktadırlar. Diğer taraftan, modern tıp ilaç olarak her zaman sentetik ürünler kullanır. Tıbbi özelliklere sahip çok sayıda doğal ürün diyetimizin bir parçası olmuştur ve bunlar kalıtsal adaptif bir mekanizmayla yan etkisiz olarak metabolize edilir. Bu durum allopatik tedavide kullanılan sentetik ilaçlar için geçerli değildir. Bu da alternatif tıp sistemlerinin örneğin Ayurveda (Yaşam bilgisi)'nin kabul edilebilirliğinin artışı için dayanak oluşturur (Gururaj vd., 2002).

Doğal kaynaklar arasından anti-kanser ajanlarının araştırılması tüm dünyada başarılı bir şekilde devam etmektedir. Aktif bileşikler izole edilmiştir ve günümüzde insan tümörlerinin tedavisi için kullanılmaktadır. Etno-farmakolojik bilgiler, potansiyel olarak sitotoksik aktiviteli bitkilerin araştırılması için yardımcı kaynak olarak bildirilmektedir (Galvez vd., 2003).

Eski ve yeni literatürler incelendiğinde kansere karşı kullanılan bitkilerin 1400'ün üzerinde olduğu görülür. Son senelerde Cruciferae, Compositae, Euphorbiaceae, Cucurbitaceae, Leguminosae, Rutaceae, Apocynaceae, Rubiaceae bitkilerinin karsinogenezisi etkilediğini bildiren raporların sayısı her geçen gün biraz daha artmaktadır. Bu bitkilerin tüketilmesi ile insanlarda çeşitli kanser türlerinin insidansının azalması arasında ilişki olduğu iddiaları ve bu konuda yapılan bilimsel çalışmalar bulunmaktadır (Graham, 1983; Graham vd., 1978). Başka bir çalışmada bitkilerden izole edilen bazı maddelerin hayvanlarda karsinogenezisi inhibe ettiği bildirilmiştir (Bojal vd., 1982; Stoewsand vd., 1978; Wattenberg ve Loub, 1978).

Mikroorganizmaların, bitkilerin ve deniz hayvanları (deniz yıldızı, mercan v.b.)'nin anti-tümör aktiviteleri 1950'lerin sonlarında Birleşik Devletler Ulusal Kansere Enstitüsü (United States National Cancer Institute NCI)'nin teşvik ve fonları ile bir çalışma programına alınmıştır. Program başlamasından günümüze kadar 114.000 bitkiden elde edilen 40.000 bitki ekstresinin anti-kanserojen etkileri araştırılmıştır (National Research Council, 1982). Bu çalışmalarda *Plantago spp.*'nin değişik türlerinin kansere karşı ilaç olarak kullanıldığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı bu bitkinin halk arasında kullanımını daha iyi anlamaktır. Bu nedenle çalışmada Gaziantep Yöresinden toplanan *P. major*'un infüzyon kademelerinden sonra elde edilen ham ekstresinin anti-tümöral etkilerini *Mus musculus* Balb/c türü farelerde oluşturulan sıvı Ehrlich Ascites Tümörü (EAT) üzerinde in vivo da testlemek amaçlanmıştır.

Yapılan literatür taramalarında *P. major* bitki ekstresinin deneysel bir tümör modeli üzerine in vivoda anti-tümöral etkisinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, çalışmada *Mus-musculus* Balb/C türü farelerde oluşturulan sıvı tümör dokusunda *P. major* ham ekstresinin anti-tümöral etkisi testlenmiştir.

1.1.Deneysel Kanser Modellerinin Tarihçesi

Erken dönem tıbbi kayıtlar incelendiğinde kanserin bir hastalık olarak tanımlanması tıp tarihi kadar eskidir. Kanserin açıklanmaya çalışıldığı yaklaşık 7 adet papirus incelendiğinde, bu konuda bir dereceye kadar bilgi edinilebilmektedir. Kanseri çalışmalarıyla ilgili ilk yazılı kaynaklar olan bu papiruslar ancak 19.yy'da aydınlatılabilmektedir. 7 adet papirus içinde önemli yer tutan Edwin Smith ve George Ebers papiruslarından anlaşıldığı üzere M.Ö. 2500'lü yıllarda ilk kanser araştırmaları başlamış, M.Ö.1600 civarında ise bu araştırmalar yazılı dökümanlar halinde toplanmıştır.

M.Ö.400'lü yıllara gelindiğinde özellikle Yunanistan ve Roma'da Hipokrat ve Galen gibi büyük hekimlerin içinde bulunduğu araştırmacı doktorların kanser tanımlaması ve tedavisinde önemli gelişmeler kaydettikleri göze çarpmakta, kanserin tehlikeli olan veya olmayan formları bulunduğu bahsedilmektedir.

Bu dönemde Hipokrat tümörü bir yengece benzettiği için kansere; Yunancada yengeç anlamına gelen "karkinoma" (karsinoma) adını vermiştir. Hipokrat'a göre tümörün bir merkezi yapısı (gövdesi) bulunmakta ve bu yapıdan çıkan kolları ile tümör etkisini vücudun çeşitli bölgelerine ulaştırmaktadır.

Hipokrat ve Galen'in hızlı ilerleme gösteren çalışmalarından etkilenen İstanbul, Kahire, İskenderiye ve Atina'daki diğer hekimler araştırmalarını kanser üzerine

yoğunlaştırmışlardır. M.S.1000’li yılların başlarında Türk alimi İbn-i Sina’nın kısaca “Kanun” diye adlandırılan ve 12.yy’da Latinceye de çevrilen eserinde tedavi ve farmakolojik açıdan kansere yaklaşımı göze çarpmaktadır.

16.yy’a gelindiğinde beyaz arsenik ve arap zamlından oluşan bir merhem ile kanserli derinin tedavisinde uygulamalar yapılmıştır (Marsden’ in merhemi). 20.yy’ın erken dönemlerinden itibaren “günümüzde dahil” canlı organizmaların yapı, fonksiyon ve kimyasının aydınlatılmasıyla birlikte kimyasal karsinojenler, hücre kültürü, tanı teknikleri, kemoterapi ve genetik manipülasyonlar gibi alanlarda kanser araştırmaları hız kazanmıştır.

Diğer yandan 19.yy’la beraber, özellikle kimyasal karsinojenlerin kullanıldığı, ilk kayıtlı, deneysel kanser çalışmaları göze çarpmaktadır. 1874-1878 yılları arasında Edinburgh Üniversitesi bünyesinde tavşanlarda meme kanseriyle ilgili araştırmalar yapılmış, 1910-1915 yıllarında ise; Jensen, Murray, Ehrlich, Little gibi bilim adamlarının geliştirdiği deneysel kanser modelleri kullanılmaya başlanmıştır (spontan veya indüklenmiş tümör modelleri).

Ehrlich, 1907 yılında, albino bir farenin meme bezinden çıkartılan Ehrlich Mouse Carcinoma’dan türetilen EAT modelini ortaya koymuştur. 1911 yılında Tokyo Üniversitesi’nden tavuklarda viral kaynaklı kanser modeli uygulamaları olmuştur. 1915 yılında yine Tokyo Üniversitesi’nde tavşan derisine ilk defa kimyasal karsinojen (kömür katranı) uygulanmıştır. 1910-1915 yıllarında Jensen’in “Jensen Rat Sarcoma” yı deneysel kanser çalışmalarına kazandırdığı görülmektedir. 1950’li yıllardan sonra Wilm’in, transplante edilebilen sıçan renal tümörünü kullanmaya başlamasıyla transplante tümör modelleri ön plana çıkmıştır. Bununla birlikte ortaya konan değişik tümör modellerinin gelişimi ile birlikte çeşitli anti-karsinojen ajanların denenmesinde hızlı bir artış gözlenmiştir. 1940’lı yılların ortalarında Gilman’ın lenfomaya karşı alkilenmiş ajanlarla yaptığı sistemik kanser tedavisi ilk önemli ilaç etkilerini ortaya koymuştur (Zeybek, 2003).

1.2. Ehrlich Asit Tümörü (EAT)

Günümüzde de tedavide başarılı olmak ve kansere karşı yeni yöntemler geliştirmek üzere yapılan çalışmalar deney hayvanlarında oluşturulan bu deneysel hayvan tümörleri üzerinde sürdürülmektedir. Elde edilışinden bu yana pek çok araştırmaya konu olan deneysel hayvan tümörlerinden biri olan EAT, ilk olarak dişi bir farede spontan meme adenokarsinoması olarak ortaya çıkmış (Aktaş, 1996; Taşkın, 2002) ve Ehrlich & Apolant (1905) tarafından tümör parçaları fareden fareye deri altına transplante edilerek deneysel tümör haline getirilmiştir. 1932 yılında Loewenthal ve Jahn (1932) bu tümörün farelerin peritonunda sıvı halde büyüyen formunu elde etmeyi başarmışlar ve peritonda hücrelerin yanı sıra asit sıvısı da olduğu için tümör Ehrlich Ascites Tümörü adını almıştır. Lettre vd. (1972) yaptığı çalışmalarla 2.Dünya savaşı sırasında hem bu tümörün devamını sağlamış hem de tümörü kalitatif ve kantitatif bakımdan kanser araştırmaları için uygun bir test sistemi haline getirmiştir. 1948 yılından sonra ise EAT hücreleri araştırmalarda kullanılmak üzere hızla dünyadaki araştırma enstitülerine yayılmıştır.

EAT diferansiye olmamış bir tümördür. Transplante edilebilme oranı yüksek olan, regresyon göstermeyen, hızlı proliferasyona, kısa yaşama süresine sahip, %100 ölüme götüren ve immünolojik açıdan tümör spesifik transplantasyon antijenleri (TSTA)' ne sahip olmayan (Kaleoğlu ve İşli, 1977) bu tümörün orjinali hiperdiploiddir. 1953'te Haucseka (Lettre vd., 1972), kromozom sayısı tetraploid olan bir alt soy elde etmiştir. Sonraki yıllarda bazı çalışmalar diploid , hipertetraploid (Lennartz vd., 1968), hipotetraploid (Burns, 1968) altsoyları ile de yürütölmüştür. Lettre ve Kramer (1972) kolşisine (colchicine) dirençli tümör ırkını ve Sholz (1972) ise, glikojen (+) ve glikojen Ø Ehrlich tümör ırklarını elde etmeyi başarmışlardır (Aktaş, 1972).

Tümör hücrelerinin herhangi bir vücut boşluğuna enjekte edilmesinden sonra orada çoğalmaları ile neoplastik hücreler ihtiva eden bir effüzyon meydana gelmesi, asit terimi ile ifade edilir. Genellikle tümörler tekrarlayan pasajlarla virölanslarını arttıırırlar. Bu gibi tümörlerin büyüme hızı artar. Differansiasyon gitgide kaybolur, gelişmeyi kontrol eden başlıca mekanizmalardan sıyrılır, heterotransplantabilite kabiliyeti kazanır ve nihayet asit formuna dönüşebilirler (Kaleoğlu ve İşli, 1977).

Asit, gri-beyaz bazen hafif kanlı görünümde koyu bir sıvıdır ve 0.1 cc'de yaklaşık 10 milyon neoplastik hücre içerir (Kaleoğlu ve İşli, 1977; Aktaş, 1996).

EAT'nin sıvı formunun elde edilmesiyle birlikte, çalışmalarda yoğun bir şekilde sıvı tümör kullanılmıştır. Kullanımdaki yoğunluğun nedeni, sıvı formun serbest tümör hücrelerini içeren süspansiyon şeklinde olması ve bunun sonucunda istenilen sayıdaki hücrenin bir başka hayvana transplante edilebilmesidir (Klein, 1951). Dolayısıyla alışılmış basit sayma yöntemleriyle hem transplante edilen tümör hücre sayısı, hem de oluşan tümör büyüklüğünü kolay bir şekilde saptanabilmesi mümkün olmaktadır (Ekinci, 2000).

EAT amaca göre asit form veya solid form olarak kullanılmaktadır. Eğer tümör hücresi içeren asit sıvısı deney hayvanına i.p. yolla enjekte edilirse asit form, s.c. yolla enjekte edilirse solid form elde edilir (Okay, 1998; Zeybek, 1996).

EAT hücreleri, farelerin peritoneal boşluğunda süspansiyon halinde çoğalırlar ve in vitroda yapay yüzeylere yapışmazlar (Aktaş, 1996; Lazebnik vd., 1991; Song vd., 1993; Vinuela vd., 1991). Pasajdan 4-6 gün sonra asit oluşmaya başladığı anlaşılabilir ve toplam 5-12 cc asit teşekkül eder (Gümüştan, 2002).

EAT hücreleri, farenin peritoneal boşluğuna inokulasyonu takiben 2 fazda çoğalırlar. Bu fazlar, hücre sayısının eksponansiyel olarak arttığı **çoğalma fazı** ve bunu izleyen, hücre sayısının hemen hemen sabit kaldığı **plato fazıdır** (Siems, 1993; Grune vd., 1992; Lazebnik vd., 1991; Skog vd., 1990; Tannock, 1961). Yapılan araştırmalarda, 3×10^6 EAT hücresinin intraperitoneal enjeksiyonundan sonra hücre sayısının 9. güne kadar eksponansiyel olarak arttığı, 9. ve 10. günden itibaren de plato fazına girildiği görülmüştür (Bulan, 1990; Altun, 1996; Öner, 1985). Başka bir araştırmada ise EAT hücrelerinin çoğalma hızları 4 faz olarak karakterize edilmiştir. Burada 10^7 tümör hücresinin intraperitoneal enjeksiyonunu takiben 4 ile 5 gün süren logaritmik faz, 5. ile 13. günlerde hücre sayısında önemli bir artışın gözlemlenmediği plato fazının takip ettiği ve 13. ile 15. günlerde hücre sayısındaki geçici artışı, 15. ile 18. günlerde 2.plato fazının izlediği bulunmuştur (Sızıkla vd., 1981).

EAT hücrelerinin in vivo ortamda çoğalma periyotları boyunca zamana bağlı olarak hücre kinetiklerinde meydana gelen değişiklikler incelenmiş ve 2 günlük EAT

hücrelerinde T_d (hücrelerin 2 kat olma zamanı): 12 saat, GF (çoğalan fraksiyon): %91-100, T_c (hücre siklus zamanı): 12 saat, o (hücre kaybı): 0 olan değerlerin, 6. günde T_d : 60 saat, GF: %90-100, T_c : 42-44 saat, o: 25-30 ve 10 günlük tümörlerde T_d : 6 gün, GF:%60-100, T_c : 83 saat, o: 20-40 olduğunu göstermektedir (Bulan, 1990; Kın, 1971; Tannock, 1969). Tümör hücrelerinin transplantasyonlarından sonraki 2. ve 13. günlerde ^3H -timidin kullanılarak yapılan diğer bir araştırmada, 13. günde hücre siklus süresinin arttığı ve DNA sentez fazının da oldukça uzadığı gösterilmiştir (Peel ve Fletcher, 1969).

EAT hücrelerinin çoğalma fazından plato fazına geçişleri boyunca, hücre kinetiklerinde meydana gelen değişikliklerin dışında, yapısal bozulmalar (Schmidt vd., 1991; Schwendel vd., 1994; Senger vd., 1983; Siems vd., 1989; Siems vd., 1993; Subiza vd., 1989; Segura vd., 2001; Latha vd., 2000; Justo vd., 2000; Justo vd., 2003; Aktaş, 1996), mitokondri sayısında azalma (Schmidt vd., 1991; Schwendel vd., 1994; Siems vd., 1989; Siems vd., 1993), DNA ve RNA biyosentezinde azalma (Bulan, 1990; Schmidt vd.1991; Siems vd., 1993; Aktaş, 1996; Siems vd., 1989), intrasellüler pürin, pirimidin nükleotidleri, nükleosidleri ve bazlarının kaybı (Grune vd., 1992; Schmidt vd., 1991; Schwendel vd., 1994; Siems vd., 1989; Siems vd., 1993), ATP içeriği ve ATP dönüşümünde azalma (Siems vd., 1989; Siems vd., 1993; Skog vd., 1989), protein sentezinde azalma (Burns, 1969; Haris vd., 1970; Schmidt vd., 1991; Siems vd., 1993; Skog vd., 1989), timidin kinaz aktivitesindeki azalmadan dolayı timidin konsantrasyonunda artış (Skog vd., 1990; Szıkla vd., 1981; Aktaş, 1996), glutatyon (GSH) içeriğinde azalma (Estrela vd., 1992; Marquez vd., 1989; Lobo vd., 2000) ve trigliseritlerin, kolesterol esterlerinin ve serbest yağ asitlerinin artması (Balint ve Holczinger, 1984; Aktaş, 1996) gibi morfolojik ve metabolik değişiklikler meydana gelir (Aktaş, 1996).

Bu değişikliklerin yanı sıra immün cevapta da derin değişiklikler meydana gelir. Bu görüşte, NK ve T hücre cevaplarında dramatik bir inhibisyonun baskılanmış makrofajlar ve down-regülatör hüromal faktörlerde bir artışa paralel olarak meydana geldiği rapor edilmiştir (Parhar ve Lala, 1988; Subiza vd., 1989; Fecchio vd., 1990a; Fecchio vd., 1990b; Segura vd., 1997; Segura vd., 2000; Justo vd., 2000; Ruiz De Morales vd., 1999).

EAT hücrelerinin sayıları çoğalma periyodu boyunca hızlı hücre bölünmeleri ile artar ve periton boşluğunu doldururlar. Tümör hücrelerindeki bu çoğalmaya paralel olarak asit sıvısının birikimi de meydana gelir. Belli bir zaman sonra da konak hayvan hem tümör hacminin oluşturduğu basınç hem de tümörün organizmaya verdiği hasar sonucunda ölür (Öner, 1985; Altun, 1996; Aktaş, 1996). Çoğalma fazından plato fazına geçişleri boyunca EAT hücrelerinin canlılık oranlarında önemli bir azalma ortaya çıkmamaktadır. (Schmidt vd., 1991).

Asit sıvısının birikiminde, tümör hücrelerinin asit sıvısının birikimini ilerleten bir vaskular permeabilite faktörünü salgılaması olayı, tümör asit sıvılarında incelenmiş ve sonuç olarak; bu hayvanların periton boşluğunda bulunan damarların kontrol hayvanlardaki aynı damarlara oranlara önemli derecede fazla permeabilite gösterdiği bulunmuştur. Artan bu permeabilitenin, normal plazma veya serumda bulunmayan etkili bir permeabilite faktörünün asit sıvısındaki mevcudiyetinden dolayı olduğu tespit edilmiştir (Senger vd., 1983).

Ehrlich asit sıvısında tümör çoğalması boyunca timidin kinaz aktivitesinin azalmasına paralel olarak timidin miktarının da yükseldiği görülmüştür (Skog vd., 1990; Aktaş, 1996). Tümör çoğalmasının erken evresinde peritoneal sıvıların zayıf şekilde yada hiç immün baskılayıcı aktivite göstermemelerine rağmen, terminal safhadaki Ehrlich asit sıvılarının immün baskılayıcı oldukları da tespit edilmiştir (Gabrilovac vd., 1982; Parhar ve Lala, 1988; Subiza vd., 1989; Fecchio vd., 1990a; Fecchio vd., 1990b; Segura vd., 1997; Segura vd., 2000; Justo vd., 2000; Justo vd., 2003; Ruiz De Morales vd., 1999).

EAT hücre çoğalmasının plato fazında azalması ile asit sıvısı birikimindeki artış arasında bir korelasyon bulunmaktadır. Lazebnik ve ark. (1991), yaptıkları araştırmada, in vivo şartlarda tümör çoğalmasının plato fazında hücrelerin geriye dönüşümlü olarak geç G₂ fazında biriktiklerini ve bu dönemde asit sıvısı uzaklaştırıldığı takdirde senkron olarak mitoz fazını geçirip G₁ fazına girdiklerini tespit etmiştir. Yine aynı araştırmacılar in vitro şartlarda ortamın asit sıvısı içermesi durumunda, hücrelerin G₁ ve S fazlarını geçirdikten sonra G₂ fazında biriktiklerini de gözlemlemişlerdir. Bu bulgulara dayalı olarak, Ehrlich asit sıvısının hücre siklusunu G₂ fazında durduran önemli bir faktör veya faktörler içerdiğini ileri sürmüşlerdir (Lazebnik vd., 1991). Bu konudaki diğer bir çalışmada da EAT hücrelerinin G₂ ve

geç S fazlarında birikimlerine paralel olarak, aynı zamanda hücre siklusundaki uzamanın da eşlik ettiği gösterilmiştir (Benndorf vd., 1988).

Ehrlich asit tümörü taşıyan farelerde, çoğalmanın plato fazında asit sıvısının çoğunun boşaltılması ile tümörün çoğalmasında yeni bir artış meydana gelir (Burns, 1968; Burns, 1969; Bichel, 1971). Bu artış eğer aynı tümörü plato fazında taşıyan bir diğer fareden alınan hücreler asit sıvısı enjekte edilirse yeniden inhibe edilir (Bichel, 1970; Bichel, 1971; Burns ve Solofy, 1970). Bu bulgular da asit sıvısında çoğalmayı inhibe eden bir faktörün mevcut olduğunu göstermektedir (Bichel, 1971). EAT hücrelerinin inkübasyon şartları altında protein sentezini geriye dönüşümlü olarak inhibe eden bir faktörü ortama saldıklarını ve bu faktörün çoğalan EAT hücrelerini çoğalmayan hücreler haline transforme ettiği gösterilmiştir (Werner vd., 1973).

Altun (1996), EAT'li farelerde tümör yaşına bağlı olarak kemik iliği hücrelerinde çoğalma hızının inhibe olduğunu tespit etmiştir. Bu bulgu, Ehrlich asit sıvısındaki inhibitör faktörlerin konak hayvanın normal hücre popülasyonlarına da etkili olduğunu göstermektedir.

Bu araştırmaların dışında, inhibitör etkinin gözlemlenmediği, hatta büyümeyi teşvik edici nitelikte sonuçların elde edildiği çalışmalar da mevcuttur. Altun, EAT'li farelerde karaciğer rejenerasyonunu da incelemiş ve tümöral büyümenin rejeneratif büyümeyi stimüle edici bir etkiye sahip olduğunu tespit etmiştir (1996). Gabrilovac vd. (1982), EAT transplantasyonundan sonra 4. ve 6. günlerde elde edilen peritoneal sıvıların, in vitro ortamda Ehrlich karsinoma hücrelerinin çoğalmaları üzerinde etki göstermemesine karşılık, tümör transplantasyonundan sonraki 15. günde toplanan peritoneal sıvıların hücrelerde DNA sentezini arttırdığını göstermişlerdir (Gabrilovac vd., 1982). Burns vd. (1983), tümörün hücreler sıvısından izole edilen Ehrlich ascites karsinoma faktörü (EACF) etkisi ile, yetişkin farenin karaciğer ve diğer dokularındaki DNA sentezinin başlamasını araştırmışlar ve in vivo ortamda bu faktörün mitojenik etkisi sonucunda, yetişkin farenin karaciğer, submandibular bez, eksorbital göz yaşı bezi ve dil epitelinde DNA sentezinin başladığını tespit etmişlerdir (Yeh vd., 1985).

Donenko vd. (1992), Ehrlich karsinomu ve teratoma T-36'nın in vivo çoğalmasına Ehrlich tümör hücreleri diyalizatının ve asit sıvısının etkilerini araştırmışlar ve sonuç

olarak, hem asit sıvısının hem de diyalizatin tümör hücrelerini in vivo ortamda koruyabileceğini göstermişlerdir. Kontrol ile karşılaştırıldığı zaman, EAT diyalizati ve asit sıvısı tümör çoğalma oranını %195 ve %153'e yükseltmektedir.

1.3.Kemoterapi

Modern tıpta kanser tedavisi için birkaç metot oluşturulmuştur; kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi gibi. Kemoterapi günümüzde kanser tedavisinin en etkili metodu olarak düşünülmektedir (Ajith ve Janardhanan, 2003).

Her yıl 1 milyon yeni kanser hastası teşhis edilmektedir. Bu hastaların %25'inden azı tek başına cerrahi ve/veya radyoterapi ile tedavi edilebilmektedir. Geriye kalan hastaların büyük bir bölümüne hastalığın herhangi bir evresinde kemoterapi uygulanmaktadır. Kanser hastalarının küçük bir bölümünde (yaklaşık %10) kanserin tipi nedeniyle kemoterapi ile tam şifa veya uzun bir iyileşme dönemi (remisyon) sağlanabilmektedir. Kanser hastalarının ortalama 5 yıl yaşama şansları yaklaşık %40 kadardır ve kardiyovasküler sisteme ait hastalıklardan sonra kanser, ölümlerin en sık ikinci nedenidir (Mycek vd., 1998).

Kanserin ilaçla tedavisi anlamına gelen kemoterapinin ana ilkesi tümör hücrelerine, hastanın normal hücrelerinden daha fazla etki ederek normal hücrelere zarar vermeden veya minimum düzeyde etki ederek tümör hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya onları yok etmektir (Kayaalp, 1996). Dolayısıyla amaç, kullanılan ilaçlarla tümörün büyümesini engelleyecek letal toksik etki sağlamaktır. Genellikle hücre replikasyonunu sağlayan metabolik olayların engellenmesi amaçlanır. İdeal olarak bu ilaçların sadece malign hücreleri etkilemesi amaçlanır. Ancak kullanımda olan ilaçlar kanser hücrelerine spesifik etki gösterememekte ve proliferen olan tüm normal ve anormal hücreleri etkilemektedirler. Bu nedenle kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçların hepsinin toksik ve tedavi edici etkilerinin doz-yanıt eğrileri diktir.

Kemoterapinin amacı tam şifa sağlanmasıdır. Bunun anlamı uzun dönemde hastalığın tekrarlanmamasıdır. Şifa için tüm neoplastik hücrelerin vücuttan temizlenmesi gerekir. Eğer şifa sağlanamazsa tedavi palyatiftir yani hastalığa bağlı

şikayetlerin giderilmesine ve yaşamı tehdit eden toksisiteden korunmasına yöneliktir. Bu sayede hastanın mümkün olduğu kadar normale yakın yaşaması sağlanmaya çalışılır.

Bu yüzden, eğer tümör yayılmış ve cerrahi olarak tedavi edilmesi mümkün değilse kemoterapi uygulanır. Aynı zamanda, mikro-metastazların önlenmesi için cerrahi veya radyasyon tedavisinden sonra uygulanmaktadır.

Kemoterapiye en duyarlı olan tümörler iyi diferansiye olmamış ve hızlı büyüyen tümörlerdir (Mycek vd., 1998). Bununla birlikte, birçok kanser kemoterapötikleri hastanın normal hücrelerini ciddi şekilde etkiler (Mascarenhas, 1994).

Örneğin; günümüzde kanser tedavisinde sitostatikler intraselüler hedeflere odaklanmıştır ve etki mekanizmaları doğal hücre hasarına dayanmaktadır. Fakat bu ilaçlara bazı tümör türlerinin dirençli olması ve yine bu ilaçların normal hücrelerde de ciddi hasarlar oluşturması (hepatotoksik, nefrotoksik, kardiyotoksik v.b. etkiler) kanser tedavisinde yeni seçenekler arama zorunluluğu getirmiştir (Solni vd., 1998).

Bilim adamları kanserle ilgili çalışmalarda ideal ilacı, yani normal hücreye en az düzeyde etki yapan ilacı bulmak odağında yoğunlaşmışlardır (Gümüşhan, 2002). Bu yüzden, günümüzde doğal ürünlerin kullanımının kanser kontrolü ve yok edilme programında çok değerli olduğu düşünülmektedir (Suffnes ve Pezzuto, 1991).

Kanser kemoterapisi henüz yarım yüzyıllık bir klinik geçmişe sahip olmasına rağmen, bu amaçla kullanılmak üzere binlerce kimyasal madde incelenmiştir. Ancak çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılan bu kimyasal maddelerden bugün sadece çok azı kanser kemoterapisinde ilaç olarak kullanılmaktadır (Öner, 1985).

Kemoterapinin başlıca eksiklerinden biri immün sistemin baskılanmasıdır (Devasagayam ve Sainis, 2002). Geniş çeşitlilikteki bileşikler, immün cevapları etkinleştirme kabiliyetindedirler. BCG gibi bakteriyel orijinli klasik adjuvantların kanser tedavisinde terapötik etki oluşturduğu gösterilmiştir. Fakat etki, yüksek dozda BCG verildiğinde tümör gelişiminin artışı, hepatik granuloma indüksiyonu, karaciğer disfonksiyonu gibi hastada çok sayıda istenmeyen yan etkiye bağlı olarak sınırlıdır (Ribi vd., 1981). Levamizol ve interferonlar gibi kimyasal ajanlar 1970'lerin ortalarında ve 1980'lerin başlarında kanser tedavisi için geniş kullanım

alanı bulmuştur (Gomi vd., 1983). İmmünolojik etkilere rağmen yardımcı olarak levamizol (Stevenson vd., 1991), sadece levamizol tedavisi yada interferonlu kombinasyonu (Kirkwood ve Ernstaff, 1990) hiçbir önemli klinik yarar göstermemiştir. Sitokinler hem hümorale hem de hücre aracılı immün cevapların etkili fonksiyonları ve indüksiyonunda kritik rol oynarlar. Kanser hastalarının tedavisinde IL-2, IL-4, IL-7'nin immün modölatör özelliği, kullanımlarını arttırır. Fakat KVS toksisitesi, pulmoner toksisite, hematolojik toksisite gibi tek ve farklı yan etkileri kullanımlarını sınırlar (Ognibene vd., 1988; Rosenberg vd., 1994). Uzun periyotta yan etkisiz yada az yan etkili kullanılabilen immün modölatörler kanser terapisinde takdir edilir kullanımdadırlar.

Bazı medikal bitkilerin farklı yollarla immüniteyi tetiklediği gösterilmiştir. Spesifik hücresele ve hümorale immün cevabı arttırdıkları gösterilmiştir (Duke, 1985). Düşük toksisite ve yüksek medikal etkilerinden dolayı bitkisel ilaçları kabul etmek için büyüyen bir akım vardır. Bitkilerin medikal öneme sahip oldukları bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Bhakuni vd., 1969; Rastogi ve Dhawan, 1982; Quasney vd., 2001).

Tıpta bitki preparasyonlarının kullanımı, halk arasında çok eski zamanlardan beri kullanımına dayanan büyük tarihsel bir mirasa sahiptir (Suffiness ve Douros, 1982). Doğa, daktinomisin ve doksorubisin gibi mikroorganizmalardan ya da vinblastin, irinotekan, topotekan, vinkristin, taksanlar gibi bitkilerden türevlenen son zamanlarda geniş kullanım alanına sahip olan birçok etkili anti-kanser ajanı sağlar.

Flora çalışmaları gelişmesine rağmen yaklaşık 250.000 yüksek yapılı bitki türünden sadece %10'unun kimyasal ve farmakolojik olarak araştırıldığı sanılmaktadır. Doğal kaynaklardan yeni toksik ajanların araştırılması dünyadaki bilim adamları arasında işbirliğiyle devam etmektedir (Cragg ve Newmann, 1999).

Spesifik anti-tümöral ajanlar olarak bitkilerin kullanımları hakkındaki raporlar, kanserin tam olarak kompleks bir bulgular ve semptomlar serisi içeren bir hastalık olmasından dolayı az bulunur. Buna dayanarak, deri hastalıkları, inflamasyon, infeksiyöz, parazitik ve viral hastalıklar gibi etno-farmakolojik kullanımlar, kanser yada bir kanser semptomuna bağlı meydana gelen hastalığı yansıttıkları için

antitümöral bitkilerin kullanım alanı olarak sayılabilirler (Cordell vd., 1991; Popoca vd., 1998).

Bitkiler farklı hastalıklara karşı ilaç olarak Arjantin doğal populasyonları arasında uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Günümüzde hala kırsal populasyonlar tarafından da kullanılmaktadırlar (Rufa vd., 2002). Önemli farmakolojik özelliklere sahip olan *P. major*, ise Küba populasyonları tarafından sıklıkla kullanılmaktadır (Roig, 1974).

1.4.Plantago major L. (Büyük Sinirli Otu)

1.4.1. Botanik Bilgileri

Plantago major L. (*Plantago major* ssp. *major* L.), Plantaginaceae familyasına ait çok yıllık bir bitkidir. Halk arasındaki adı; büyük sinirli ottur (Rufa vd., 2002). Boyu 15 cm civarındadır fakat gelişim habitatlarına bağlı olarak çok farklı olabilir. Yapraklar rozet şeklinde ve ovattan eliptikale doğru paralel damarlıdır (Andary vd., 1982; Anderson, 1986a; Anderson, 1986b; Angelov vd., 1980; Aspinall, 1973). Yapraklar tüysüz ve tam yada düzensiz dentat marjinalidir. Çiçekler, kollara ayrılmayan uzun başaklar üzerinde küçük ve kahverengi-yeşil renklidirler.

P. major rüzgarla tozlaşır ve her bitki 20,000 in üzerinde tohum üretir (Faegri, 1970; Tutin vd.,1976). Tohumlar ovat şekilli, oldukça küçük (0,4-0,8 x 0,8-1,5 mm) ve hafif acı tatlıdır. Tohum endospermi yağ ve protein dolu hücre lümeni olan oldukça kalın selülözik duvarlara sahiptir. Bu, tohumun büyük kısmını oluşturur ve embriyoyu tamamen sarar. Tohumlar kapsüller içine yerleşmişlerdir (her kapsülde 8-16 tane) ve nemli havalarda tohum kabuğunda bulunan polisakkaritlerin şişmesine bağlı olarak yapışkan bir hal alırlar (Qadry , 1963). Bu durumda tohumlar insan ve hayvanlara yapışabilirler ve böylece yayılırlar.

1.4.2. Tarihçesi

Polen üzerine yapılan araştırmalar *P. major*'un yaklaşık 4000 yıl önce taş devrinde ilk ilkel kùltür tarlalarına introduksiyonuna paralel olarak İskandinav ùlkeleriyle tanıştığını göstermektedir (Jonsson, 1983). *P. major*, insanlar tarafından Avrupa'dan tüm dünyaya yayılmıştır. Hintçe adı "white man's footprint" (beyaz adamın ayak izi) tir, çünkü Avrupalıların geçtiği her yerde bulunmuşlardır. Ayak tabanı anlamında olan Latince "planta" dan gelen *Plantago* cins adına adapte edilmiştir.

P. major pek çok insanın sadece yabancı bir ot olarak bildiği bir bitkidir. Fakat *P. major* aynı zamanda asırlardır bilinen eski bir tıbbi bitkidir. İskandinavya'da bu bitki genellikle yara iyileştirici özelliklerinden dolayı tanınır. *P. major*'un Norveççe ve İsveççe yaygın ismi "iyileştirici yapraklar" anlamında "grobland"dır.

Yara iyileşmesinde *P. major*'un geleneksel kullanımı oldukça eskidir. I.yy'da Grek fizikçi Dioscorides tarafından "De materia medica" da tanımlanmıştır. Yapraklar köpek ısırıklarının tedavisinde verilmiştir (Roca-Garcia, 1972). "Vólsuga saga" dan Vikinglerin yara iyileştirmek için *P. major* yapraklarını kullandıkları bilinir (Nielsen, 1969). IX.yy'da islami yazar Ebu Said El Ařmai, Kitab ùl Nebat Ve'l Secer'de ve Ali İbni Rabbban El Tebari ise Firdevs El Hikmet'te *P. major*'dan bahsetmiştir. X.yy'da İbn Sina, Kanun Fit Tıb ve Kitab üç Şifa'da bu bitkiyi tanımlamıştır. *P. major* XII-XIII.yy'larda İslami yazar İbn El Baytar tarafından da Kitab ùl Camiti Eduiyetil Müfredete'de Basit İlaçlar olarak tanımlanmıştır (Fleurentin ve ark.,1983). Danimarka'dan Henrik Harpestreng († 1244) "Liber Harbarum" da *P. major*'un yara iyileştirici olduğunu yazmıştır. Ballı karışımı yaraların üzerine sürölmek için önerilmiştir. Yađda kaynatılmış halinin içilmesi ve taze olarak yenmesinin insan vücudundaki herhangi bir organı iyileştirebildiği bildirilmiştir (Nielsen, 1969).

Shakespeare zamanında da geniş bir kullanıma sahiptir ve Shahepeare'in oyunu "Romeo ve Juliet" de geçmektedir, 1592-1609 Perde I, Sahne II:

Romeo: Your plantain leaf is excellent for that. (*Plantago* yaprağı bunun için mükemmeldir).

Benvoleo: For what, I pray thee? (ne için, öyleyse sana dua ederim).

Romeo: For your broken shin. (incinmiş incik kemiğin için).

P. major, Simon Paulli tarafından “Flora Danica” da çok etkili yara iyileştirici bir ilaç olarak tanımlanmıştır. O zamanda küçük çocukların bile bildiği kullanımı çok yaygın olan bir tıbbi bitkidir. Damarların yapraklardan çekilip çıkarıldığı ve kalan kısmın sabah ve akşam yara üzerine uygulandığı bildirilmiştir. Yüzeysel yaraların iyileştirilmesi için bitkinin meyvelerini uygulamak yeterli bulunmuştur (Brøndegaard, 1987).

1.4.3. Geleneksel Tıpta Kullanımı

P. major, soğuk algınlığından viral hepatite kadar değişen çeşitli hastalıkların tedavisinde uzun süredir kullanılan geleneksel, popüler bir ilaçtır (Gupta vd., 1979; Yu ve Xu, 1989; Lin ve Kan, 1990). Son zamanlarda yapılan birçok çalışma, *P. major*' un, deri hastalıkları, enfeksiyon hastalıkları, sindirim sistemi, solunum sistemi, dolaşım sistemi ve üreme organlarından kaynaklanan problemler, tümörlere karşı, ateş ve ağrının azaltılması gibi pek çok hastalığın tedavisinde dünyanın birçok yerinde kullanıldığını gösterir (Tablo 1.1) (Mc Cutcheon vd., 1995).

Tablo 1.1. *Plantago major* L.un Geleneksel Tıptaki Bazı Kullanımları

Geleneksel Kullanımı	Kullanılan Bitki Kısmı ^a	Ülke	Referanslar
Deri			
Abseler	y	Havai, Norveç, Türkiye	Nagata (1971), H0eg (1974), Yesilada vd. (1995)
	y, se	Guatemala, Türkiye	Caceres vd. (1987b), Tabata vd. (1994)
Akne	y, se	Guatemala	Caceres vd. (1987b)
Anti-enflamatuvar	y, m	Madeira Adaları	Rivera ve Obon (1995)
	x	Küba	Ruiz vd. (1996)
	y	Norveç	H0eg (1974)
	b, se	Şile, Panama	Rodriguez vd. (1994), Gupta vd. (1979), Gurib-Fakim vd. (1993)
	y, mr+tb, mr	Hindistan	Jain (1991), Tiwari vd. (1979)

Tablo 1.1 (devamı)

Arı sokmaları ve Urtica sp. temasları	y	Hindistan, İran	Joshi vd. (1982), Zagari (1992)
	y, m	Danimarka, Norveç	Br0ndegaard (1987), H0eg (1974)
	b	Amerika	Hussey (1974)
Çürükler	b	Amerika	Hussey (1974)
	y, mr	İran	Zagari (1992)
	y	Guatemala	Caceres vd. (1987b)
Yanıklar	b, mr	Hindistan	Saklani ve Jain (1989), Rao (1981), Jain (1991)
	y	Guatemala, İran, Norveç	Caceres vd. (1987b), Zagari (1992), H0eg (1974)
	y, m	Danimarka	Holdsworth (1991), Br0ndegaard (1987)
Kutanöz Leişmaniyazis	y, se+y, mr	Brezilya	Franca vd. (1996)
Kesikler	y	Hindistan	Saklani ve Jain (1989)
	y, mr	Tayland	Anderson (1986a)
	y+y, mr	Danimarka, Norveç	Br0ndegaard (1987), H0eg (1974)
Dermatitler	y, se	Guatemala	Caceres vd. (1987b)
	y	Norveç	H0eg (1974)
Yaralar için dezenfektan	y+y, mr+y, se+y, m	Danimarka, Norveç	Br0ndegaard (1987), H0eg (1974)
	y, mr+y, se	Madeira Adaları	Rivera ve Obon (1995)
	y, kar.+ae	İtalya	Leporatti ve Pavesi (1990)
	x	Küba	Ruiz vd. (1996)
	y, mr	Tayland	Anderson (1986b)
	y, se	Şile	Houghton ve Manby (1985)
Yumuşatıcı	y, se+t, se	Avrupa	Roca-Garcia (1972)
	y, m	Madeira Adaları	Rivera ve Obon (1995)
	y, se+k	İran	Zagari (1992)
Ekzantem	y	Danimarka, Guatemala	Br0ndegaard (1987), Caceres vd. (1987b)
Yarada Homeostaz	y, mr	Hindistan, Danimarka, Norveç	Rao ve Jamir (1982), Jain (1991), Br0ndegaard (1987), H0eg (1974)
Zehirli sarmaşık dermatiti	y	Amerika	Duckett (1980)
Kaşıntı	y, mr	İran	Zagari (1992)
İmpetigoda püy formasyonu	y+vazelin	Hindistan	Joshi vd. (1982)
Yatıştırıcı	y, se	İran, Filipinler	Zagari (1992), Lim-Sylianco ve Shier (1985)
	k	İran	Zagari (1992)
	y	Avrupa	Roca-Garcia (1972), H0eg (1974)

Tablo 1.1 (devamı)

Yara iyileştirici	y, se	Kanarya Adaları, Şile, Türkiye	Darias vd. (1986), Houghton ve Manby (1985), Tabata vd. (1994)
		Filipinler	Lim-Sylianco ve Shier (1985)
	b	Amerika	Hussey (1974)
	y, mr	Brezilya, İran	Guillen vd. (1997), Zagari (1992)
	y	Guatemala, Rusya	Caceres vd. (1987b), Mironov vd. (1983)
	y+y, mr+y, se+y, m	Danimarka, Norveç	Br0ndegaard (1987), H0eg (1974)
Solunum Sistemi			
Öksürük kesici	y, se, kar.	İran	Zagari (1992)
	y, m+bal	İran	Zagari (1992)
Astım, bronşit	y, k, se	İran, Bulgaristan	Zagari (1992), Markov (1992)
Soğuk algınlığı	b, se	Panama	Gupta vd. (1979)
	y, se	Norveç	H0eg (1974)
Kulak ağrısı	y, k, se	İran	Zagari (1992)
Ekspektoran	y, se	Brezilya	Guillen vd. (1997)
Pulmonar hastalıklar	y	Havai	Nagata (1971)
	y, se	Norveç, Peru	H0eg (1974), Ramirez vd. (1988)
	t, se	Avrupa	Roca-Garcia (1972)
Boğaz iltihabı	y, se	Brezilya, Şile	Guillen vd. (1997), Houghton ve Manby (1985)
	ç, kar., se	İran	Zagari (1992)
Sindirim Sistemi			
Kolera	y, se	Haiti	Weniger vd. (1986)
Kabızlık	k, se	Kaliforniya, Amerika	Bocek (1984)
	t	Hindistan	Jain (1991)
Diyare	x	Meksika	Ponce- Macotela vd. (1994)
	y, se	Kanarya Adaları	Darias vd. (1986)
	m+y, se	Hindistan	Joshi vd. (1982), Jain ve Puri (1984), Jain (1991)
	y, k, se	İran	Zagari (1992)
Dizanteri	m	Amerika	Eli Lilly (1898)
	t, se	Hindistan	Joshi vd. (1982)
Gastrit ve Kolit	m, ae	Rusya	Mironov vd. (1983)
Dişeti İltihabı	y, se	Filipinler	Lim-Sylianco ve Shier (1985)
Ağız yaraları	y, se	Brezilya	Guillen vd. (1997)
Karın ağrısı	b, se	Arjantin, Amerika	Spring (1989), Bustos vd. (1996)

Tablo 1.1 (devamı)

Mide krampları	y, se	Guatemala	Logan (1973)
Stomatit	y, k, se	İran	Zagari (1992)
	y	Guatemala	Caceres vd. (1987b)
Ülser	y, se	Brezilya, Norveç, Türkiye	H0eg (1974), Yesilada vd. (1993), Guillen vd. (1997)
	b, se	Arjantin, Panama	Gupta vd. (1979), Bustos vd. (1996)
	y, se+m	Rusya	Mironov vd. (1983)
	t, se	Hindistan	Joshi vd. (1982)
Ürogenital Sistem			
Düşük yapıcı	k	Meksika, Amerika	Conway ve Slocumb (1979)
	t	Hindistan	Saklani ve Jain (1989)
Doğum kontrolü	y, se	Afganistan	Hunte vd. (1975)
	b, se	Amerika	Spring (1989)
Menstrual periyot inhibisyonu	y, se	Afganistan	Hunte vd. (1975)
Böbrek taşı	y, se	Yunanistan	Lawrendiadis (1961)
	y, se, kar.	Venezuela	Morton (1975)
Menstrual bozukluklar	m	Amerika	Eli Lilly (1898)
	t	Hindistan	Fazal (1979)
Hamilelik ve doğum	k	Güney Afrika	Veale vd. (1992)
Kanamalı renal hastalıklar	y, m	Panama	Gupta vd. (1979)
	b, se	Amerika	Spring (1989)
İdrar yolları enfeksiyonu	y, k, se	İran	Zagari (1992)
	y	Guatemala	Caceres vd. (1987b)
	t, se	Hindistan	Joshi vd. (1982)
Vajinit	y	Guatemala	Caceres vd. (1987b)
Kalp ve Dolaşım Sistemi			
Kasılma etkisi	y, se+k, kar.	İran	Zagari (1992)
	y, k, se	Hindistan	Kapur (1983)
Rektifikasyon	y, se+k	İran	Zagari (1992)
Diabet	y, se+b, se	Şile	Houghton ve Manby (1985), Rodriguez vd. (1994)
Diüretik	t, se	Vietnam	Doan vd. (1992)
	x	Meksika, Amerika	Conway ve Slocumb (1979)
	b, se	Şile, Tayland	Rodriguez vd. (1994), Gurib-Fakim vd. (1993), Wasuwat (1967)
	y, se	Guatemala	Caceres vd. (1987a)
	se, kar.	Çin	Pan ve Lay (1966)
	m	Amerika	Eli Lilly (1898)
Ödem	y, se	Hindistan	Joshi vd. (1982)
	y	Türkiye	Yesilada vd. (1995)

Tablo 1.1 (devamı)

Hemoroit	y, se	Brezilya, Hindistan	Guillen vd. (1997), Joshi vd. (1982)
	k, se	Danimarka	Br0ndegaard (1987)
Hipertansiyon	se	Birmanya	Kyi vd. (1971)
	y, se	Havai	Nagata (1971)
Duyu Organları			
Göz enfeksiyonları	y	Guatemala	Caceres vd. (1987b)
	se	Panama	Gupta vd. (1979)
Göz problemleri	y, m	Haiti, Madeira Adaları	Weniger vd. (1986), Rivera ve Obon (1995)
	y	Norveç	H0eg (1974)
	y, se	Peru	Ramirez vd. (1988), Seaforth vd. (1998)
Sinir Sistemi			
Analjezik	y, se	Brezilya, Peru	Guillen vd. (1997), Ramirez vd. (1988)
	b, se	Amerika	Spring (1989)
Anti-piretik	k, se	Kaliforniya, Amerika	Bocek (1984)
	b, se	Brezilya	Brandao vd. (1985)
	y, se	Brezilya, Kolombiya	Guillen vd. (1997), Schultes ve Raffauf (1994)
	y, k, se	Hindistan	Joshi vd. (1982), Jain (1991)
Hipnotik	y, se, kar.	Venezuela	Morton (1975)
Nörojenik şok	y, se	Haiti	Weniger vd. (1986)
Fiziksel düşünlük	y	Havai	Nagata (1971)
Stimülant	t, se	Hindistan	Joshi vd. (1982), Jain (1991)
	y	Havai	Nagata (1971)
Diş ağrısı	y, k, se	İran	Zagari (1992)
Antineoplastik			
Tümörler	y, se	Kanarya Adaları	Darias vd. (1986)
	b	Şile, Venezuela	Morton (1975), Bhakuni vd. (1976), Rodriguez vd. (1994)
	y, m	Panama	Gupta vd. (1979)
Parazitik Enfeksiyonlar			
Antihelmintik	b, se	Arjantin	Gurib-Fakim vd. (1993), Bustos vd. (1996)
	y, se	Guatemala	Logan (1973)
Antimalaryal	b	Tanzanya	Weenen vd. (1990)
	se	Meksika	Ponce-Macotela vd. (1994)
İskelet			
Kırıklar	b	Amerika	Spring (1989)

Tablo 1.1 (devamı)

Antidot			
Yılan zehiri	b	Amerika	Hussey (1974)
	y, b, mr, m	Hindistan	Jain ve Puri (1984), Selvanayahgam vd. (1994)

^a ç: çiçek, b: tüm bitki, mr: merhem, m: meyve, se: sulu ekstre, y: yaprak, t: tohum, k: kök, ae: alkolik ekstre, kar.: karışım, x: belirtilmemiş.

1.4.4. Kimyasal İçerikleri ve Bunların Biyolojik Aktiviteleri

1.4.4.1. Karbonhidratlar

Tohumlar disakkarit sükroz ve trisakkarit plantoz (O-a-D-Galp-(1-6)-O-β-D-Fruyf-(2-1)-a-D-Glc p) gibi monosakkaritlerden glikoz, fruktoz, ksiloz ve ramnoz içerir (Ahmed vd., 1965). Plantoz tohumlarda revers karbonhidrat olarak aktivite gösterir (Rohrer, 1972).

Tohum dış kabuğu suyla temas ettiğinde şişen ve yüksek viskoziteli müsülaj oluşturan polisakkaritler içerir. Soğuk suyla tohumdan ekstre edilen polisakkaritler; %61 ksiloz, %13.2 arabinoz ve %24 galaktronik asitten oluşur ve rezidünün sıcak su ekstresi; %78 ksiloz, %13.2 arabinoz, %3 galaktoz ve %6.2 galaktronik asit içerir (Ahmed vd., 1965).

Trisakkarit rafinoz (0,3 mg/g kuru ağırlık) ve tetrasakkarit stakioz (4.5 mg/g kuru ağırlık) yapraklardan izole edilmiştir. Stakioz bitkilerde geçici karbonhidrat deposu olarak aktivite gösterir (Chatterton vd., 1990).

Gorin (1966a,b) galakturonik asit, galaktoz, arabinoz ve ramnoz' a ek olarak küçük miktarlarda glikoz ve ksilozdan oluşan polisakkaritleri izole etmiştir. DEAE-selüloz sütununda ayrıştırmayla bir peptik asit polisakkarit, bir galaktoarabinan ve bir galaktan izole edilmiştir. Bu maddeler bazen “plantaglusit” olarak adlandırılır ve 1,5-3 gr/gün dozunda ülser tedavisinde kullanılır (Gorin vd.,1966). 1mg/kg doz verilerek plantaglusit ratlarda ülserleşme indeksini 20 kat azaltmıştır. Köpeklerde mide sıvısı sekresyonunu arttırmıştır. Plantaglusit izole edilen tavşan ince bağırsağında kontraksiyon aralığını düşürmüş, tonusunu azaltmış ve spazmolitik etki de

yaratmıştır. Formalin ve dekstranla provake edilerek enflamatuar ödemi azaltmaya yardımcı olmuştur. Köpeklere ve ratlara uzun dönem enteral uygulanişından sonra hiçbir toksik etki gözlenmemiştir (Obolentseva ve Khadzhai,1966).

46-48 kDa Mw' li yüksek esterifiyeli pektin polisakkariti PMII 50°C su ekstresinden izole edilmiştir (Samuelsen vd., 1995-1996). PMII yüksek anti-komplementer aktiviteye sahiptir. PMII in vitroda TNF-alfa'nın üretimini artırmak için insan monositlerini de aktive ettiği bulunmuştur (Samuelsen vd., 1995-1996). Son zamanlarda PMII' nin temelde komplemanı klasik yolla aktive ettiği (Michaelsen vd., 1999) ve farelerde *S. pneumoniae* enfeksiyonuna karşı profilaktik aktiviteye sahip olduğu (Hetland vd., 1999) gösterilmiştir. 50°C su ekstresinden bir anti-komplementer olan asidik arabinogalaktan (PMIa) da izole edilmiştir (Samuelsen vd., 1998).

Wagner (1987) tarafından yüksek bitkilerin immüno-stimulanları üzerine yeni bir yazısına göre *P. major* immünolojik olarak aktif polisakkaritleri açısından daha önce araştırılmıştır. İzole edilen polisakkaritler iki in vitro fagositozis modelinde fagositozu %15-50 arttırmış ve 0.1 mg/ml sulu ekstreyle en yüksek oranda stimülasyon sağlamıştır. Araştırılan polisakkaritlerin tipleri belirtilmemiştir. *P. major*' dan izole edilen polisakkaritler (tablo 1.2)' de özetlenmiştir.

Tablo 1.2 *Plantago major* L.deki Polisakkaritler

Polisakkaritler		Referanslar
Yapraklarda		
Plantaglusit	Pektik asit, galaktoarabinan, galaktan	Gorin (1966a), Gorin (1966b)
PM II	Düz ve dallanmış bölgelere sahip pektin	Samuelsen vd. (1996)
PM Ia	Arabinogalaktan tip II	Samuelsen vd. (1998)
Glukomannan		Samuelsen vd. (1995)
Tohumlarda		
Nişasta		Samuelsen vd. (1999a)
Asidik heteroksilanlar		Samuelsen vd. (1999a)

1.4.4.2. Lipidler

Hem serbest hem de bağlı trigliseritlerin hidrolizinden gelen yağ asitleri tohumlardan izole edilmiştir ve (tablo 1.3)'te listelenmiştir. Ahmed vd. (1968)'ne göre yağ asitlerinin %64.8'i ansaturedir.

Tablo 1.3. *Plantago major* L. Tohumlarından İzole Edilen Yağ Asitleri

Yağ Asidi		Total Yağ Asidi Yüzdesi	Referanslar
Miristik asit	14:0		Swiatek vd. (1980)
Palmitik asit	16:0		Ahmed vd. (1968), Swiatek vd. (1980)
Stearik asit	18:0		Ahmed vd. (1968), Swiatek vd. (1980)
Oleik asit	18:1	37.4	Ahmed vd. (1968), Swiatek vd. (1980)
Linoleik asit	18:2	25.3	Ahmed vd. (1968), Swiatek vd. (1980)
Linolenik asit	18:3	0.9	Ahmed vd. (1968), Swiatek vd. (1980)
Araşidik asit	20:0		Ahmed vd. (1968)
Behenik asit	22:0		Ahmed vd. (1968)
Lignoserik asit	24:0		Pailer ve Haschke-Hofmeister (1969)
9-hidroksi- <i>cis</i> -11-oktadekanoik asit	18:1	1.5	Ahmad vd. (1980)

Araşidik asit yalnızca *P. major* tohumlarından izole edilmiştir, diğer *Plantago* türlerinde rastlanmamıştır. Bulunan yağ asitlerinin çoğu genellikle bitki tohumlarında bulunmuştur. Nadir bir hidroksiyolefinik yağ asidi olan risinoleik asidin izomeri 9-hidroksi-*cis*-11-oktadekanoik asit Ahmed vd. (1980) tarafından izole edilmiştir. Bu tohum yağının küçük bir bileşenidir (%1.5).

Taze yapraklardan %0.18 lipit izole edilmiştir ve farklı yağ asitlerinin dağılımı (tablo 1.4)'te listelenmiştir. Ansatüre yağ asitleri 18:3 ω 3 ve 18:2 ω 6 ve ansatüre yağ asidi palmitik asit yapraklarda çok bol miktardadır. Yaprak kütikulasının temel bileşeni serbest triterpen asitleri oleanolik ve ursolik asit ve lineer alkenler C₂₇H₅₆- C₃₃H₅₈'dir (Bakker vd., 1998).

Tablo 1.4. *Plantago major* L. Yapraklarındaki Yağ Asitleri

Yağ Asidi		%
Miristik asit	14:0	1.8
Palmitik asit	16:0	15.9
	16:1 ω 7	1.5
	16:1 ω 9	0.1
	16:2 ω 6	0.4
	16:3 ω 3	1.0
Stearik asit	18:0	2.1
	18:1 ω 9	2.3
	18:2 ω 6	11.2
	18:3 ω 3	33.3
	18:4 ω 3	2.0
Araşidik asit	20:0	1.3
	20:4 ω 6	1.0
	20:5 ω 3	1.3
Behenik asit	22:0	1.3
	22:1 ω 9	3.5
	22:6 ω 3	1.5
	24:0	1.0

1.4.4.3. Alkoloidler

P. major'un alkoloidler bakımından (+) olduğu bulunmuştur (Rojas, 1968; Smolenski vd.,1974). Schneider (1990), bunları “indikain” ve “plantagonin” olarak tanımlamıştır.

1.4.4.4. Kafeik Asit Türevleri

Kafeik asidin etil ve metil esterleri metanolik ekstreden izole edilmiştir (Pailer ve Haschke-Hofmeister, 1969) ve klorojenik asit ve neoklorojenik asit sulu ekstreden izole edilmiştir (Maksyutina, 1971b). Noro vd. (1991) ne göre plantamajozit, *P. major*'deki esas kafeik asit türevidir ve yalnızca az miktarda akteozit (sinonimi verbaskozit) vardır.

Plantamajozit bilinen bazı biyolojik aktivitelere sahiptir. Araşidonik asidin indüklediği fare kulak ödemeine karşı inhibitör etkiye sahiptir, örneğin; anti-enflamatuvar etki (Murai vd., 1995), 5-lipoksigenaz (Raun vd., 1990), 15-

lipoksigenaz (Skari vd., 1999a) ve cAMP-fosfodiesteraz (Raun vd., 1990) üzerine inhibitör etki ve antioksidan etki (Miyase vd., 1991). Skari vd. (1999a) plantamajozidin bir DPPH (Difenilpikrilhidrazin) radikal süpürücüsü olduğunu bulmuşlardır. Plantamajozidin bazı anti-bakteriyel aktivitelere sahip olduğu da bilinir (Raun ve Brimer, 1988).

Akteozit, süperoksit anyon ve DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahiptir ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder (Xiong vd., 1996; Miyase vd., 1991; Zhou ve Zheng 1991; Skari vd., 1999a,b). Plantamajozitten daha az etkili olarak 15-lipoksigenaz'ı inhibe eder (IC₅₀ 117 vs.96 µM) (Skari vd.,1999a). Akteozit enzimin katalitik bölgesiyle direk interaksiyona girerek protein kinaz C'yi inhibe eder (Herbert vd., 1991). Akteozit, aldoz redüktaz (Raun vd., 1990) ve 5-HETE (Kimura vd., 1987) oluşumunu inhibe eder. Anti-bakteriyel (Shoyama vd., 1987), immün süpresan (Sasaki vd., 1989) ve analjezik (Andary vd., 1982) aktiviteye sahiptir. Akteozit, anti-hipertansif etkiye sahiptir, 10mg/kg dozunda ratlarda sistolik, diyastolik ve ortalama arteriyel kan basıncında önemli bir azalma gözlenmiştir (Ahmad vd., 1995). Bunların ve diğer kafeik asit türevlerinin biyolojik aktivitelerini Jimenez ve Riguera (1994) çalışmışlardır.

1.4.4.5.Flavonoidler

P. major'dan bazı flavonoidler izole edilmiştir (Tablo 1.5). Kawashty vd. (1994)'ne göre Mısırdaki yetişen *P. major*'dan izole edilen her bir flavonoidin miktarı şöyle sıralanabilir; Luteolin 7-glikozit > hispidulin 7-glukoronit > luteolin 7-diglikozit > apigenin 7-glikozit ≈ nepetin 7-glikozit > luteolin 6-hidroksi 4-metoksi 7-galaktozid. Skari vd. (1999b), *P. major*'da bulunmayan yapılara sahip birkaç flavanoide ek olarak plantagin ve homoplantagin'ini izole etmişlerdir.

Bazı flavonoidler antioksidandır (Rice-Evans vd., 1996; Bohm vd., 1998). *P. major*'daki bazı bileşik örnekleri; baikalein, hispidulin ve plantagin (Yuting vd., 1990; Yokozawa vd., 1997; Skari vd., 1999b). Çoğu flavanoidin radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu da bilinir (Kandaswami ve Middleton, 1994). Baikalein, hispidulin, skutallarein ve plantagin serbest radikal süpürücüleridir ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (Sanz vd., 1994; Yoshino vd., 1997; Gao vd., 1999;

Skari vd., 1999b). Hem baikalein hem de hispidulin anti-enflamatuvar etkiye sahiptir. Baikalein, karragen'in indüklediği rat pençe ödemeine (Lin ve Shieh, 1996a), 12-lipoksigenaz (You ve ark., 1999) ve LPS'nin indüklediği makrofajlarda NO üretimine karşı inhibitör etki gösterir (Wakabayashi, 1999) oysa hispidulinin, 5-lipoksigenaz inhibitörü olduğu görülür (Moongkarndi vd., 1991). Baikalein ratlarda CCl₄ indüklü karaciğer hasarına karşı hepato-koruyucu etkiye sahiptir (Lin ve Shieh, 1996b). Baikalein karsinom hücrelerinin hücresele ölümünü indükleyebilir (Matsuzaki vd., 1996), insan hepatoma hücrelerinin gelişim inhibisyonuna neden olabilir (Motoo ve Sawabu, 1994) ve rat hepatik stellat hücrelerinde güçlü anti-proliferatif etki göstermiştir (Inoue ve Jackson, 1999). Skutallarein ve baikalein anti-alerjik aktiviteye sahiptir (Kawasaki vd., 1994; Toyoda vd., 1997). Buna ilaveten in vitroda HIV-revers transkriptaz inhibitörüdürler (sırasıyla IC₅₀ 2.5 ve 5.6µM). Plantaginın, luteolin 7-glikozit ve homoplantinın glikozitleri aynı zamanda potansiyel inhibitörlerdir (sırasıyla IC₅₀ 9.8, 40.2 ve 43.3 µM), apigenin 7-glikozit ise HIV-revers transkriptaz üzerine hiçbir inhibitör etkiye sahip değildir (Nishibe vd., 1997).

Tablo 1.5. *Plantago major* L. da Bulunan Flavonoidler

Flavonoidler	Referanslar
Apigenin 7-glikozit	Kawashty vd. (1994)
Hispidulin 7-glukoronit	
Luteolin 7-glikozit	
Luteolin 7-diglikozit	
Luteolin 6-hidroksi-4'-metoksi-7-galaktozit	
Nepetin 7-glikozit	
Baikalein	Maksyutina (1971a)
Hispidulin	Harborne ve Williams (1971)
Homoplantinın	Nishibe vd. (1995), Skari vd. (1999b)
Plantaginın	
Skutallarein	Maksyutina (1971a), Harborne ve Williams (1971).

1.4.4.6. İridoid Glikozitler

İridoid glikozitler, *Plantago* cinsi için faydalı kemotaksonomik belirteçlerdir (Taskova vd., 2002). *P. major*'dan izole edilen iridoid glikozitler (tablo 1.6)'da listelenmiştir. Bunlardan okubin ve katapol, *Plantago* cinsi için sistematik öneme sahiptir (Andrezejewska-Golec ve Swiatek, 1984; Andrezejewska-Golec vd., 1993; Andrezejewska-Golec, 1995; Andrezejewska-Golec, 1997). Bulunan temel iridoid glikozit okubindir fakat bulunuşu sezondan sezona değişir. En yüksek okubin seviyesi (%1.3 kuru yapraklarda) haziran ayında kaydedilmiştir. *P. major*, *P. lanceolata*'dan daha az okubin içerir (Long vd., 1995). Bununla beraber diğer bitkilere kıyasla en yüksek konsantrasyonda okubin içeriği *P. major*'da bulunur. 8,9 çift bağlı nadir iridoid glikozitler; majorosit (Handjieva vd., 1991), 10-hidroksi majorosit ve 10-asetoksi majorosit bitkinin toprak üstü kısımlarından izole edilmiştir (Taskova vd., 1999).

Okubin anti-enflamatuvar özelliklere sahiptir: topikal uygulandığında okubin, 1 mg/kulak dozunda maksimum etkiyle TPA (12-O-tetradekanoilforbol asetat)'nın indüklediği fare kulak ödemi üzerine inhibitör etkiye sahiptir. Bu etki 0.5 mg/kulak dozunda indometasin'inkine çok yakındır (Recio vd., 1994).

Okubin aynı zamanda asetilkolin'in indüklediği rat uterus ve rat vas deferens kontraksiyonuna karşı spazmolitik özelliklere sahiptir (Ortiz de Urbina vd., 1994). Okubin farelerde alfa-amanitin'in indüklediği karaciğer hasarına karşı koruma sağlayarak zehirli amanita mantarı için antidot aktiviteye sahiptir. Mekanizmanın karaciğer RNA sentezinin alfa-amanitin inhibisyonu üzerine okubinin kompetitif etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir (Chang vd., 1984, 1983; Chang ve Yamaura, 1993). Hepatit B virüsüne karşı anti-viral etkisine (Chang, 1997) ek olarak farelerde CCl₄ indüklü karaciğer hasarına karşı karaciğer koruyucu etkiye de sahiptir (Chang vd., 1984, 1983; Lee vd., 2001; Chang, 1998).

Bunlardan başka, okubin anti-bakteriyel, anti-oksidan, anti-stafilokoksik etki ve kollajen sentezi gibi çok sayıda biyolojik aktiviteye sahip bir iridoid glikozittir. Okubin aglikonu okubigenin bakteri ve mayalara karşı anti-mikrobiyal etkiye sahiptir (Davini vd., 1986).

Tablo 1.6. *Plantago major* L. dan İzole Edilen İridoid Glikozitler

İridoid Glikozit	Bitki kısmı	%	Referanslar
Asperulozit	Çiçekler	0.023	Bianco vd. (1984)
Okubin	Yapraklar	0-1.3	Long vd. (1995)
Katapol	Toprak üstü kısımlar	0.003	Murai vd. (1996)
Gardozit	Toprak üstü kısımlar	0.001	Murai vd. (1996)
Genipozitik asit	Toprak üstü kısımlar	0.005	Murai vd. (1996)
Majorozit	Toprak üstü kısımlar	0.004	Handjieva vd. (1991)
10-aktoksimajorozit	Toprak üstü kısımlar	0.03	Taskova vd. (1999)
10-hidroksimajorosit	Toprak üstü kısımlar	0.02	Taskova vd. (1999)
Melittozit	Toprak üstü kısımlar	0.004	Murai vd. (1996)

1.4.4.7. Diğer Terpenoidler

Loliolid terpenoidi yapraklardan izole edilmiştir (Pailer ve Haschke-Hofmeister, 1969). Oleanolik asit, ursolik asit, 18 β -glisirretinik asit triterpenoidleri ve sitosterol yaprak kütikulasından izole edilmiştir (Hiltibran vd., 1953; Ringbom vd., 1998). Ursolik asit in vitroda prostaglandin biyosentezini katalizleyen siklooksigenaz-2 (IC₅₀ 130 μ M) ve siklooksigenaz-1 (IC₅₀ 295 μ M)'i inhibe eder oysa yapısal izomeri oleanolik asit daha az aktiftir. 18 β -glisirretinik asit önemli bir inhibitör etkiye sahip değildir (Ringbom vd., 1998). Anti-enflamatuvar etkilerin mekanizmaları mast hücrelerinden kaynaklanan histamin salınımı inhibisyonu, elastaz inhibisyonu ve komplement aktivasyonunun inhibisyonunu da içerir. Ursolik asit ve oleanolik asit hepato-koruyucu, inhibisyon aktivitesinde yükselme ve anti-hiperlipidemik etkiye de sahiptir (Liu, 1995).

1.4.4.8. Glukozinolatlar

P. major yaprakları yada köklerinden sağlam glukozinolatlar izole edilmiştir (Larsen vd., 1983).

1.4.4.9. Vitaminler

P. major, sebzelerin hasatından önce ilkbahar boyunca gıda deposu olarak kullanılır. Zengin vitamin içeriklerine sahiptir ve bu yüzden vitamin içerikleri üzerine çok çalışma yapılmıştır. İlkbaharın erken dönemlerinde toplanan tohuma kaçmış yaşlı bitkilerin taze yapraklarının 6 mg β -karoten (provitamin A)/100 g ve 19 mg askorbik asit/100 g içerdiği bildirilmiştir (Zennie ve Ogezwalla, 1977). Bir çalışmaya göre *P. major* genç yaprakları 25 mg askorbik asit, 31 mg dehidroaskorbik asit ve 8.5 mg karotenoidler/100 g içerir. Bu yüzden *P. major* C vitamini ve karotenoidlerin iyi bir kaynağı olarak düşünülebilir. Buna ilaveten, bitkinin düşük toksisite göstermesine neden olan okzalik asit, nitrat ve erusik asit az miktarlarda (sırasıyla 67 ± 36 mg/100 g, 101 ± 18 mg/100 g ve %3.45) mevcuttur (Guil vd., 1997).

Haziran ayında toplanan *P. major* filizlerinin 37 mg fillokuinon (K₁ vitamini)/g kuru yaprak materyali içerdiği bulunmuştur. K vitamininin yüksek seviyesi 2,4 diklorofenoksiasetik asit herbisitine karşı yabancı ot direnci kazandırıyor olabilir. *P. major*'daki K vitamini seviyesi diğer bitki türleriyle karşılaştırıldığında orta seviyedir ve bununla beraber herbisitlere karşı az çok dirençlidir (Jansson, 1974).

1.4.4.10. Diğer Organik Asitler

Metanolik ekstrelerden şu organik asitler izole edilmiştir: fumarik asit, sirinjik asit, vanillik asit, p-hidroksi benzoik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, gentisik asit, salisilik asit izleri, benzoik asit ve sinnamik asit (Pailer ve Haschke-Hofmeister, 1969).

1.4.5. *P. major* Ekstrelerinin Biyolojik Aktiviteleri

P. major dünyanın her yerinde geleneksel tıpta farklı amaçlar için kullanılır, bu yüzden araştırmacılar bu bitkinin farklı tipteki biyolojik aktivitelerini çalışmaktadırlar. Yapılan çalışmaların çoğu bitkinin aktif bileşiklerinin doğası üzerine değil ham ekstre üzerinedir. Bu çalışmaların sonuçları aşağıda listelenmiştir ve hem pozitif hem de negatif sonuçlar içermektedir.

1.4.5.1. Anti-ülserojenik Aktivite

P. major Türkiye’de ülser tedavisinde kullanılmaktadır. Günlük kalvaltılardan önce yaprak tozları balla beraber alınmaktadır. Su immersion- stres ülser modeli ratlarda bitki ekstresinin ülseri inhibe etme kabiliyetini göstermek için kullanılmıştır. Test örneği, hayvanların bir stres kafesi içine immobilizasyonundan hemen önce verilmiştir. Ratlar su banyosuna batırılmadan 7 saat önce öldürülmüş ve mideleri deneme için çıkarılmıştır. Metanol ve su ekstresi (1.2 g/kg) kombinasyonu sadece ülser oluşturulan kontrol grubuna oranla ülser oluşumunu %40 inhibe etmiştir. Su ekstresi (1 g/kg) %37 ülser oluşumunu inhibe etmiş ve metanolik ekstre %29 inhibe etmiştir. Bu sonuçlara göre *P. major*’un test edilen en aktif bitkiler arasında olmadığı bulunmuştur (Yesilada vd., 1993).

1.4.5.2. Anti-kanser Aktivite

Şile bitkilerinin anti-kanser aktivitelerinin araştırılmasında *P. major* kök, yaprak ve gövdesinin %50’lik etanolik ekstresinin in vivoda farelerdeki lenfositik lösemiye karşı etkisi bulunmamıştır (Bhakuni vd., 1976). Bir *P. major* preparasyonunun profilaktik onkolojinin görüntüleme sisteminde etkili olduğu rapor edilmiştir. Etki farelerde tümör metastaz modellerinde anti-metastatik aktiviteyi kapsamaktadır. Bu çalışmanın detayları tanımlanmamıştır (Yaremenko, 1990). Başka bir çalışmada, sulu ekstrenin farelerde meme kanseri üzerine profilaktik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Lithander, 1992). Yapraklar %0.9 NaCl içeren pH: 7 olan fosfat buffer’ıyla ekstrakte edilmiş ve C3H dirençli fare soyuna s.c. enjekte edilmiştir. Bu soy farelerin %90’ından fazlasında virüs enfeksiyonuyla indüklenen kanser gelişmiştir. 60 hafta sonra kontrol grubunun %93.3’ü ve uygulama grubu farelerinin %18.2’sinin tümöre sahip olduğu bulunmuştur. Gözlenen etkinin virüse direk etkiden ziyade immün sistemin stimülasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Hiçbir deneysel sonuç bu fikri desteklememiş, sadece deneysel doğrulamaya sahip olmayan bazı gözlemler desteklemiştir. *P. major* ekstresi insan Herpes enfeksiyonları üzerine iyi etkilere sahiptir fakat in vitro testlerde Herpes virusleri üzerine etkisi yoktur. Aynı gözlemler bakteriler için yapılmıştır sadece in vitroda *P. major* ekstrelerinin zayıf anti-bakteriyel aktivitesi bulunmuş, fakat in vivoda enfekte yaralar üzerine etkiye

sahip olduğu bulunmuştur. Enfekte yaralar üzerine antibiyotiklerin etkisi yokken *P. major* ekstresinin topikal tedavisinin enfeksiyonu yok ettiği ve yaraları iyileştirdiği bildirilmiştir.

1.4.5.3. İmmün-modülatör Aktivite

50°C’de 2 saat tuz içinde ekstrakte edilen yapraklar Boyden migrasyon odası metodu kullanılarak nötrofiller üzerine kemotaktik etkiye sahip olduğu fakat nitroz mavisi redüksiyon testiyle nötrofil intraselüler öldürücü aktivitesini arttırmadığı gösterilmiştir (Basaran vd., 1997).

1.4.5.4. İn Vitroda Anti-infektif Test

1.4.5.4.1. Antibiyotik ve Anti-fungal Aktivite

Gastrointestinal hastalıkların tedavisinde yada derideki bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarla mücadelede halk tedavisinde kullanılan bitkilerin görüntüleme çalışmaları *P. major*’u da kapsamaktadır. Bitki ekstresi diskleri agar petrilerinde kültüre edilmiş bakterilere uygulanmış ve bir süre sonra inhibisyon zonları ölçülmüştür. Su ekstreleri, metanolik ekstreler ve %50 ve %70’lik etanolik ekstreler denenmiştir.

Metanolik ekstreler *Salmonella typhimurium*’a karşı çok aktif (tablo 1.7) ve MRSA ve *Mycobacterium phlei*’ye karşı daha zayıftı. Metanolik ekstreler *Fusarium tricuietum*, *Microsporum gypseum* mantarlarına karşı aktiftir (8-10 mm inhibisyon zonu) ve *Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae*’nin tam olmayan inhibisyonu gözlenmiştir. Anti-fungal aktivite antimikotikum nistatinden daha zayıftır (15-20 mm inhibisyon zonu).

%50’lik etanolik ekstre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Shigella dysenteriae* ve *Escherichia coli*’ye karşı aktif bulunmuştur. Bunlar hem gram (-) hem de gram (+) bakterileri kapsamaktadır. %70’lik etanolik ekstre *Shigella flexneri*’ye karşı en etkili aktiviteye ve *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*,

Escherichia 'crim' ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı daha zayıf aktiviteye sahiptir.

Antibiyotik aktiviteleri kullanılan kontrol gruplarından daha zayıf olarak belirlenmiştir. Gentamisin inkübasyonu ve bir *P. major* metanolik ekstre inkübasyonu *S. typhimurium* üzerine sırasıyla >25 mm ve 10-15 mm inhibisyon zonu verdiği bildirilmiştir. Sonuçta bazı gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antibiyotik aktiviteye buna ilaveten zayıf anti-mikotik aktiviteye sahip olan *P. major*'daki oldukça düşük moleküler ağırlıklı polar ve non-polar maddelerin aracı olduğu görülür.

Tablo 1.7. Agar Plaklarında Bulunan Bakteri Kültürleri Üzerine Ekstre İçeren Disklerin İnhibisyon Zonları Ölçülerek Belirlenen *Plantago major* L.un Su Ekstresi, Metanolik Ekstresi (MeOH), %50 ve %70'lik Etanolik Ekstresinin (EtOH) Antibiyotik Aktivitesi ^a

Bakteriler	H ₂ O	MeOH	%50 EtOH	%70 EtOH	Referanslar ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	-		++	+	1, 2,3
MRSA		+			5
<i>S. aureus</i> , metisilin duyarlı		-			5
<i>Streptococcus pyogenes</i>			-		3
<i>Bacillus subtilis</i>		-	++	-	2, 3, 5
<i>Shigella sonnei</i>				+	2
<i>S. flexneri</i>			- / +	++	2, 3, 4
<i>S. dysenteriae</i>			++		4
<i>Salmonella typhi</i>			- / +		3, 4
<i>S. enteritidis</i>			-		4
<i>S. typhimurium</i>		++			5
<i>Serratia marcescens</i>		-			5
<i>Enterobacter aerogenes</i>		-			5
<i>Escherichia coli</i>	-	-	++	+	1, 2, 3, 4, 5
<i>Escherichia "crim "</i>				+	2
<i>Klebsiella pneumonia</i>		-			5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		-	-		3, 5
<i>Proteus vulgaris</i>			-		3
<i>Mycobacterium phlei</i>		+			5
<i>M. smegmatis</i>				+	2

^a Belirlenen etkiler: -; inhibisyon zonu <6-8 mm, +; 6-10 mm inhibisyon zonu, ++; 10-15 mm inhibisyon zonu.

^b Referanslar: 1; Gaw ve Wang (1949). 2; Moskalenko (1986). 3; Caceres vd. (1987b). 4; Caceres vd. (1990). 5; McCutcheon vd. (1992).

1.4.5.4.2. Anti-giardiasik Aktivite

P. major Meksika'da diyare ve/veya parazitlere karşı kullanılır. Bir tuz solüsyonu içinde bitkinin kaynatılmış ekstresi yapılmıştır ve *Giardia duodenalis* trofozoitleri ile inkübe edilmiştir. Mortalite, pozitif kontrol tinidazol seviyesinde (79 ± 1.9), 76 ± 1.2 bulunmuştur (Ponce-Macotella vd., 1994).

1.4.5.4.3. Anti-malaryal Aktivite

P. major Tanzanya'da malarya tedavisinde kullanılır. Multi-ilaç direnci olan *Plasmodium falciparum* K₁ suşuna karşı in vitro aktivitesi malarya parazitleri içindeki (³H)-hipoksantin birleşmesinin inhibisyonu için ekstraların kabiliyeti ölçülerek yapılmıştır. Tüm bitkinin diklorometan ekstresinin bazı etkilere sahip olduğu bulunmuştur (IC₅₀ 10-49 mg/ml), petrolyum eter ekstresi ve metanolik ekstrenin de küçük etkilere sahip olduğu bulunmuştur (sırasıyla IC₅₀ 100-499 mg/ml ve >499 mg/ml).

1.4.5.4.4. Anti-viral Aktivite

Suganda vd. (1983)'nin in vitro çalışmasında tüm bitki etanolik ekstresinin Herpes ve Polio virüslere karşı hiçbir anti-viral aktivitesi bulunmamıştır. Bitkinin metanolik ekstresi de in vitroda Bovin Coronavirüs, Bovin Herpes tip I, Bovin Parainfluenza Virüs tip III, Bovin Rotavirüs, Bovin Solunum Sinsitiyal Virüsü, Vaccinia Virüs yada Vesiküler Stomatit Virüsüne karşı da etkili bulunmamıştır (McCutcheon vd., 1995). *P. major*'un içeriğinde bulunan ferulik asit ve kafeik asidin in vitroda HSV-2'ye karşı aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Bourne vd., 1999).

1.4.5.5. Anti-enflamatuvar ve Analjezik Aktivite

Oral olarak verilmiş kuru *P. major* yapraklarının sıvı ekstresi (72°C, 30 dk.) fare ve ratlarda prostaglandin sentezine bağlı anti-enflamatuvar ve analjezik aktivite göstermiştir. Ratlardaki anti-enflamatuvar etki karragen ile indüklenen pençe

ödeminin inhibisyonu ile gösterilmiştir. Ekstre, bir anti-histamin aktivitesinden çok siklooksijenaz sentez inhibisyonu mekanizması gösteren dekstran tarafından oluşturulan ödemeyi etkilememiştir. Ekstre, karragen'in intra-plövrall enjeksiyonu ile indüklenen lökosit mobilizasyonu ve eksudat oluşumunu da inhibe etmiştir ve bu etki non-steroid anti-enflamatuvar bileşiklerin etkisi olarak bilinir. Kronik enflamasyona karşı etki, ekstrenin oral verilişinden sonra hava kesesi içindeki eksudat inhibisyonu olarak ölçülmüştür. Ekstrenin farelere p.o. uygulaması asetik asidin indüklediği kıvrınma hissini (örneğin; non-steroid anti-enflamatuvar etki) inhibe etmiştir fakat kuyruk kesme testinde (tail flick test) etki göstermemiştir (örneğin; opiyot olmayan analjezik aktivite benzeri) (Guillen vd., 1997).

1.4.5.6. Antioksidan ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivite

P. major bitki poşet çayı ve *P. major* yapraklarından yapılan infüzyonların varlığında ilk oluşmuş 2,2'-azinobiyos (3-etilbenzotiazolinesulfonik asit) radikal katyon absorpsiyonunun beyazlamasıyla antioksidan kapasite belirlenmiştir. *P. major* çay infüzyonu siyah çayla kıyaslandığında küçük miktarlarda serbest radikal süpürücü içerir. Düşük reaktiviteye sahip antioksidanlar oldukça yüksek bir $t_{1/2}$ olarak ölçülmüştür. Yeşil yaprakların antioksidan kapasitesi, önemli aktivite kaybına yol açan işlemleri kapsayan *P. major*'unkinden daha yüksek bulunmuştur (Campos ve Lissi, 1995).

1.4.5.7. Diüretik Etki

Guatemala'da yapraklar diüretik bir ajan olarak kullanılmaktadır. 67 bitkinin yer aldığı bir çalışmada kuru *P. major* yapraklarının %102'lük kaynatılmış ekstresi (dekoksasyon) ratlarda denenmiştir. Dekoksasyon 1 g/kg dozunda nazogastrik kateterle verilmiştir. Orta derecede diüretik aktiviteye sahiptir; 6 saat sonra idrar %108 ± 44 artmıştır. Hidroklorotiazidin idrarı %286 ± 38 arttırdığı gösterilmiştir (Caceres vd., 1987a).

Vietnam'da oral olarak alınan *P. major* tohum ekstrelerinin di-üretik etkiye sahip olduğu söylenir. Muhtemel di-üretik etki çift kör geçiş modelinde plasebo

kontrolünde sağlıklı gönüllü insanlarda denenmiştir. Bu çalışmada üriner ürün ve sodyum boşaltımındaki artış yanında önemli di-üretik etki gözlenmemiştir (Doan vd., 1992).

1.4.5.8. Hipotansif Etki

Burma'da, *P. major* infüzyonu kan basıncında bir düşüş oluşturmak için oral olarak alınır. Yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler içeren *P. major* su ekstresinden lipofilik bileşikler çıkarılmış ve 15, 20 ve 25 mg/kg dozlarında anesteziye edilmiş köpeklere enjekte edilmiştir. Doz cevap etkisi çok sürekli bulunmamış ve cevapta çok geniş bireysel farklılıklar saptanmıştır. Bu çalışma istatiksiz ve doğal bir ön çalışmadır (Kyi vd., 1971).

Başka bir çalışmada, normotansif ratlara i.v. olarak *P. major* ekstresi verilmiştir. Dondurulan ekstreler fizyolojik solüsyonda çözülmüştür. Enjeksiyondan 0.2 dk. sonra maksimum etki gözlenmiş ve bu etki 0.5 dk. sürmüştür. Arteryal kan basıncındaki azalma önemli bulunmamıştır (Schmeda-Hirschmann vd., 1992).

1.4.5.9. Hipoglisemik Aktivite

Rodriguez vd. (1994), normoglisemik ratlarda hiçbir önemli etki bulunmadan %70'lik etanolik ekstrenin hipoglisemik etkisini çalışmışlardır. Ekstre 500 mg/kg dozunda oral olarak verilmiştir. Testin zemini Şile'deki Mapuche Hindistanlıların diyabet tedavisinde *P. major* infüzyonunu kullanmalarındadır (Houghton ve Manby, 1985).

1.4.6. Toksisitesi

P. major ekstresinin prokaryotlar üzerine genotoksisitesinin biraz çelişkili olduğu (tablo 1.8)'de gösterilmiştir. Ames testinde (*S. typhimurium* mikrozomal aktivasyon denemesi) su ekstresi, test suşları TA1537 ve TA98'in eski haline dönmesine neden olmuştur. Bu direk çerçeve kayması mutajenlerinin varlığını gösterir (Lim-Sylianço

ve Shier, 1985). Fakat *P. major* tuz ekstresi TA98 veTA100 suşlarının bulunduğu Ames testinde hiç cevap oluşturmamıştır (Basaran vd., 1996).

Alkol ekstresi *Aspergillus nidulans* diploid suşu D-30'a toksisite göstermemiş aksine koloni gelişim stimülasyonu gözlenmiştir. Somatik ayrılma denemesinde kullanılan *A. nidulans* suşu konodiyal renk için 4 resesif mutajen taşıyıcı ve boyanan sektörler somatik ayrılmaya yol açan genotoksik kanıtların bir indikatörü olarak kullanılır. Negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında her koloninin boyanan kısımlarının dağılımında önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Böylece, bitki ekstresinin genotoksik etkisinin bulunmadığı rapor edilmiştir (Ruiz vd., 1996).

%70'lik etanolik ekstresinin larvalara toksik olduğu bulunmuştur (Schmeda-Hirschmann vd., 1992) fakat *P. major* oral ve i.p. uygulandığında ratlarda düşük toksisiteye sahiptir (Angelov vd., 1980; Rufa vd., 2002). İnsan lenfositlerinin tuz ekstresiyle muamelesinden sonra DNA iplik kırığı hasarı belirtilmiştir. Negatif kontrolle karşılaştırıldığında alkalın COMET testinde artan bir aktiviteye sahiptir (Basaran vd., 1996).

Tablo 1.8. *Plantago major* L. Yaprak Ekstrelerinin Toksikitesi

Ekstre	Test	Toksisite	Açıklamalar	Referanslar ^a
Su ekstresi	Ames testi, TA 1537 ve TA 98 suşları	+	Direk çerçeve kayması mutajenleri	1
Tuz ekstresi	Ames testi, TA 100 ve TA 98 suşları	-		2
Alkolik ekstre	<i>Aspergillus nidulans</i> D-30 plak inkorporasyon denemesi	-	Koloni gelişim stimülasyonu	3
Alkolik ekstre	<i>Aspergillus nidulans</i> somatik segregasyon denemesi	-		3
%70'lik etanolik ekstre	Tuzlu su larvası (<i>Artemia salina</i>)	+	LC ₅₀ =7 µg/ml	4
Belirtilmemiş	Ratlarda i.p. yada oral uygulama	-	LD ₅₀ =1000 mg/kg i.p., LD ₅₀ >4000 mg/kg oral	5
Tuz ekstresi	İnsan lenfositlerinde COMET testi	+	DNA zincir kırığı	2

^a Referanslar: 1; Lim-Sylianco ve Shier (1985). 2; Basaran vd. (1996). 3; Ruiz vd. (1996). 4; Schmeda-Hirschmann vd. (1992). 5; Angelov vd. (1980).

2.LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Kanser tedavisinde kullanılan bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen aktif maddeler konusu Dewick tarafından derlenmiştir (Tablo 3.1) (Morita, 1978). Çinliler antitümör ilaç olarak 2000 yıl önce *Podophyllum hexandrum* bitkisinin kökünden elde edilen reçineyi kullanmışlardır. Bu bitkinin Amerika'da yetişen cinsi olan *Podophyllum peltatum*'daki antitümör aktivitesi bu bitkide bulunan glikozitlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. *P. hexandrum* ve *P. peltatum*'da bulunan aktif maddeler Podofillotoksin ve Peltatindir. Bu iki etkin maddenin ilaç için kullanımları uygun olmamakla beraber podofillotoksin'in yarı sentetik türevleri olan etopozit ve tenipozit klinik çalışmalarda iyi sonuçlar vermiştir. Etopozit küçük hücreli akciğer ve testikular kanserde, tenipozit ise pediatrik kanser tedavisinde kullanılmıştır (Dewick, 1989).

Yüksek bitki materyalleri içerisinde kanser tedavisinde en başarılı olanlardan bir tanesi de *Catharonthus roeus*'un alkaloidleridir. Bu bitkiden elde edilen dimerik indol alkaloidler içinde lösemi tedavisinde kullanılan vinkalekoblastin (vinblastin) ve lökokristin (vinkristin)'dir. Vinblastin genellikle lenf bezi, karaciğer ve dalağı etkileyen Hodgkin's hastalığında kullanılmaktadır. Vinkristin ise klinik bakımdan vinblastinden daha etkilidir ve özel olarak çocuk lösemi tedavisinde kullanılması önerilmiştir (Dewick, 1989).

Piper longum meyvelerinin alkolik ekstresi ve onun bileşeni piperin'in immün modülatör ve antitümör aktivitesi çalışılmıştır. Meyvelerin alkolik ekstresi 250µg/ml konsantrasyonunda EAT hücreleri için %100 toksik bulunmuştur. *Piper longum* alkolik ekstresi ve piperin uygulanmış EAT'li farelerin yaşam sürelerinin önemli derecede arttığı bulunmuştur. Alkolik ekstrakt uygulanmış hayvanlar yaşam sürelerinde %30'luk bir artışla 20 gün yaşarken kontrol hayvanları tümör indüksiyonundan sonra sadece 15 gün yaşamışlardır. Piperin uygulaması tümörlü hayvanların yaşam sürelerinde %58 artış göstererek daha etkili bulunmuştur. Balb/C

farelerde *Piper longum* ekstraktı uygulanişı total WBC sayısını 142,8'e, piperin uygulanişı ise total WBC sayısını %138,9 arttırmıştır (Sunila ve Kuttan, 2004).

Amerikalı araştırmacılar *Phyllanthus amarus* aköz ekstresinin uygulamasının 20-metil-kolantren (20-MC)'nin indüklediği sarkoma gelişimine karşı potansiyel anti-kanserojenik aktivite gösterdiğini ve tümör bulunduran hayvanların yaşam sürelerini uzattığını göstermişlerdir. Ekstre uygulamasının (p.o) EAT ve DLA (Dalton's lymphoma ascites) bulunduran farelerin yaşam sürelerini 16.70'den 19.66'ya (%29.45) uzattığı ve transplante edilen solid tümör hacmini küçülttüğü bulunmuştur. *P. amarus*'un antitümör ve antikanser etkisi DNA tamiri ve hücre siklusu regülatörlerinin inhibisyonu gibi karsinojen metabolik aktivasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Rajeshkumar vd., 2002).

Tablo 2.1. Bitkilerden Elde Edilen Bazı Anti-tümöral Maddeler

Sınıfı	Madde	Bitkinin Adı	Familyası
Monoterpen	Allomandrin	<i>Allamandra cathartica</i>	Apocynaceae
	4-1 Pomeanol	<i>Ipamoea batatas</i>	Convolvulaceae
	Piestumud	<i>Penstemon deutus</i>	Scrophulariaceae
Seskiterpen	Bekarin	<i>Baccharis megapotomica</i>	Compositae
	Elephantorpin	<i>Elephantopus elatus</i>	Compositae
	Helenalin	<i>Helenium autumnale</i>	Compositae
	Liatrin	<i>Liatris chapmanii</i>	Compositae
	Filentozit	<i>Phyllanthus acuminatus</i>	Euphorbiaceae
	Fillantostatin I	<i>P. acuminatus</i>	Euphorbiaceae
Diterpen	Venotepin	<i>Vernonia hymenolepsis</i>	Compositae
	Ginidin	<i>Gnidia lapprantha</i>	Thymeleaceae
	Latrofan	<i>Latropha gassypifolia</i>	Euphorbiaceae
	Mezerein	<i>Daphne mezereum</i>	Thymeleaceae
	Taksodion	<i>Taxodium distichum</i>	Taxodiaceae
	Taksol	<i>Taxus brevifolia</i>	Taxaceae
	Tripdiolid	<i>Tripterygium wilfordis</i>	Celastraceae
	Triptolid	<i>T. wilfordii</i>	Celastraceae

Tablo 2.1 (devam)

Kuasinoid/ Simarobolid	Brusentin	<i>Brucea antidysenterica</i>	Simaroubaceae
	Glaserobinon	<i>Simarouba glauca</i>	Simaroubaceae
	Holekanton	<i>Holacantha emoryi</i>	Simaroubaceae
Titerpenoid, Steroid vd.			
Cucurbitosin	Cucurbitasin E	<i>Marah oreganus</i>	Cucurbitaceae
Saponin	Acer saponin P	<i>Acer regundo</i>	Aceraceae
Kardenolid	Strophanthidin	<i>Prguetina nigrescens</i>	Asclepiadaceae
Bufadienolid	Helebrigenin asetat	<i>Bersama abyssinica</i>	Melianthaceae
Vitanolid	Vitaferin A	<i>Acnistus arborencens</i>	Salanaceae
Lignan	Peltatin	<i>Podophyllum peltatum</i>	Podopyllaceae
	Podofillotoksin	<i>P. hexandrum</i>	Podopyllaceae
		<i>P. peltatum</i>	Podopyllaceae
		<i>Juniperus chinensis</i>	Cupressaceae
	Siteganosin	<i>Steganotaenia araliaceae</i>	Umbelliferae
Kinon	Yakaranon	<i>Jakaranda caucana</i>	Bignoniaceae
	Lapakol	<i>Stereospermum suavedens</i>	Bignoniaceae
Alkoloid Pirolidin	Monokrotalin	<i>Crotalaria spectabilis</i>	Leguminosae
	İndisin-N-oksit	<i>Heliotropium indicum</i>	Boraginaceae
İzokinolin	Emetin	<i>Cephaelis acuminata</i>	Rubiaceae
	Tetrandinin	<i>Cyclea peltata</i>	Menispermaceae
	Talikarpin	<i>Thalictrum dasycarpum</i>	Ranunculaceae
Benzofenontirdin	Fogaronin	<i>Fagara zanthoxyloides</i>	Rutaceae
		<i>F. macrophylla</i>	Rutaceae
Fenantroindolizidin	Nitidin tilokrebin	<i>Tylophora</i>	Asclepiadaceae
Akriden	Akronizin	<i>Acronychia beveri</i>	Rutaceae
Pridokarbazal	Eliptisin	<i>Ochrosia eliptica</i>	Apocynaceae
		<i>O. moorei</i>	Apocynaceae
	9-metoksielliptisin	<i>O. maculata</i>	Apocynaceae

Tablo 2.1 (devam)

Pirolokinolin	Kamptotezin	<i>Camptotheca acuminata</i>	Nyssaceae
		<i>Mappia faetida</i>	Olinaceae
Sefalotaksin	Harringtonin	<i>Cephataxus harringtonici</i>	Cephalotaxaceae
	Homoharringtonin	<i>C. harringtonia</i>	Cephalotaxaceae
Bisindol	Leurosin	<i>Catharanthus lanceus</i>	Apocynaceae
		<i>C. raseus</i>	Apocynaceae
	Vinblastin	<i>C. raseus</i>	Apocynaceae
	Vinkristin	<i>C. raseus</i>	Apocynaceae
Maytansinoid	Maytanasin	<i>Maytenus buchananii</i>	Celastraceae
Makrolit	Maytansin	<i>M. buchananii</i>	Celastraceae
		<i>M. serrata</i>	Celastraceae
		<i>Putterlichia verrucosa</i>	Celastraceae
	Maytanvalin	<i>Maytenus</i>	Celastraceae
Non-heterosiklik	Kolşisin	<i>Colchicin speciosum</i>	Liliaceae
Peptit	Bovardin	<i>Bouvardia ternifolia</i>	Rubiaceae
	Deoksi-bovardin	<i>Bternifolia sp.</i>	Rubiaceae

Halk arasında tıbbi bir bitki olarak kullanılan *Emilia sonchifolia* (Compositae)'nın metanolik ekstresinin EAT için sitotoksik olduğu, normal insan eritrositlerini etkilemediği bulunmuştur. Ekstrenin (100 mg/kg vücut ağırlığı) farelere oral verilmesi hem solid hem de asit tümör gelişimini azalttığı ve tümör uygulanmış farelerin yaşam süresini uzattığı bildirilmiştir (Shylesh ve Padikkala, 2000).

Aerva lanata'nın petrolümler eter ekstraktının kısmi saflaştırılmış fraksiyonunun in vitroda Dalton lenfoma ascites (DLA), Ehrlich ascites (EA) ve B16F10 hücrelerine toksik olduğu kanıtlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, 50 µg/ml PEF (Petrolümler eter ekstresi)'nin EAT hücre hatlarında %80 hücre ölümü geliştirdiği gösterilmiştir (Nevin ve Vijayammal, 2003).

Balb/C farelerde solid EAT tümör modeli geliştirilerek, 100 mg/kg/gün dozunda curcumin'in farklı sürelerde uygulanması ile apoptoz gelişimi ve miktarına etkisinin incelenmesinin amaçlandığı bir çalışmada, değişik curcumin uygulamaları yapılan tümürlü hayvanlarda curcumin'in tümör gelişimi üzerine etkisini incelemek amacıyla

uzun ve kısa çap ölçümlerinin yapılmış, apoptoz gelişimi ve miktarının incelenmesi için in situ DNA uç işaretleme tekniği ve rutin ışık mikroskopi yöntemleri uygulanmış ve oluşan apoptotik hücrelerin varlığını desteklemek için de elektron mikroskopi çalışmaları uygulanmıştır. Elde edilen bulgular, deney ve kontrol grupları arasında karşılaştırılmıştır. Curcuminin gerek in situ DNA uç işaretleme tekniğinde, gerekse Hematoksilen-Eosin boyası uygulanan örneklerde yapılan sayımlar sonucunda anlamlı bir şekilde apoptozu uyarmakta olduğu gösterilmiştir (Taşkın, 2002).

Başka bir curcumin çalışmasında, EAT hücrelerinin ve in vitroda endotelial hücrelerin gelişimi üzerine curcumin'in etkisine bakılmıştır. Bu çalışmada, curcumin farelere i.p. olarak enjekte edildiği zaman in vivo EAT'li farelerde etkili bir şekilde asit sıvısı oluşumunu %66 azaltmıştır. Curcuminle in vitroda EAT hücreleri ve insan umbelikal damar endotelial hücre sayısındaki azalma hücrelerde hiçbir sitotoksik etki gözlenmeden FACS analizindeki sonuçlarda fraksiyonel DNA içeriğine sahip hücrelerdeki artışın kanıt olduğu curcuminle apoptozis indüksiyonuna bağlanmıştır. Curcumin'in peritoneal anjiogenez ve koriallontoik membran denemesi olarak adlandırılan iki in vivo anjiogenez deneme sisteminde anjiogenezin inhibisyonuyla gösterildiği gibi potansiyel bir anjiogenik bileşik olduğu kanıtlanmıştır (Gururaj vd., 2002).

Solanum trilobatum ekstresinin Dalton's Lenfoma ascites (DLA), Ehrlich ascites (EA) hücre hatlarında ve doku kültür hücrelerinde (L929 ve Vero) sitotoksik olduğu bulunmuştur. Sobatum DLA ve EA tümör hücreleri tarafından indüklenen peritoneal tümörleri önemli derecede inhibe etmiştir. Sobatum'un hem simültane hem de profilaktik olarak verildiğinde farelerde solid tümör gelişimini azalttığı ve simültane verilisinde daha aktif olduğu bulunmuştur. Sobatumun DLA'nın indüklediği solid tümörlerden daha çok EA hücrelerinin indüklediği solid tümörlere karşı daha aktif olduğu bulunmuştur. Hücre hatlarının enjeksiyonundan 24 saat sonra Sobatum uygulamasının DLA ve EA hücreleri tarafından indüklenen tümör hacmini oldukça azalttığı bulunmuştur. 40. gün EA kontrollerinde tümör hacmi 8.672 iken Sobatum uygulanan grupta 0.071 ml azaldığı gösterilmiştir. Tümör hücre hatlarının enjeksiyonundan 6 gün sonra Sobatum uygulandığında katı tümör gelişiminde önemli bir azalma gözlenmiştir. 40. gün EA kontrolleriyle karşılaştırıldığında

Sobatum uygulamasının tümör hacmini 0.123 ml azalttığı bildirilmiştir. Benzer olarak, tümör hücrelerinin enjeksiyonundan önce Sobatum uygulanan farelerde tümör gelişiminin azaldığı da bulunmuştur (Mohan ve Devi, 1997).

Tropikal angiosperm *Feronia limonia* syn. *Feronia elephantum* (familya; Rutaceae)'dan asitik bir heteropolisakkarit (FL-1a-I) izole edilmiştir. Mürin modeldeki (sıçangillere ait model) bir ön çalışma, in vivoda bazı önemli EAT hücre gelişim inhibisyonları göstermiştir. Normal Balb/C farelerinde FL-1a-I'nın etkileri üzerine yapılan çalışmalar, pektik polisakkarit FL-1a-I'nın güçlü antitümör aktivitesinden artan makrofajların sorumlu olduğunu belirtmiştir (Saima vd., 2000).

Ixora coccinea L. (Rubiaceae) çiçeklerinin anti-tümör aktivitesi farelerde intraperitoneal olarak transplante edilen EA tümörleri ve Dalton's lenfoma (asitik ve solid tümörleri) da karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. *I. coccinea* çiçeğinin 200 mg/kg aktif fraksiyonunun intraperitoneal uygulanması EAT asidik tümör uygulanmış farelerin yaşam sürelerini %68 uzatmıştır. Aynı aktif fraksiyon in vitroda 60 µg/ml konsantrasyonda %50 sitotoksikite göstermiştir. Akut toksisite çalışmasında, denenen *I. coccinea* dozlarının hiçbirisiyle denek hayvanlarında 24 saat içinde ölüm gözlenmemiştir. LD₅₀'nin farelerde p.o. 400 mg/kg'dan büyük olduğu bulunmuştur. Deney hayvanları çalışma boyunca genel davranışlarda hiçbir değişme göstermemiştir. *I. coccinea*'nın kronik uygulandığı besin ve su tüketiminde ve hayvanların vücut ağırlığında çalışma boyunca önemli değişiklikler oluşturmamıştır. Çalışmadan sonra iç organların ağırlığında da önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, *I. coccinea*'nın güvenli bir şekilde antitümör ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Latha ve Panikkar, 1998).

Farelerde Ehrlich ascites karsinomasına karşı hindiba etanolik ekstraktının tümör inhibitör etkisi çalışılmıştır. Hindiba kökü ham etanolik ekstraktı 300-700 mg/kg/gün de in vivoda EA tümörünün önemli inhibisyonunu sağlamıştır. 500 mg/kg/gün uygulama rejimi kontrole nazaran 1/6 kür (60 gün canlılık) oranıyla yaşam süresinde %70'e varan bir artışa yol açarak fark edilir derecede etkili bulunmuştur (Hazra vd., 2002).

EAT hücreleri üzerine olgun muz diyetinin önleyici etkisinin çalışıldığı bir araştırmada, günlük 2 gr muz/gün/fare (20-25 gr ağırlığında) beslemesi, kanserojenik

mücadeleye bağılı olarak hayvanların %100'ünün öldüğü kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, karsinojenik saldırıyla yaşamını sürdüren hayvanların %30'unda Ehrlich karsinoma hücreleri tarafından indüklenen malignant ascites gelişiminin önlenmesiyle sonuçlanmıştır. Sadece standart laboratuvar yemi verilen farelere Ehrlich asidik karsinomanın uygulandığı enjeksiyondan 15 gün sonra asidik karsinoma (5.10^6 hücre/ml peritoneal sıvı) geliştirdiği bulunmuştur. Bu hayvanların hepsinin sonraki 5-6 gün içinde öldüğü bildirilmiştir. Aksine, standart laboratuvar besini içinde 2 gr/gün muz verilen diğer gruptaki hayvanların %70'inde de ascites gelişmiş fakat 35 gün içinde öldükleri bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, aynı Ehrlich asidik karsinoma hücrelerinin uygulandığı grubun geri kalan %30'unda ascites gelişmemiş ve 35 günden daha çok yaşam sürmüşlerdir. Çalışmanın sonucunda, deney hayvanlarının kontrol grubundan daha sağlıklı oldukları ve kontrol grubundan daha iyi karsinojenik mücadele sürdürdükleri ileri sürülmüştür (Guha vd., 2003).

Tümör bulaştırılmış farelerin yaşam uzunluğu üzerine ve EAT gelişimine *Cassia fistula* metanolik ekstraktının (ME) etkileri çalışılmıştır. ME uygulaması EA tümör sahiplerinde canlı tümör hücresi sayısında ve tümör hacminde bir azalış ve yaşam süresinde bir artış göstermiştir. Sitolojik çalışmalar muamele edilen tümör hücrelerinde intra-sitoplazmik vakuoller ve membran kabarması oluşumu, mitotik aktivitede bir azalma göstermekte olduğu bildirilmiştir. ME uygulamasını takiben, tümör uygulanan farelerin kemik iliği hücre sayısı, kırmızı kan hücre sayısı ve hemoglobin içeriği gibi hematolojik parametrelerinde gelişme de gözlenmiştir. Nukleuslu dalak hücre sayısı ve dalak organ ağırlığında da artış gözlenmiştir (Gupta vd., 2000).

Brucea antidysenterica Etiyopyada kanser tedavisinde kullanılır. Bu bitkinin sistematik fraksiyonu bruceantin'in izolasyonunu sağlar ki bu da geniş doz aralığında yüksek anti-lösemik aktivite gösteren bir bileşiktir. Bruceantin protein sentezini inhibe eder ve bugünkü tedavi alanına girmiştir (Tamer, 2002).

Çinli araştırmacılar *Cephalotaxus harringtonine*'den elde edilen harringtonine esterlerinin birçok sistemde iyi aktivite gösterdiklerini *C. harrington*'ın alkaloidal fraksiyonlarını kullanarak yaptıkları çalışmalardan kabul edilebilir sonuçlar elde etmişlerdir. *C. harringtonea*'nın solid tümörlü veya lösemili hastalarda kullanılabilme umudu olduğunu göstermişlerdir (Dewick, 1989).

Colchicine ve türevlerinin antitümör aktivite gözlemleri enteresandır. Colchicine mitotik zehir özelliğine sahip olduğu için bitkilerde geniş çaplı olarak kullanılır ve bu özelliği ile tümör inhibitör aktivitesi ile yakından bağlantılıdır (Dewick, 1989).

Maytenus serrata ve *Maytenus*'un diğer türleri maytensine içerir. Maytensine çok küçük dozlarda ($\mu\text{g}/\text{kg}$) değişik deneysel neoplazmalara karşı aktif olup kullanılabilir terapötik indeks göstermektedir. Genellikle mitozun inhibisyonu yolu ile etki ettiği saptanmıştır (Dewick, 1989).

Kliniklerden yayınlanan raporlara göre lahana suyu ile 45 günlük bir tedavi sonucu özellikle 12 parmak barsak tümörleri iyileşebilmektedir. Çeşitli nitelikteki tümörleri ve inatçı yaraların taze lahana yapraklarının tatbiki sonucu iyileşebileceği Gürkan vd. (1988) tarafından rapor edilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda Brassicaceae bitkilerinin karsinogenezi etkilediği ve bu tip bitkilerin çok tüketildiği yerlerde kanser insidansının azaldığı gösterilmiştir (Graham, 1983; Graham vd., 1978). Ayrıca bu bitkilerden elde edilen maddelerin deney hayvanlarında denenmesi bu maddelerin hayvanlarda karsinogenezi inhibe ettiğini göstermiştir (Boyd vd., 1982; Stoewsand vd., 1978; Wattenberg ve Loub, 1978). Lahana ile beslenen tavşanların yüksek öldürücü dozdaki uranyuma dirençli olduklarının gösterilmesi ilk karsinojen etkiyi bildiren rapordur (Eisner, 1931). Brassicaceae bitkilerinin başlıca içeriği olan indol-3-karbinol polinükleer aromatik hidrokarbonlar veya aflatoksin B1 verilmesiyle oluşan kansere karşı birçok hayvan deneylerinde inhibitör madde olarak görünür. Brassicaceae bitkilerinde birçok glikozinolat da bulunmaktadır. Glukobrassisin, glukotropaeolin ve glikosinalbin birçok hayvan modelinde çalışılmıştır. Glukobrassisin farede akciğer ve midede kimyasal madde ile oluşturulmuş neoplaziye ve sıçanlarda oluşturulan meme neoplazisine inhibisyon yaptığı bildirilmiştir (Tamer, 1992).

Lahana suyunun anti-kanserojen etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmanın sonuçları da şöyledir. *Brassica oleraceae* var. *capitata* ekstresinin *Mus musculus* Balb/C türü farelerde sıvı EAT oluşumunu engelleyip, engellemediğini göstermek amacıyla 0,1ml (ışık mikroskopunda her 10 büyütme sahasında ortalama 18 adet atipik hücre) sıvı EAT verildikten sonra 20mg/0,5ml SF içinde verilen *B. oleraceae* var. *capitata* ekstresinin etkisiyle 15 fareden 13 tanesinde sıvı EAT oluşmadığı gözlenmiştir.

Lahana ekstresi verilmesine rağmen sıvı EAT oluşan farelerden alınan periton sıvı örneği, sitolojik olarak incelenmesi sonucu, ışık mikroskopunun her 10 büyütme sahasında 5 adet atipik mitoz hücresine rastlanmıştır. Sıvı EAT oluşturulmak üzere farelerin peritonuna verilen sıvıda ortalama 18 adet atipik mitoz hücresi bulunduğu göz önüne alınırsa, lahana ekstresinin tümör oluşumu üzerine engelleyici etkisinin mevcut olduğu görülmektedir (Tamer, 1992).

Çuha çiçeği (*Evening Primrose-Oenothera biennis* L.) yağının in vivoda fare meme bezi adenokarsinoması üzerine antikarsinojen olduğu gösterilmiştir (Munoz vd., 1998; Munoz vd., 1999). *Oenothera biennis* yapraklarından izole edilen bir tanin olan oenothin A, farelerde sarkoma 180'e karşı antitümör aktivite göstermiştir (Yoshida vd., 1991). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, %70'lik EPE (Evening Primrose Extract) etanol ekstresinin EAT hücrelerinde apoptozis indüksiyonunu tetikleyen intraselüler ROS seviyesinde hızlı bir artışa neden olduğu ve bu durumun bu bitkinin antitümör aktivitesinin altında yatan mekanizma olabileceği bildirilmiştir (Arimura vd., 2003).

Diterpen dehidrokrotonin 20 mg/kg dozunda EAT'ye karşı önemli aktivite göstermiştir. 20 mg/kg dehidrokrotonin muamelesi %80 yaşam süresini uzatırken muamele edilmemiş tüm tümörlü hayvanlar 20 gün içinde ölmüştür. Dehidrokrotonin türevleri, dehidrokrotonin için uygulanan aynı dozda tümör gelişimine karşı fareleri korumada etkisiz bulunmuştur. Yapılan toksisite çalışmaları sonucunda da dehidrokrotonin ve bileşiği II ve III'ün yüksek konsantrasyonlarda bile EAT hücrelerine karşı sitotoksik olmadığı bulunmuştur (Melo vd., 2004).

Kanserin değişen immün fonksiyonla ilişkili olduğu bilinir. Siyah çayın doz bağımlı olarak tümör gelişimini inhibe ettiğinin gösterildiği bu çalışmada, apoptozisin EAT'li farelerde immünoisit ölümüne neden olduğu ve siyah çayın da antitümör dozunun apoptozisi inhibe ederek EAT'nin indüklediği immün baskılamayı tekrar işleve soktuğu gösterilmiştir (Bhattacharyya vd., 2004).

Farklı bir çalışmada propolis'in tümöre karşı koruyucu etkisine bakılmıştır. Bu çalışmada, EAT'nin intraperitoneal enjeksiyonundan 2 saat önce gastrik intübasyonla propolis verilmesi etkili bir şekilde tümör gelişimini ve EAT proliferasyonunu inhibe etmiştir. Tümör hacmi fark edilir derecede EAT infekteli farelerde 7 ± 0.9 ml'den

propolis uygulanmış farelerde 1.6 ± 0.95 ml'ye düşmüştür. Aynı zamanda EAT infekteli farelerde 13.3 ± 1.24 nmol malodialdehit (MDA)/mg protein olan lipid peroksit seviyesi önemli derecede 3.3 ± 2.1 nmol MDA/g protein seviyesine düştüğü gözlenmiştir. Redükte glutatyon (GSH) ve glutatyon S-transferaz konsantrasyonları propolis uygulanan farelerde önemli derecede artmıştır. Bu etki hücre siklus ilerlemesinin inhibisyonu ve apoptozis indüksiyonuyla ilişkili bulunmuştur. EAT enjeksiyonundan 2 saat önce propolis uygulaması, hücreleri G_0/G_1 fazında durdurmuş ve tümör hücrelerinin yaşamsallığında, DNA, total RNA ve protein seviyelerinde azalmayla sonuçlanmıştır. Sonuç olarak, Mısırdaki yetişen ham propolis ekstresinin tümörlere karşı güçlü bir inhibitör olduğu bulunmuştur. Propolisin antitümör mekanizmasının oksidatif hasarı ve apoptozis indüksiyonunu önleyerek aracılık edebileceği ileri sürülmüştür (El-Khawaga Om-Ali vd., 2003).

Doğal maddeler için rastgele seçilen tarama programı 1983 yılında Amerika Birleşik Devletleri Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından durdurulmuştur. Bu program insan kanserlerinin tedavisinde genel olarak kullanılacak tek bir etken madde bulunmadığını fakat çok sayıda sitotoksik ve antitümör ajanlar bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca bu ajanların etki mekanizmaları ve kanser olayları hakkındaki bilgilerimizi bu program arttırmıştır. 1986 yılında NCI daha küçük gruplar üzerinde yoğunlaştırdığı yeni bir tarama programı çalışmalarına başlamıştır. Sentetik olarak 1940'larda nitrojen mustardların antilösemik karakteri görülmüştür. Etkilerini biyolojik açılışla yaptıkları ve seçiciliği ve aynı dozun normal hücrelerde toksik olması bu maddenin dezavantajlarıdır. Avantajlı antikanser ilacının kanser hücrelerine etkili, normal hücrelere ise zararlı olmaması gerekir. Bu ideal belki de imkansızdır. Sentetik ilaçlar fazla avantajlı olamamıştır. Bitkilerden elde edilenler daha iyi neticeler vermektedir. Maddelerin etkilerinin bulunup yapı tayini yapıp senteze gidilmesi belki de en iyi yoldur. Bitkilerden elde edilen etkili maddeler 1400 cinsi kapsamaktadır. Standart neoplazmlarla çok az çalışma klinik çalışmalara kadar gidebilir. Yıllık olarak 25.000 madde de NCI tarafından tarama yapılmakta bunlardan ancak 8-12 madde prelinik testler için seçilmektedir. NCI bitkiler, deniz hayvanları, mantar ve siyanobakteri türlerinde çalışmalarını yoğunlaştırmıştır (Dewick, 1989). Bunlar arasında usnik asit, ellagik asit, antrakuinon aloemodin juglon ve lapakol kuinonları, pirolizidin alkaloidlerinden retronesin, monokrotalin, nitropanantren, aristolokik asit, bufadionelit helleksigenin asetat, colchicum

alkoloidlerinden kolçisin, 3-demetilkolçisin, steroidal kukurbitasinler, lapakol, eliptisin, emetin ve nitridin alkoloidleri, suda eriyen N-glikozitlerdir. Bu maddeler toksik oluşu bakımından henüz klinikte kullanılmamaktadır (Dewick, 1989).

Kanser tedavisi için geleneksel kullanımı olan 7 adet *Plantago* türünün metanolik ekstresinin National Cancer Institute (NCI, USA) tarafından önerilen 3 farklı insan kanser hücre hattına karşı sitotoksik etkisi ölçülmüştür. Sonuçlar, *Plantago* türlerinin kültürde test edilen hücrelere karşı belli bir derecede seçicilik gösteren sitotoksik aktivitesi olduğunu göstermiştir. Bu 3 farklı insan kanser hücre hattı; renal adenokarsinom (TK-10), meme adenokarsinom (MCF-7) ve melanom (UACC-62)'dur. *P. major* metanolik ekstresi (97µg/ml) MCF-7 hücrelerinin gelişimini tam olarak inhibe etmiş ve *P. major* metanolik ekstresi (112 µg/ml) UACC-62 hücre hattında toplam gelişim inhibisyonu göstermiştir. Diğer taraftan ekstre TK-10 hücre hattında da toplam gelişim inhibisyonu göstermiştir. Bundan başka, *P. major* ekstresi MCF-7 hücre hattında 207 µg/ml dozunda ve UACC-62 hücre hattında 247 µg/ml dozunda %50 net ölüm oluşturmuştur. Sonuçlar, *Plantago* ekstraktlarının NCI tarafından önerilen meme adenokarsinomu ve melanom hücre hatları üzerine gelişim inhibisyonu ve sitotoksik etkileri olduğunu gösterir. Bu ön sonuçlar *Plantago* türlerinde major flavonoid olan luteolin-7-O-β-glikozit, flavon'un sitotoksik etkisiyle doğrulanabilir. Geleneksel kanser tedavisinde bu türlerin mevcut kullanımını ispatlayan benzer sonuçlar, kanser hücre hatlarında *Terminalia arjuna*'nın aktif bileşeni olarak luteolin'i izole eden Petit vd. tarafından bildirilmiştir. Luteolin'in bir seri insan kanser hücre hatları (renal A-549, ovaryum SK-OV-3, melanom SK-MEL-2, XF-498, HCT15, gastrik HGC-27) (Matsukawa vd., 1993; Ryu vd., 1994) meme MCF-7 (Le Bail vd., 1998) ve insan lösemi hücrelerini (Post Varma, 1992) inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, luteolin-7-O-β-glikozitinin meme adenokarsinom hücrelerinde luteolinden daha aktif ilginç bir anti-kanser molekülü olabileceğini gösterir. Tüm *Plantago* türlerinde bulunan major flavonoid luteolin-7-O-β-glikozitin sitotoksik aktivitesinden sorumlu tam mekanizma açıkça anlaşılamamıştır. Topoizomeraz aracılı DNA hasarı, bazı flavonoidlerin sitotoksik potansiyellerini oluşturabileceği aday bir mekanizma olarak görünüyor (Martin-Cordero vd., 2000; Lopez-Lazaro vd., 2000, 2002). Bu çalışmada, luteolin-7-O-β-glikozit aglikon luteolini gibi potansiyel bir DNA topoizomeraz I zehiri olarak

aktivite göstermiştir, bu son sonuç Chowdbury vd. (2002)'nin elde ettiği sonuç ile aynıdır (Galvez vd., 2003).

P. major metanolik ekstresinin bir insan hepatoselüler karsinoma hücre hattı olan Hep G2'ye karşı sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada HepG2 üzerine *P. major* metanolik ekstresinin sitotoksik etkisini araştırılmış (Kang vd., 2000; Swamy ve Tan, 2000) ve 15.5-1000 µg/ml dozlarında *P. major* ekstresinin HepG2 hücre hattına karşı sitotoksik aktivitesi ve IC₅₀ ±SD (µg/ml) (%95 güven aralığındaki standart sapmalı %50 inhibitör konsantrasyonu) negatif bulunmuştur. *P. major*'un fare modellerinde anti-metastatik aktivite ve profilaktik onkolojinin görüntüleme sisteminde efektif olduğundan (Yaremenko, 1990), farelerde meme kanseri önleyici etkiye sahip olduğundan da bahsedilmiştir (Lithander, 1992). Bununla birlikte, 15.5-1000 µg/ml doz aralığında HepG2 üzerine hiçbir inhibitör etki göstermemiştir (Rufa vd., 2002).

Mısır medikal bitkilerinden *P. major* metanolik ekstresinin ağrı kesici etkisi de farelerde asetik asit uygulanmış kıvrınma ve kesik kuyruk testleri kullanılarak çalışılmıştır. 400 mg/kg *P. major* tohum metanolik ekstresinin oral verilmesi %62.3 bir korumayla asetik asitin indüklediği acıyı önemli derecede inhibe etmiştir. Yüksek dozda *P. major* yaprakları kontrollarla karşılaştırıldığı zaman önemli derecede farklı olan %45.8-50.8 bir koruma göstermiştir. Daha küçük dozda (200 mg/kg) bitki ekstresi hayvanları asetik asit stimülasyonlu acıdan korumamıştır. Kuyruk kesme testinde, *P. major* yapraklarının metanolik ekstresi 400 mg/kg dozda kuyruk kesiminin sorumlu olduğu termal stimülasyon yanıtındaki gecikmede önemli bir artış göstermiştir. Küçük dozlarda hiç etki gözlenmemiş yada az etki gözlenmiştir. 2 g/kg vücut ağırlığı yada daha yüksek dozlarda bitki ekstresi hiç ölüm yada major akut toksisite belirtisi göstermemiştir. Fitokimyasal görüntüleme, major bileşikler olarak ansature steroller, triterpenler, taninler, flavonoidler ve karbohidratlar ve/veya glikozitlerin varlığını göstermiştir. Alkaloid, antrakuinon, lakton/ester, protein/a.a. ve saponin testleri negatif cevap vermiştir. Bu bilgiler, bitki ekstresinin doz bağımlı periferik ve sentral potansiyelli ağrı kesici bir etkiye sahip olduğunu açıkça gösterir. *P. major*'un ağrı kesici etkisi aktif bileşik içeriklerine bağlı olabilir. 2 g/kg ve üstü dozlarda hiçbir akut major toksik semptomun görülmemesi, iyi bir ağrı kesici etki

yaratan 400 mg/kg dozunun 5 katına eşit olan 2 g/kg dozun farelere güvenle verilebileceğini gösterir (Atta ve Abo El-Saoud, 2004).

P. major ekstrelerinin ve onunla ilişkili bileşiklerin in vitroda antiviral aktivitesi üzerine de bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, EC₅₀ 'nin antiviral aktivitesi, virus enfeksiyonuna karşı %50 hücre koruması sağlayan konsantrasyon olarak tanımlanmıştır ve seçicilik indeksi (SI), EC₅₀'ye CC₅₀ (%50 hücresel toksisite konsantrasyonu)'nin oranı olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, *P. major* aköz ekstresinin sadece zayıf anti- Herpes Virus aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Aksine, bu bitkinin ekstraktlarında bulunan 5 farklı kimyasal sınıfa ait bazı saf bileşikler tam antiviral aktivite göstermiştir. Bunlar arasında, kafeik asit HSV-1, HSV-2 ve ADV-3'e karşı en güçlü aktiviteyi göstermiş, oysa klorojenik asit en güçlü anti-ADV-11 aktivitesine sahip bulunmuştur. HSV-2 ve ADV-3'e karşı *P. major*'un etki modununun, bu iki virüs enfeksiyonununun tedavisi amaçlı bu bileşiklerin potansiyel kullanımı için önerilen 4002'den daha iyi bir SI değeriyle ve artış evrelerinde (HSV-1: 0-12 saat, ADV-3: 0-2 saat post enfeksiyonu) olduğu bulunmuştur. HSV-2'nin dışında *P. major*'un sıvı ekstresi (≤ 1000 µg/ml) HSV-1, ADV-3, ADV-8 ve ADV-11'e karşı hiçbir aktivite göstermemiştir. Test edilen saf bileşikler arasında klorojenik asit ve kafeik asidin çok güçlü antiviral aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur; klorojenik asit HSV-1, HSV-2, ADV-3, ADV-8 ve ADV-11'e karşı aktif, oysa kafeik asit HSV-1, HSV-2 ve ADV-3'e karşı aktif bulunmuştur. Bunun yanısıra okubin, luteolin, oleanolik asit ve hem Herpes hem de Adenoviruslara karşı hiçbir antiviral aktivite göstermeyen ursolik asit, baikalein, baikalin, ferulik asit, p-kumarik asit ve vanillik asit test edilen virusların en az birisine karşı aktif bulunmuşlardır. İlginç olarak, Klorojenik asitin etkisinin ADV-11'in inhibisyonunda standart ilaçla benzer antiviral aktiviteye fakat daha düşük hücresel toksisiteye sahip olduğu bulunmuştur. Adenovirus çalışmasında, klorojenik asidin ADV-3, ADV-8 ve ADV-11'e karşı aktif olduğu, ferulik asidin ADV-8 ve ADV-11'e karşı aktif olduğu, kafeik asidin ADV-3'e karşı ve p-kumarik asidin ADV-11'e karşı aktif olduğu bulunmuştur. Baikaleinin de anti-HSV-1 aktivitesi de kaydedilmiştir. SI değerlerine dayanarak HSV-1'e karşı çeşitli saf bileşiklerin aktivitesinin kafeik asit > klorojenik asit > vanillik asit sırasındadır ve HSV-2 için sıra kafeik asit > klorojenik asit > p-kumarik asittir. Kafeik asidin en güçlü anti-viral aktiviteye sahip olduğu bulunduğundan (düşük EC₅₀ ve yüksek SI değerleri), bu yüzden çalışma BCC-1/KMC hücrelerini enfekte eden HSV-

1'e karşı bu bileşimin doz-yanıt etkisini geliştirmeyi yürütmüştür. Sonuç, kafeik asit etkisinin virus üzerinde açık bir doza bağlı etki oluşturduğunu göstermiştir (Chiang vd., 2002).

Farklı bir literatür bildirişinde, bitki ekstrelerinin akut oral toksisitesini belirlemek için farelerde ortalama letal dozun (LD₅₀ değeri) tahmini ve *Artemia salina* L. analizinin karşılaştırmalı çalışmaları yapılmış ve *P. major*'un LD₅₀ değeri tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, *P. major* ekstresiyle güvenli bir tedavi sunulabilmesi için bitkinin esas toksisitesinin ve akut doz aşımının etkilerinin belirlenmesine imkan verir (Caceres, 1996). *A. salina* (Artemiidae), tuzlu su karidesi larvasıdır ve kimyasal va doğal ürünlerin toksisitesini belirlemek için alternatif testlerde kullanılan bir omurgasızdır. Bu çalışmada, *P. major*'un (Plantaginaceae) ortalama letal konsantrasyonu (LC₅₀), farelerde bildirilen LD₅₀ değer sonuçlarıyla ilişkili olarak *A. salina* kullanılarak belirlenmiştir (3 konsantrasyonda test edildi; 10, 100 ve 1000 µg/ml). Ekstrenin farklı konsantrasyonlarıyla muamele edilen tuzlu su karideslerinin mortalitesi; 100 µg/ml konsantrasyonda, mortalite; 9.3/10, LC₅₀; 4.74 µg/ml, %95 güvenilirlik limiti; 0-26.30. 1000 µg/ml konsantrasyonda, mortalite; 10/10 bulunmuştur. Farelerde yapılan akut toksisite in vivo denemesi sonucunda da *P. major*'un LD₅₀; 182.54 mg/kg bulunmuştur (Para vd., 2001).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Dietileter (Ak Kimya), Etil Alkol (Sigma), Formaldehit (Lachema), Ksilol (Merck), Parafin (Merck), Hematoksilen (Sigma), Amonyak (Merck), Asit-Alkol (HCl) (Merck), Eozin (sigma), Entellan (Merck).

3.1.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler

Doku Takip Cihazı, Etüv (Nüve EN 500), Mikrotom (MicroTec Cut 4060), Hassas Terazi (Precisa 160M), Isıtıcı (Velp Scientifica), Işık Mikroskobu (Micros MC 300A), Fotoğraf Makinesi (Fujifilm Fine Pix 600S zoom), Motic Plus 2.0 Yazılım Programı ve Motic marka Kamera.

3.1.3. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları

Araştırmada kullanılan deney hayvanları *Mus musculus* Balb/C türü (26-28 gr ve 8-10 haftalık) erkek fareler olup Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilmiştir. Hayvanlar 23°C’de 12 saat aydınlık-karanlık siklusuyla tel kafesler içinde laboratuvar ortamımızda yetiştirilmiştir (şekil 3.1, şekil 3.2). Deneme için seçilen hayvanların hiçbiri göz yada kulak enfeksiyonu taşıyor, yamalı tüy yada açık yara barındırmıyordu. Deney hayvanlarının beslenmesinde hazır pelet yem kullanılmıştır ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. Hayvanların beslenmelerinde kullanılan yem Gaziantep Yem Fabrikasından getirilmiştir. Yemin bileşiminde bulunan maddeler tablo 3.1.’de ve bu enerji düzeyleri de tablo 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.1: Deney Hayvanları Laboratuvarı



Şekil 3.2: Deney Hayvanların Yetiştirildiği Tel Kafeslerden Biri

3.2. Yöntemler

3.2.1. *Mus musculus* Balb/C Türü Farelerde Ehrlich Ascites Tümör (EAT) Oluşturulması

Çalışmamızda sıvı tümör oluşturulmasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalından temin edilen peritonunda sıvı EAT taşıyan stok fare (ağırlığı 30 gr, 2 aylık) kullanılmıştır. Bu farelerden alınan EAT sıvısı Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları laboratuvarından temin edilen ağırlıkları 26-28 gr arasında değişen 8-10 haftalık *Mus musculus* Balb/C farelerin peritonuna enjekte edilerek elde edilen periton sıvısı çalışmalarımızda kullanılmıştır. Bu sıvı, 0.1 ml PBS içinde süspansiyon edilerek hemasitometrede sayılan 1×10^6 EAT hücresi farelere i.p. olarak enjekte edilmiştir (Sunila ve Kuttan, 2003).

Tablo 3.1. Deney Hayvanlarına Verilen Yemin İçeriği

Yem Maddeleri	Yüzdeleri (%)
Mısır	34
Arpa	5.4
Buğday	13
Kepek	2
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8.5
Et-Kemik Unu	4
Kireç Taşı	0.5
DCP	1
Tuz	0.6
Vitamin Karması	1
Mineral Karması	1
Melas	4

Tablo 3.2. Deney Hayvanlarına Verilen Yemdeki Besin Maddeleri ve Enerji Düzeyi

Besin Maddeleri ve Enerji Düzeyleri	Yüzdeleri (%)
Kuru Madde	86.32
Ham Protein	23.99
Kalsiyum	1.17
Fosfor	0.9
Met + Sis	0.77
Lizin	1.48
Ham Yağ	3
Ham Selüloz	3.18
Metabolik Enerji (kcal/kg)	2658.31

3.2.2. *Plantago major* (Büyük Sinirli Otu) Ekstresinin Edesi

Lokal olarak Gaziantep Üniversitesi Botanik Bahçesinden toplanan *P. major*'un teşhisi yapıldıktan sonra sadece taze ve sağlam görülen yapraklar deneme için seçilmiştir. Bu yapraklar kullanılmadan önce yüzeylerinden yabancı maddeleri ve tüm kirleri uzaklaştırmak için distile suyla yıkanmış ve kuruması için bir süre bekletilmiştir.

Bitki ekstresini elde etmek için infüzyon metodu kullanılmıştır. *Plantago major*'un sıcak su ekstresi daha önce rapor edilen standart metotlara göre bitkinin yapraklarından elde edilmiştir (Chang ve Yeung, 1988). Kısaca, taze yapraklar (50gr) 1 saat 100 cc distile suda kaynatılmış, elde edilen sıvı filtreye süzümüştür. Aynı prosedür 3 kez tekrarlanmıştır. 3 başarılı ekstraksiyonun aköz ekstraktları toplanmış, birleştirilmiş ve konsantre edilmiştir. Elde edilen filtrat %100 yoğunlukta kabul edilmiş ve seyreltilerek %1, %2 ve %3'lük ekstreler elde edilmiştir. Bu ekstreler +4 °C'de saklanmıştır.

3.3. *Plantago major* L. Ekstresinin Sıvı EAT Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması

Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarından sağlanan 27 ± 1 gr ağırlığında 8-10 haftalık 30 adet erkek Balb-C soyu fare 5 gruba ayrılmıştır (n=6). (+) Kontrol grubu hariç tüm hayvanlara 0.1 ml PBS'de süspanse edilmiş 1×10^6 EAT hücresi i.p. olarak enjekte edilmiştir. Deney gruplarına 1ml/fare/gün dozunda %1, %2 ve %3'lük *P. major* ham ekstresi gavaj yoluyla her gün verilmiştir. Ekstrenin uygulamaya başlama zamanı tümör inokulasyonundan sonra 3. gündür ve uygulama süresi 10 gündür. Deney gruplarıyla beraber bir (-) kontrol bir de (+) kontrol grubu oluşturulmuştur. Kontrol gruplarına ekstre yerine aynı volümde serum fizyolojik (%0.9 NaCl) 10 gün boyunca gavaj yoluyla gün aşırı verilmiştir.

3.3.1. Oluşturulan Gruplar ve Yapılan İşlemler

Grup I: Deney grubunda n= 6 hayvan bulunmaktadır. Deney grubuna 0. gün 0.1 ml içerisinde 1×10^6 EAT hücresi olacak şekilde hazırlanarak, asit tümör modeli oluşturmak için intraperitoneal enjeksiyonla pasaj yapılmıştır. Tümör pasajından 3 gün sonra 1 ml/fare/gün dozunda %1'lik *P. major* ekstresi gavaj yoluyla her gün uygulanmıştır. Bu rejim sakrifikasyona kadar 10 gün boyunca devam etmiştir.

Grup II: Deney grubunda n= 6 hayvan bulunmaktadır. Deney grubuna 1×10^6 hücre/ml EAT hücresi 0.1 ml'de olacak şekilde thoma lamında sayılıp, serum fizyolojik ile sulandırılarak intraperitoneal enjeksiyonla verilmiştir. Tümör pasajından sonraki 3. günde 1 ml/fare/gün dozunda %2'lik *P. major* ekstresi gavaj yoluyla her gün verilmiştir. 11. günde tüm hayvanlar eter anestezisi altında sakrifiye edilmiştir.

Grup III: Deney grubunda n= 6 hayvan bulunmaktadır. Deney grubuna 0.1 ml içerisinde 1×10^6 EAT hücresi olacak şekilde thoma lamında sayılıp serum fizyolojikle sulandırılarak asit tümör modeli oluşturmak için intraperitoneal enjeksiyonla verildikten 3 gün sonra 1 ml/fare/gün dozunda %3'lük *P. major* ham

ekstresi gavaj yoluyla her gün olacak şekilde sakrifikasyona kadar verilmiştir. 11. günde eter anestezisi altında deney gruplarına ait tüm hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

Grup (-) Kontrol: Deney grubunda n= 6 hayvan bulunmaktaydı. Deney grubuna 0.1 ml içerisinde 1×10^6 EAT hücresi olacak şekilde thoma lamında sayılıp serum fizyolojikle sulandırılarak asit tümör modeli oluşturmak için intraperitoneal enjeksiyonla verildikten 3 gün sonra 1 ml/fare/gün dozunda SF gavaj yoluyla her gün olacak şekilde sakrifikasyona kadar verilmiştir.

Grup (+) Kontrol: Deney grubunda n= 6 hayvan bulunmaktaydı. Deney grubuna tümör inokulasyonu yapılmamıştır ve diğer gruplarla aynı günden başlanarak 1 ml/fare/gün dozunda SF gavaj yoluyla her gün olacak şekilde 10 gün boyunca verilmiştir.

3.4. Tümör Gelişiminin Takip Edilmesi

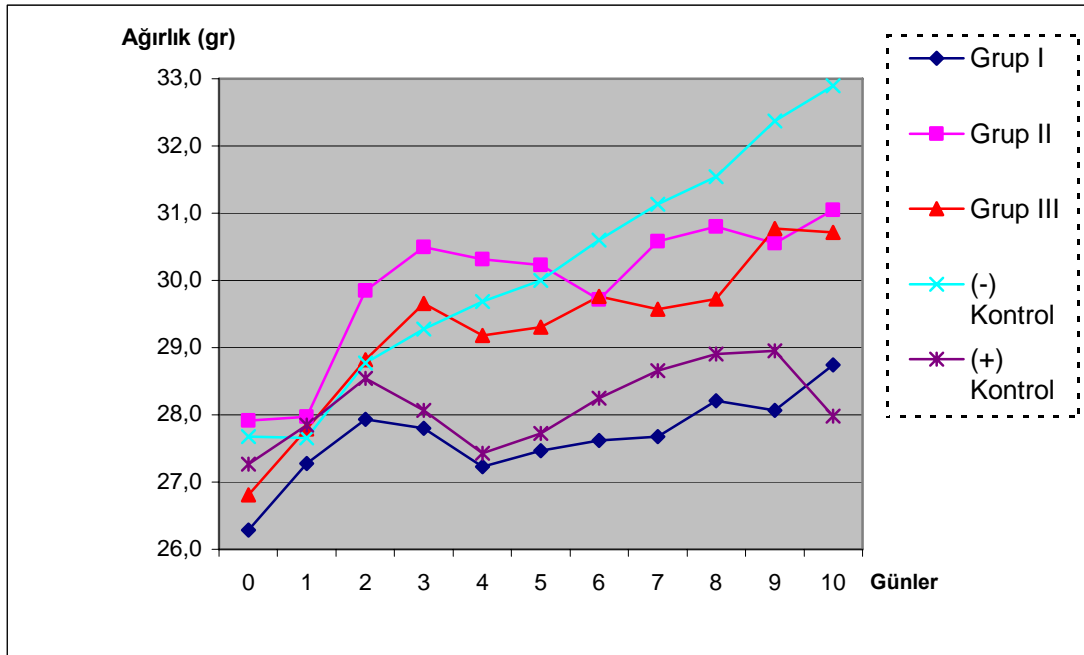
Tümör gelişimi üzerine *P. major* ham ekstresinin etkileri sırasıyla günlük besin ve su tüketimi, ağırlık artışı ve dokuların patolojisine bakılarak değerlendirilmiştir. Tümör gelişimini belirlemek için tümör inokulasyonundan önce belirlenen vücut ağırlıklarına kıyasla her gün hayvanlar tartılmıştır.

3.5. EAT'nin Patolojik Olarak İncelenmesi

Tüm gruplar eter anestezisi altında sakrifiye edildikten sonra farelerin mide, böbrek, karaciğer, kalınbarsak ve incebarsak dokuları ambulok çıkarılarak örnek alınmıştır. Tüm örnekler 24 saat %10'luk formaldehitte bekletilmiş, daha sonra değişik derişikliklerdeki alkoller ve ksilollerden geçirilerek 24 saat içerisinde tespit edilmiştir. Böylece parafin blokları hazırlanan doku örneklerinden 4 mikron kalınlığında doku kesitleri alınmıştır ve deparafinizasyon işlemi uygulanmıştır. Hematoksilen ile boyanan örnekler ksilolde şeffaflaştırıldıktan sonra Nikon marka ışık mikroskobunda değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada *Mus musculus* Balb/C türü farelerde oluşturulan Ehrlich asit karsinomu üzerine *P. major* (Plantaginaceae) yapraklarının ham ekstresinin inhibitör etkisi çalışılmıştır. Elde edilen *P. major* sıcak su ekstresinin 10 gün süreyle EAT taşıyan farelere ve kontrol grubu farelerine 1 ml/fare/gün p.o. uygulama rejimi süresince deney hayvanlarının günlük ağırlık değişimleri kaydedilmiştir. Tümörün inoküle edildiği gün 0. gün olarak belirlenmiştir. 0. gün hayvanların ilk ağırlıkları kaydedilmiştir. Ekstrenin verilmeye başlandığı 3. günden itibaren de 10 gün süresince hayvanlar tartılarak ağırlık artışları belirlenmiştir (şekil 4.1).



Şekil 4.1: Değişik Dozlarda *Plantago major* L. Ekstresinin Etkisi ile *Mus musculus* Balb/C Türü Farelerde Gözlenen Ağırlık Değişimleri Grafiği

Bu ağırlık ölçümlerinin sonucunda en fazla kilo artışı, sadece tümör inokülasyonu yapılmış ve ekstre yerine SF verilen (-) kontrol grubunda kaydedilmiştir (5,22 gr).

Tümör inokülasyonu yapıldıktan sonra 10 gün boyunca %1'lik *P. major* ekstresi verilen I.Grup hayvanlarındaki ağırlık artışı 2,45 gr, tümör inokülasyonundan sonra %2'lik *P. major* ekstresiyle terapi edilen II.Grupta 3,13 gr ve %3'lük *P. major* ekstresi verilen III.Grupta ise 3,90 gr olarak kaydedilmiştir. Tümör inokülasyonunun yapılmadığı ve 10 gün boyunca sadece p.o. SF verilen (+) kontrol grubunda ölçülen ağırlık artışı ise 0,71 gr'dır. Tablo 4.1.in incelenmesinde görüleceği gibi deney ve kontrol grupları arasında değişik ekstre dozlarına bağlı önemli ağırlık değişimleri gözlenmiştir.

Tablo 4.1. Değişik Dozlarda *Plantago major* L. Ekstresinin Etkisi ile *Mus musculus* Balb/C Türü Farelerde Gözlenen Ağırlık Değişimleri

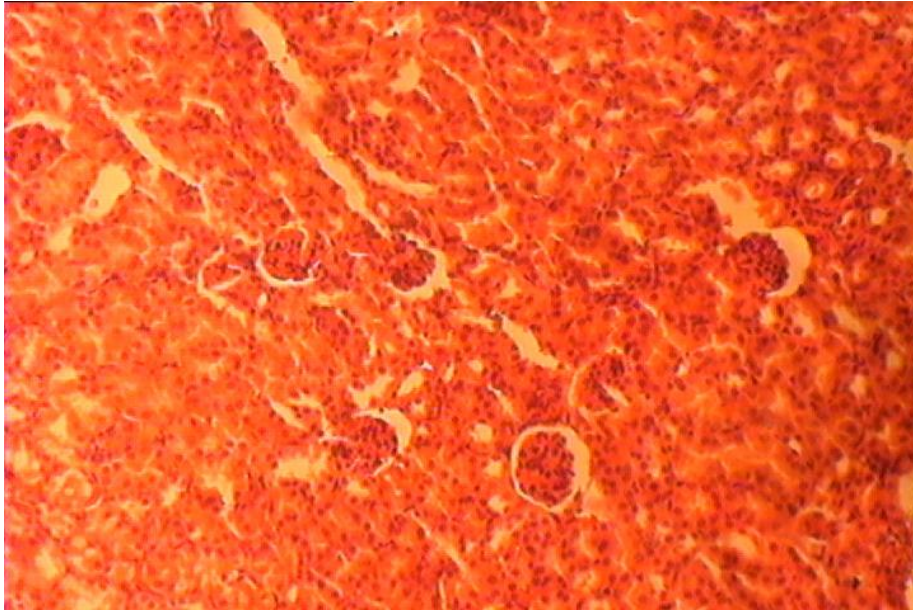
Grup No	Uygulanan doz	Deney Grubu	
		Başlangıç Ağırlığı (gr)	10 Gün Sonraki Ağırlığı (gr)
(-) Kontrol	-	27,677	32,898
(+) Kontrol	-	27,268	27,981
1	%1	26,290	28,740
2	%2	27,918	31,047
3	%3	26,812	30,712

Deneme gruplarındaki (+) tümör tutulumu hem ölçülen ağırlık artışlarıyla hem de peritondaki asit birikiminin gözle görülebilir derecede olmasıyla belirlenmiştir. Deneme süresi içerisinde tümör implantasyonundan sakrifikasyon süresine kadar hiçbir grupta ölüm olayına rastlanmamıştır. Hayvanların tümü deney bitim süresinde sakrifiye edilmişlerdir. Bu bulgumuza dayanarak ekstrenin bu konsantrasyonları arasında değişen değerlerin herhangi bir toksik etki göstermediği kanısına varılmıştır.

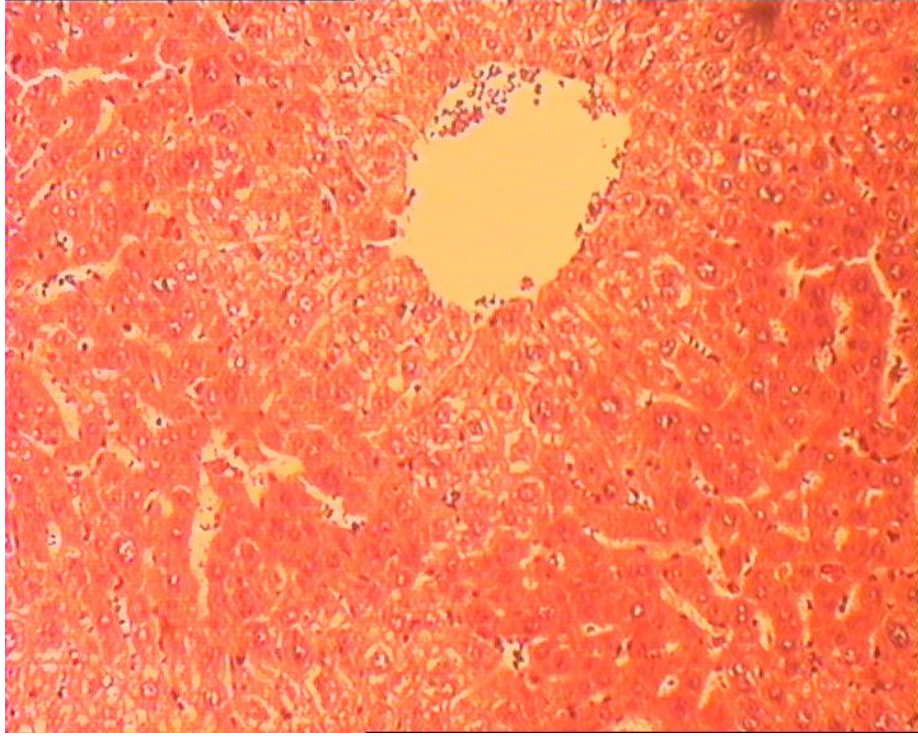
Deney hayvanlarının sakrifikasyonu eter anestezisi altında gerçekleştirilmiştir ve sakrifiye edilen hayvanların karaciğer, böbrek, mide, kalın bağırsak ve ince bağırsak dokuları ambulok olarak çıkarılmıştır. Hazırlanan doku preparatlarının histopatolojik incelemeleri sonucunda EAT'nin bu dokulardan sadece ince ve kalın bağırsak dokularını tuttuğu belirlenmiştir. Diğer üç dokuda hiçbir patolojik duruma

rastlanmamış ve bu dokuların histolojik değerlendirmeleri normal bulunmuştur. Bu yüzden değerlendirmenin bundan sonraki aşamalarında tüm hayvanların sadece ince ve kalın bağırsak dokuları incelenmiş ve gruplar arasında *P. major* ekstresinin neden olduğu düşünülen tümör inhibisyonunun değerlendirilmesinde bu dokular dikkate alınmıştır.

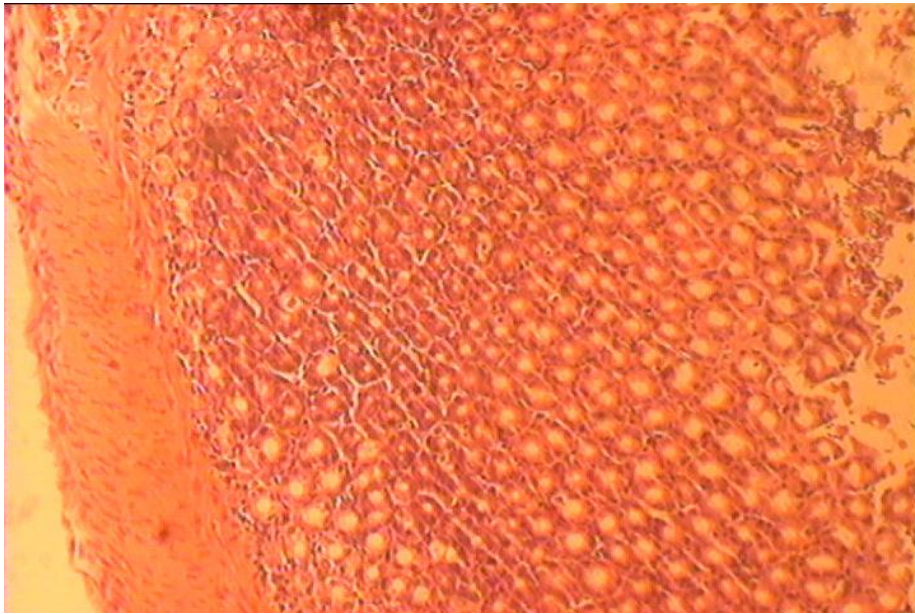
Sadece tümör inokülasyonu yapılan (-) kontrol grubundaki hayvanlara ait ince ve kalın bağırsak doku preparatları incelendiğinde bu gruptaki tüm hayvanların ince ve kalın bağırsak dokularının tümör hücreleri tarafından yaygın invazyonu gözlenmiştir. Tümörün bu dokulara invazyonu peritondan gerçekleştiği için yayılımı da seroza tabakasından mukoza tabakasına doğru olmuştur. (-) Kontrol grubundaki hayvanlara ait bu iki dokuda tümörün mukoza, submukoza, muskularis eksterna ve seroza tabakalarından dördüne de yayılmış olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6).



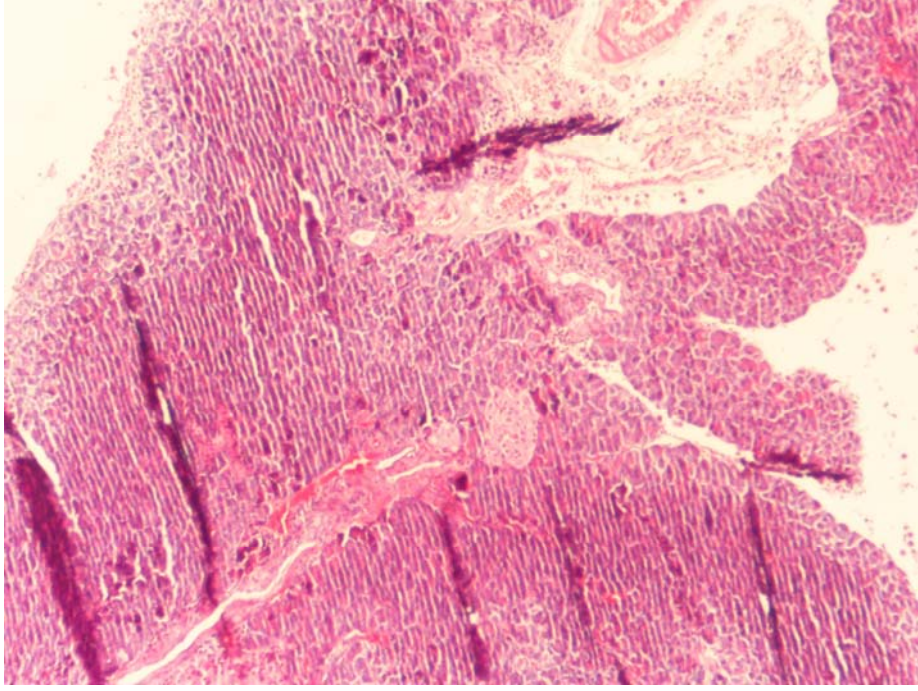
Şekil 4.2: (-) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Böbrek Dokusu Kesiti



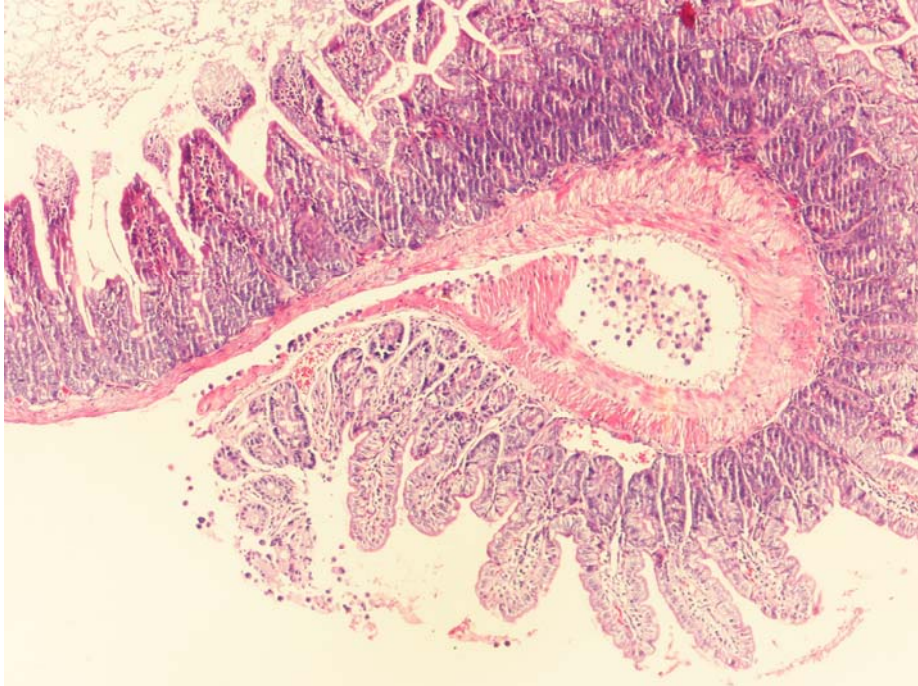
Şekil 4.3: (-) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Karaciğer Dokusu Kesiti



Şekil 4.4: (-) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Mide Dokusu Kesiti

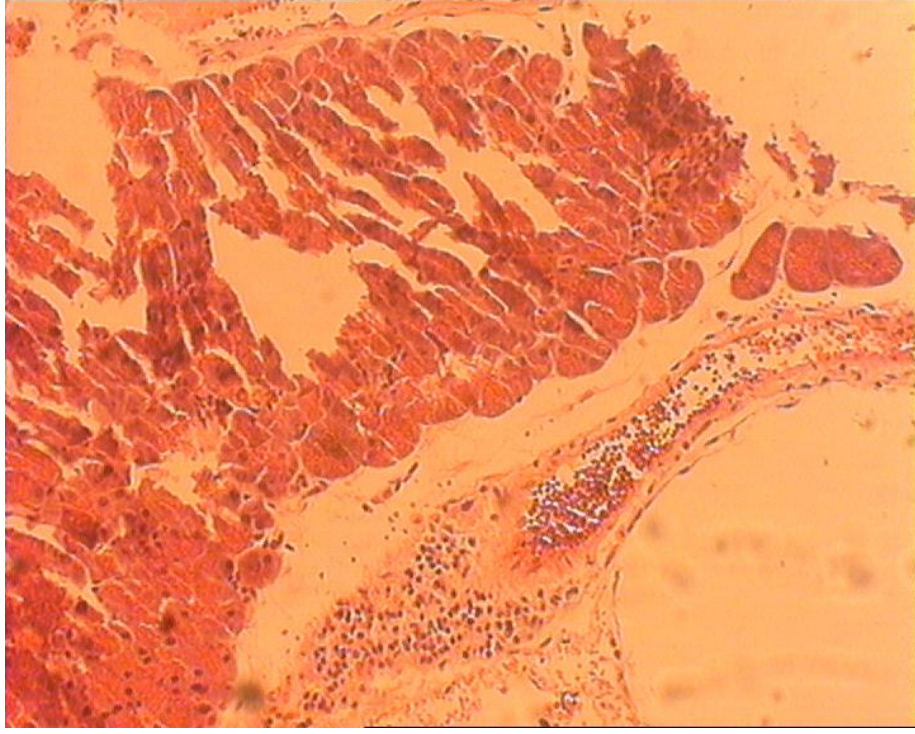


Şekil 4.5: (-) Kontrol Grubuna Ait Nekroze Olmuş İnce Barsak Doku Kesiti

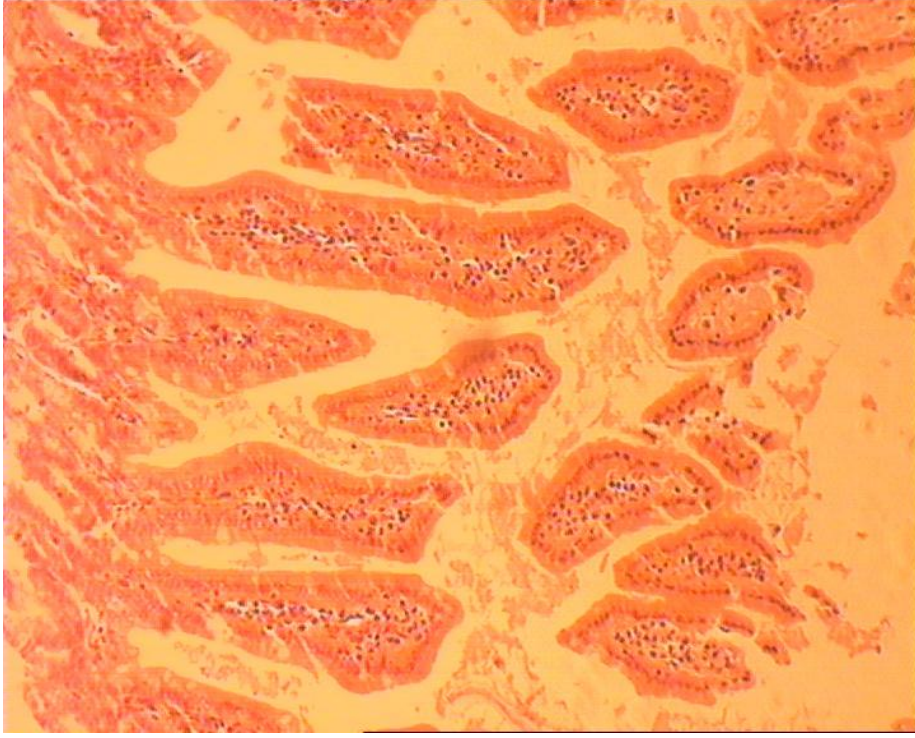


Şekil 4.6: (-) Kontrol Grubuna Ait Tümör Hücreleri Tarafından İnvaze Olmuş Kalın Barsak Doku Kesiti

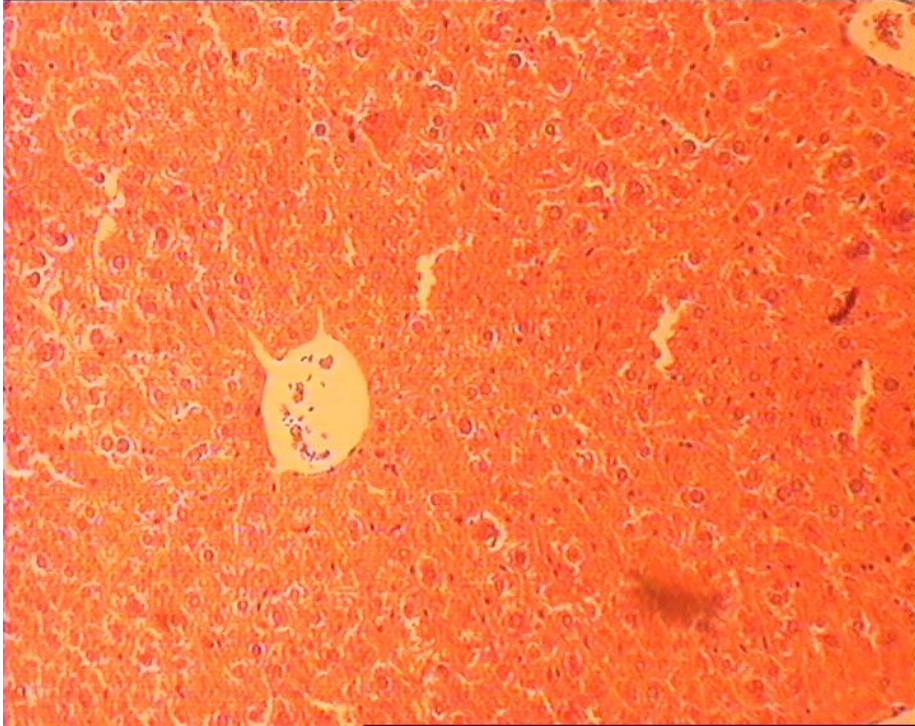
Tümör inokülasyonunun yapılmadığı sağlıklı hayvanlardan oluşan (+) kontrol grubuna ait ince ve kalın bağırsak dokularının histo-patolojik incelemesinde dokuların hiçbir patolojik durum bulundurmadığı tespit edilmiştir (şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11).



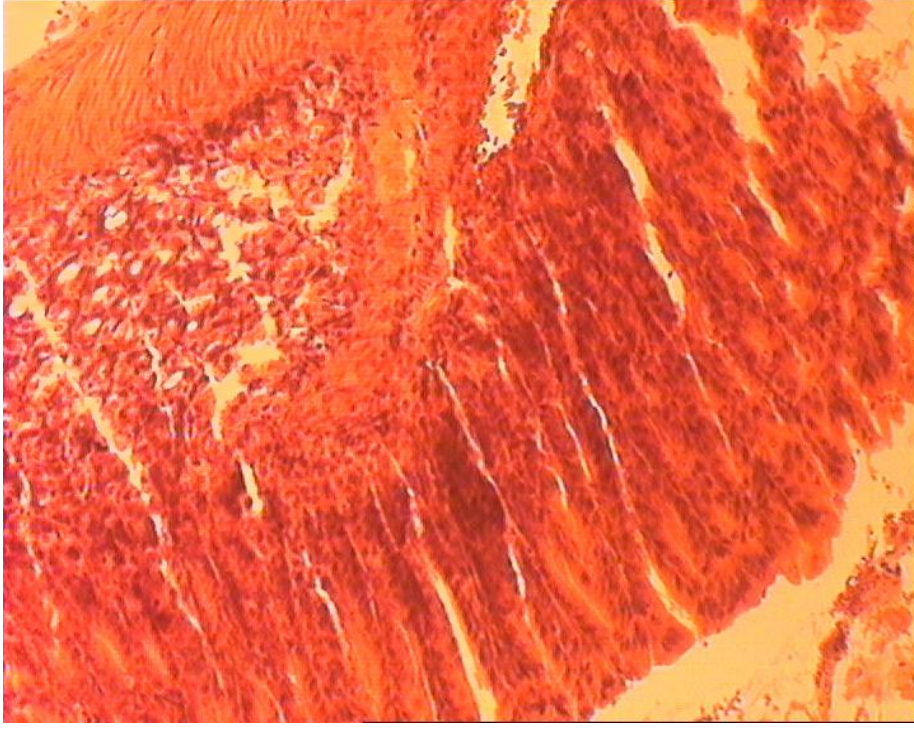
Şekil 4.7: (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip İnce Barsak Doku Kesiti



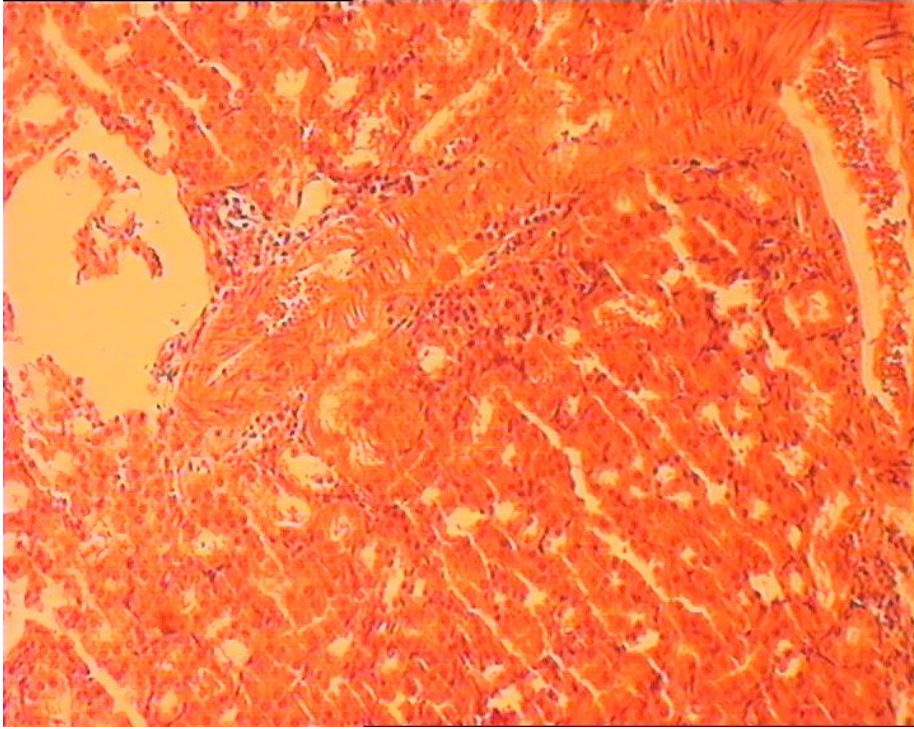
Şekil 4.8: (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Kalın Barsak Doku Kesiti



Şekil 4.9: (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Karaciğer Doku Kesiti

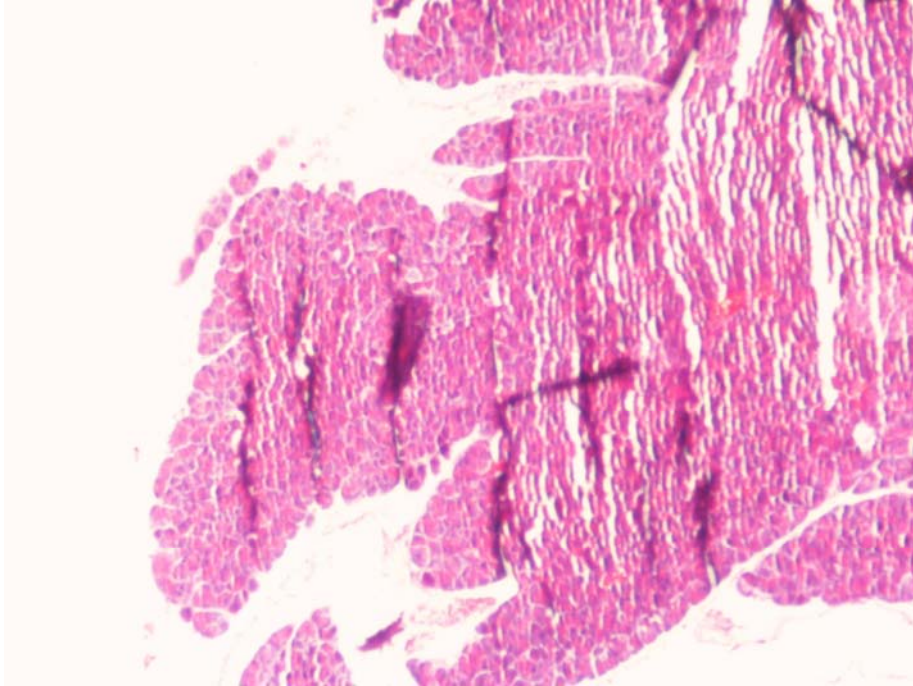


Şekil 4.10: (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Mide Doku Kesiti

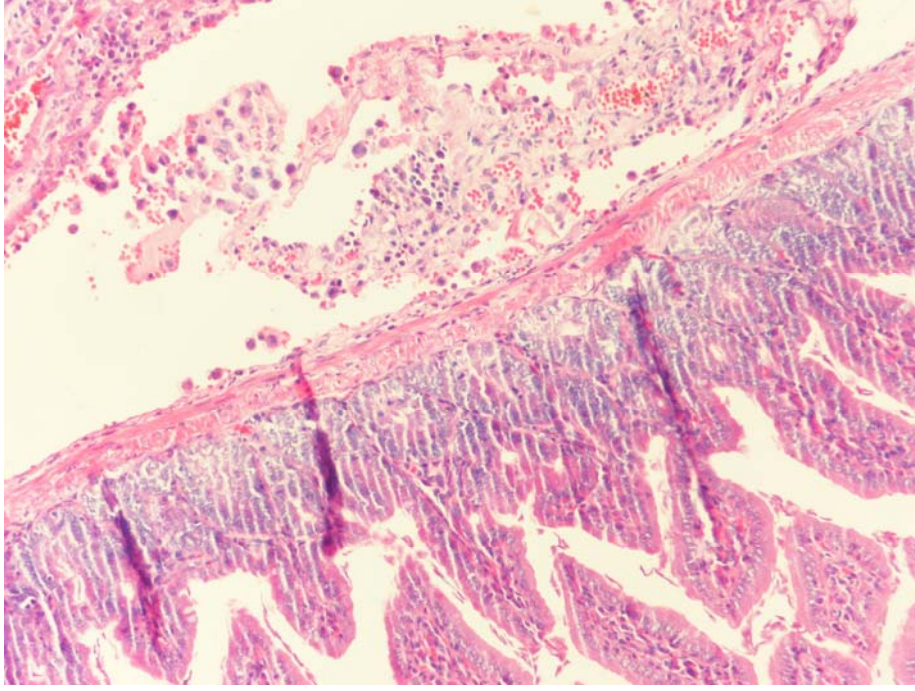


Şekil 4.11: (+) Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Böbrek Dokusu Kesiti

Tümör inokülasyonunu takiben %1'lik *P. major* ekstresi uygulama rejimine tabi tutulan hayvanlardan oluşan I.Gruba ait doku preparatlarında tüm hayvanların ince bağırsak dokularının (-) kontrol grubununkilerle aynı derecede tümör yayılımı gösterdiği belirlenmiştir. Buna rağmen bu grubun kalın barsak doku preparatları incelendiğinde bu gruba ait hayvanların %50'sinin kalın barsak dokularında tümör invazyonuna rastlanmamış, bu dokuların histolojik yapıları normal bulunmuştur. Geriye kalan %50'sinin kalın barsak doku preparatlarında ise tümör hücrelerinin sadece serozada tutulum gösterdikleri diğer üç tabaka (mukoza, submukoza ve muskularis eksterna) da tümör hücrelerinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu grubun kalın barsak doku preparatlarının değerlendirilmesi sonucu elde edilen bu bulgulardan *P. major*'un %1'lik ekstresinin I.Grupta tümör inhibisyonuna neden olduğu görülebilmektedir (Şekil 4.12 ve 4.13).

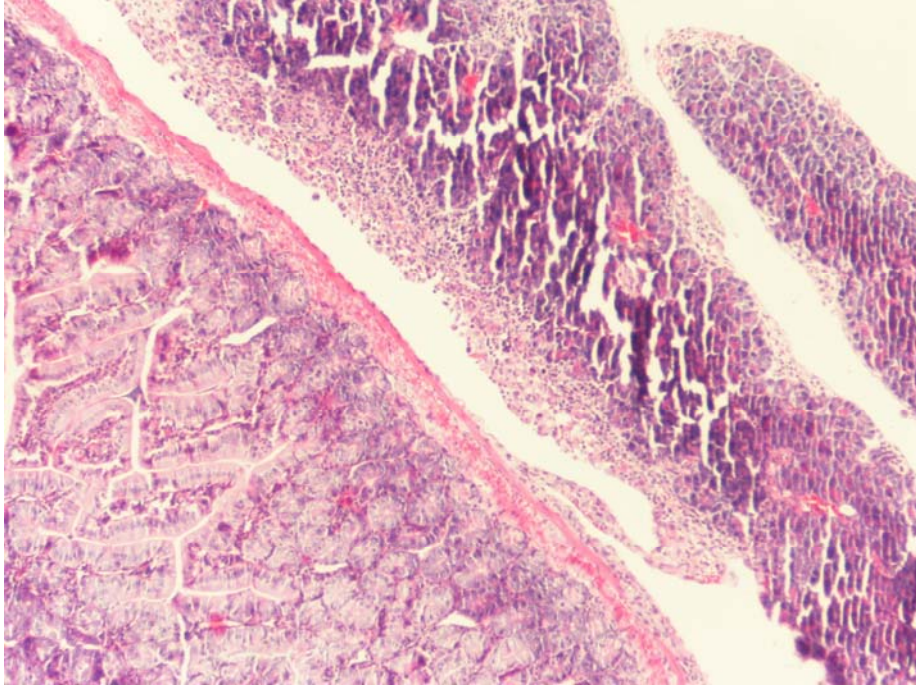


Şekil 4.12: I.Gruba Ait Tamamen Nekroze Olmuş İnce Barsak Dokusu

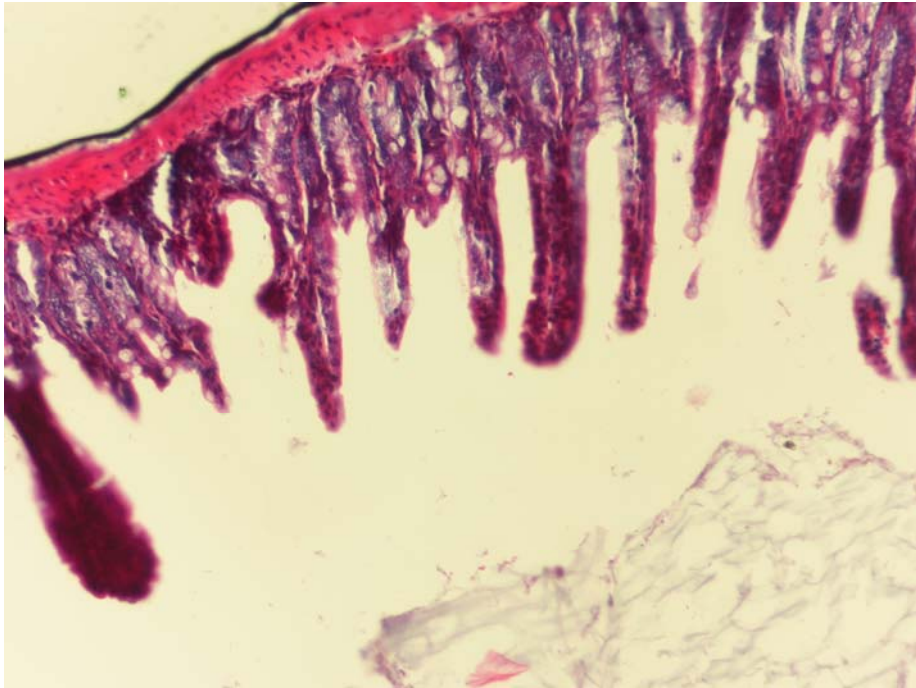


Şekil 4.13: I.Grupa Ait Sadece Serozaya Tutunmuş Tümör Hücrelerinin Görüldüğü Kalın Barsak Doku Kesiti

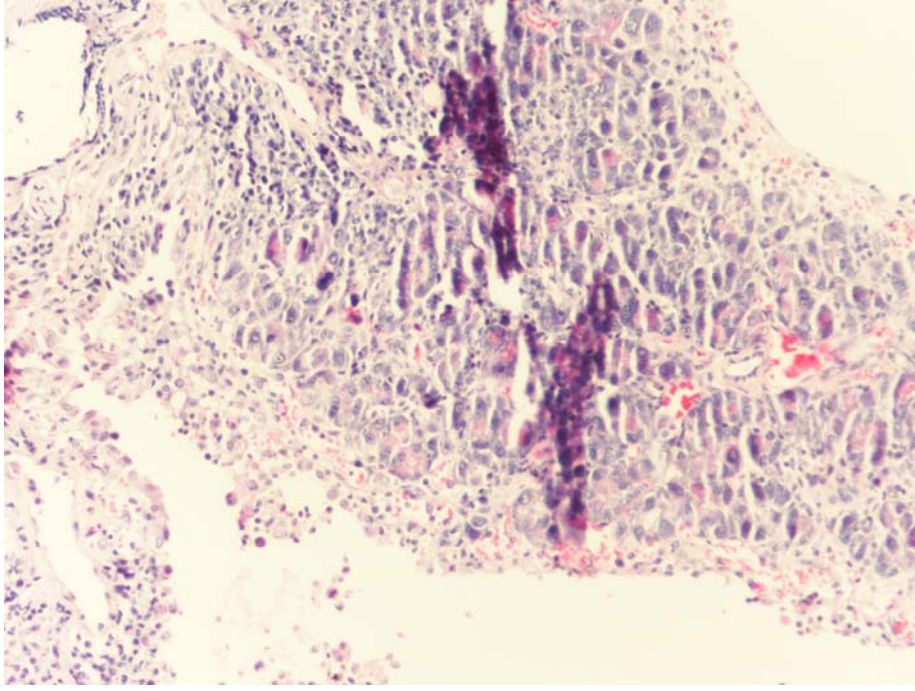
Tümör inokülasyonunu takiben %2'lik *P. major* ekstresi verilen II.Grupta yapılan doku preparat değerlendirmeleri sonucunda ince barsak preparatlarında tümör inhibisyonuna işaret eden bir görüntü alınamamış dokuların tüm tabakalarına tümörün tamamen invaze olduğu kaydedilmiştir. Bu gruba ait kalın barsak preparatlarının değerlendirilmesi neticesinde ise grubun % 33'ünde kalın bağırsak histolojisi normal (tümör oluşumu bulunmayan), %17'sinde sadece serozada tutulum gözlenmiş, %50'sinde ise tüm tabakalara tümör invazyonu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, II.Grupta kısmi bir inhibisyonu işaret etmektedir (şekil 4.14, 4.15 ve 4.16).



Şekil 4.14: II.Gruba Ait Serozaya Tutunmuş Tümör Hücrelerinin Gözlendiği Kalın Barsak Doku Kesiti

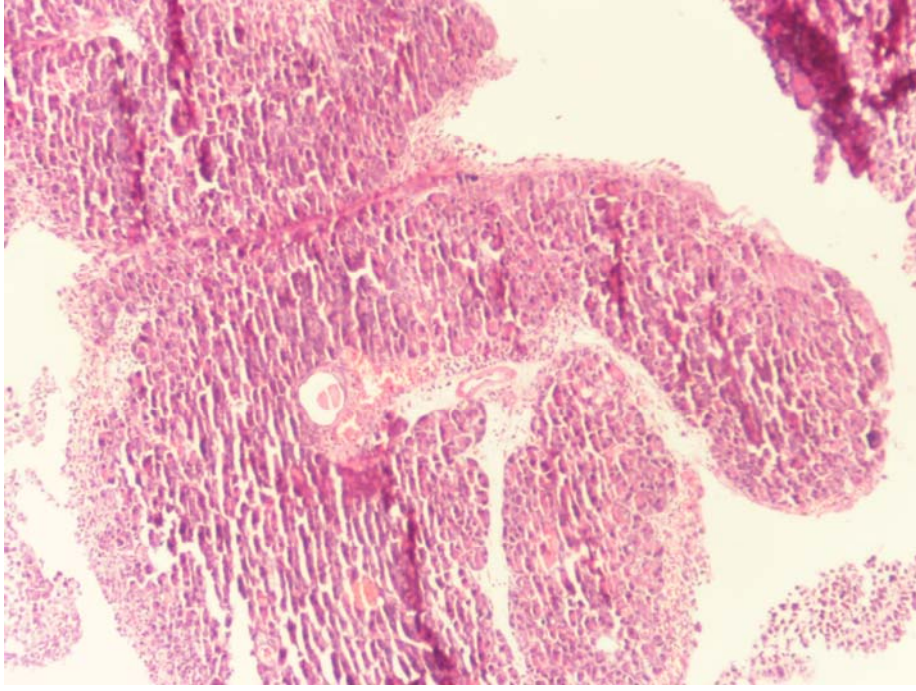


Şekil 4.15: II.Gruba Ait Normal Histolojiye Sahip Kalın Barsak Doku Kesiti

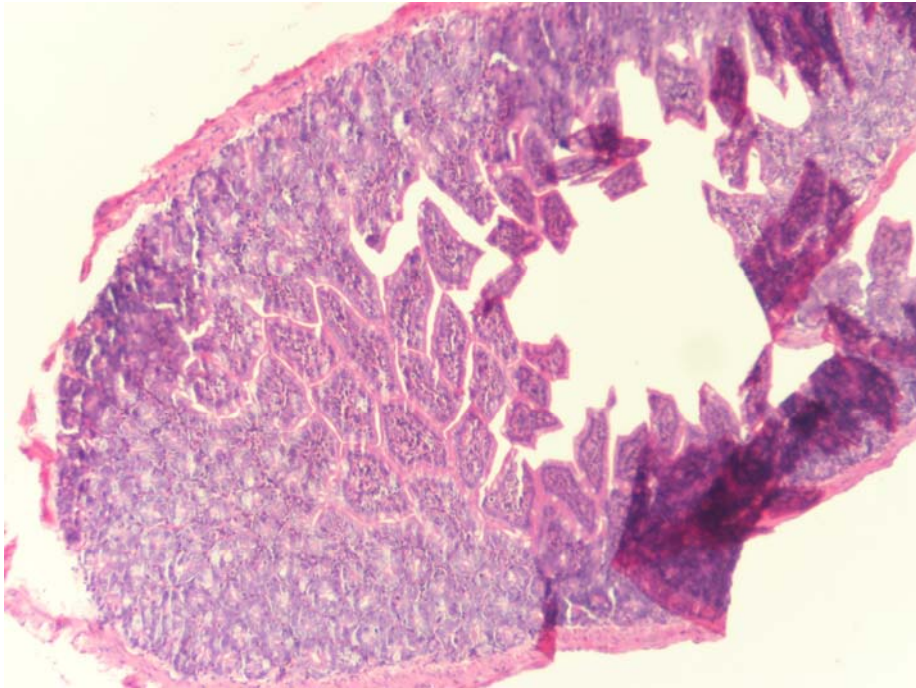


Şekil 4.16: II.Gruba Ait Tüm Tabakalarına Tümör Hücrelerinin İnvaze Olduğu İnce Barsak Dokusu

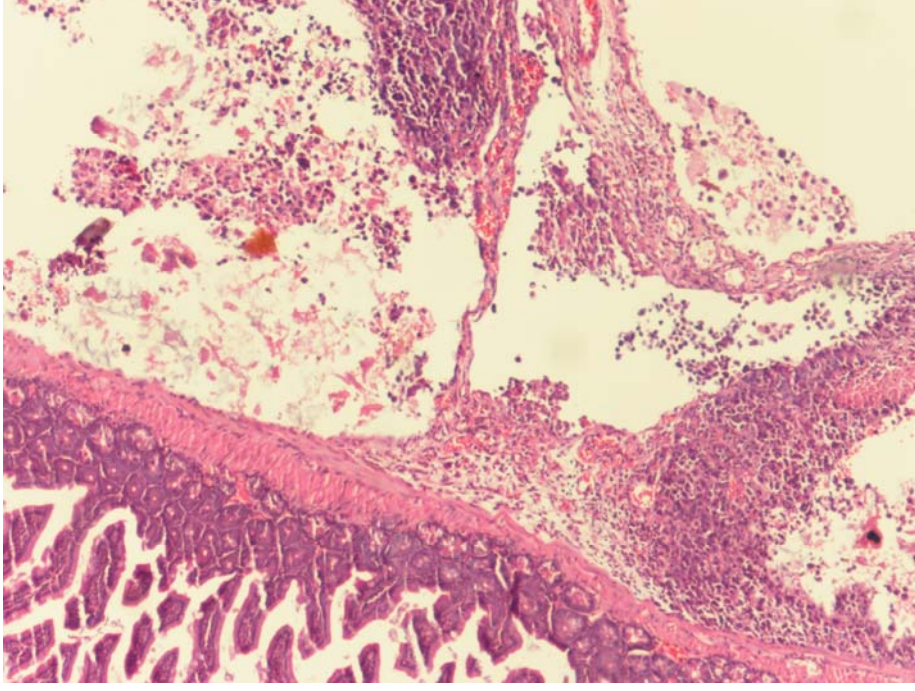
Tümörlü hayvanlara %3'lük *P. major* ham ekstresi uygulanan III.Grup doku preparatları da histo-patolojik olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda bu gruba ait hayvanların ince barsak doku preparatlarında, tümör inokülasyonu yapılan diğer gruplara benzer olarak tüm ince barsak doku tabakalarının tamamen tümörle invaze olduğu tespit edilmiştir. Bu gruba ait kalın barsak preparatlarının incelenmesi neticesinde ise preparatlardan %33,3'ünde tümör inhibisyonuna işaret eden normal histolojik durum, %33,3'ünde sadece serozada tutulum ve geriye kalan %33,3'ünde ise dokunun tüm tabakalarının tümör hücreleri tarafından invaze edildiği gösterilmiştir (şekil 4.17, 4.18 ve 4.19).



Şekil 4.17: III.Gruba Ait Tüm Tabakalarına Tümör Hücrelerinin İnvazyonunun Gözlendiği İnce Barsak Doku Kesiti



Şekil 4.18: III.Gruba Ait Histolojisi Normal Gözlenen Kalın Barsak Doku Kesiti



Şekil 4.19: III.Gruba Ait Seroza Tabakasına Tümör Hücrelerinin İnvaze Olduğu Kalın Barsak Doku Kesiti

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son zamanlarda birçok bitki türünün karsinogenezi etkilediğini bildiren raporlar vardır. Yapılan araştırmalar sonucu söz konusu bitkilerin diyetle katılmasıyla çeşitli kanser türlerinin insidansının azalması arasında bir bağlantı olabileceği görüşü desteklenmektedir. Bu bitkilerden elde edilen etken maddelerin çeşitli deney hayvanlarında karsinogenezi inhibe ettiği rapor edilmiştir. Samuelsen (2000) yaptığı araştırmalar sonucu *P. major*'un kimyasal içeriğini ortaya koymuş ve bu maddelerin etkilerini çalışmıştır.

Bu çalışmada ise *P. major* yapraklarından elde edilen ekstrenin *Mus musculus* Balb/C türü farelerde oluşturulan sıvı Ehrlich ascites tümörüne (EAT) olan antitümöral etkisi araştırılmıştır.

Ascites tümör terimi ilk defa 1927 yılında Hesse tarafından kullanılmıştır (Paul, 1975). Araştırmacı çeşitli deney hayvanlarının peritoneal kavitesinde oluşturduğu tümör sıvısının deney hayvanlarına transplante edildiği zaman biyolojik özelliğini kaybetmediğini göstermiştir. Bundan sonra John ve Koch (1932), Hesse'nin gözlemlerini doğrular düzeyde çalışmalar yapmıştır (Paul, 1975). Yapılan araştırmalar sonucu bazı genel Ascites tümörleri tablo 5.1'de verilmiştir.

Tablo 5.1. Önemli Ascites Tümörleri

Tanımı	Tipi	Bulunduğu Tarih	Kaynağı	Hayvan Türü
6 C3 HED	Ind.Lenfo Sarkoma	1941	Timus	C3H Fare
DBA (Lenfoma) (Dalton)	Sp. Ca.	1947	Timus	DBA Fare
I. 5178	Lenfoma	1952	Timus	DBAz Fare
Ehrlich	Sp. Ca.	1896	Memeli bezi	Bütün farelerde
15091 a	Sp. Ca.	1928	Memeli bezi	Bütün farelerde
Krebzs	Sp. Ca ?	1933	-	Bütün farelerde
TA3	Sp. Ad. Ca.	1948	Memeli bezi	Bütün farelerde
MCIA	Ind. Rabdomiyosarkoma	1945	Kas	C3H Fare
MCIM	Ind. Sarkoma	1946	Kas	C3H Fare
Lenfoma EI. 4	Ind. Lenfoma	1945	-	C57BL
Yoshida	Ind. Sarkoma	1947	Skrotum	Sıçan
MTR Sarkoma II	Ind. Sarkoma	1951	-	Wistar sıçanı
Takeda Sarkoma	Sp. Sarkoma	1952	-	Sıçan
Watonobe	Ind. Hepatoma	1954	-	Sıçan

Sp.: spontan, Ind.; indüklenebilir, Ca.; karsinoma, Ad. Ca.: Adeno karsinoma

Çalışmanın ilk aşamasında *Mus musculus* Balb/C türü farelerde sıvı Ehrlich ascites tümör oluşturulması amaçlanmıştır. Bu amaç için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalından temin edilen 30 gr ağırlığında ve peritonunda sıvı Ehrlich ascites tümörü taşıyan erkek fare kaynak olarak kullanılmıştır. Bu fareden elde edilen EAT sıvısı PBS (Phosphate buffered saline)'de süspansiyon edilmiş ve sıvı içindeki EAT hücre sayısı hemositometrede yapılan sayımla belirlenmiştir. 0,1 ml PBS'de 1×10^6 EAT hücresi olacak şekilde erkek farelerin peritonuna enjekte edilmiştir.

Uzun yıllardan bu yana klinik ve deneysel amaçlı karsinojenik araştırmalarda pek çok metot ve model kullanılmaktadır. Özellikle deneysel çalışmalarda oldukça fazla sayıda tümör modeli ile karşılaşılmaktadır. Üç ayrı model (spontan, indüklenen ve

transplante) içinde transplante edilebilen tümör çeşitlerinin daha çok tercih edildiği gözlenmektedir. Bununla beraber, uygulama kolaylığına sahip transplante edilebilen tümörler açısından da çok çeşitlilik söz konusudur.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında; mevcut tümör çeşitleri arasından EAT seçilmiştir. Çalışmada seçilen tümör modeli, deney hayvanının türü, cinsiyeti ve yaşı literatüre dayandırılarak belirlenmiştir. Zeybek (1996) çalışmasında EAT'nin Balb/C soyu farelerde tutma oranını %90-100 arası bulmuştur. Bu soyun dişilerinde bu oran %90 civarında iken erkek farelerde %100'dür ve tümör tutma zamanı erkek farelere göre dişilerde daha uzun olarak tespit edilmiştir. Tümör inokülasyonu için uygulanan 1×10^6 EAT hücre sayısı ise deney hayvanlarında en yüksek ağırlık farkını oluşturan $1,2 \times 10^6$ hücre sayısına en yakın tam değer olduğu için tercih edilmiştir.

Çalışmanın ikinci kademesinde ise *P. major*'dan sıcak su ekstraksiyonu ile antitümöral etkisi denenecek ekstre elde edilmiştir. Bitki ekstresini elde ederken infüzyon metodu kullanılmıştır. Bu yöntemle ham ekstre elde edilmiştir. İnfüzyon metodu bitkilerin yaprak, çiçek ve diğer yumuşak dokuları için kullanılır ve bu yöntemle sadece suda çözünebilen bileşikler elde edilebilir. Taninler, glikozitler ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun bir yöntemdir fakat uçucu yada uçucu olmayan yağlar yada alkoloidler için uygun değildir. Bu yöntemin dezavantajı da tüm terapötik içeriklerin elde edilememesidir. Bunun yanı sıra bir avantajı ise ilacın ilk olarak potansiyel toksik olan ajanlarının deaktive edilebileceği karaciğere uğramasıdır. Bu metodun diğer özellikleri absorpsiyon yolunun oral ve absorpsiyon membranının gastrointestinal sistem mukozası olmasıdır.

P. major'un bu ekstresinin anti-ülserojenik, antibiyotik, antioksidan, anti-enflamatuvar ve analjezik, diüretik, hipotansif ve toksik etkileri araştırılmıştır. Literatürde *P. major*'un diğer ekstrelerinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışmalar da rapor edilmiştir. *P. major*'un anti-ülserojenik aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada *P. major*'un metanolik ve su ekstresi kombinasyonunun ülseri %40, su ekstresinin %37 ve matanolik ekstrenin %29 inhibe ettiği rapor edilmiştir (Yesilada vd., 1993). *P. major*'un immün-modülatör etkisi elde edilen tuz ekstresiyle çalışılmıştır ve çalışma sonucunda *P. major*'un nötrofiller üzerine kemotaktik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Basaran vd., 1997). *P. major*'un in vitroda birçok anti-infektif testi yapılmıştır. Bu testlerden antibiyotik ve anti-fungal aktivite testinde

metanolik ekstrenin *Salmonella typhimurium*'a karşı çok aktif, MRSA ve *Mycobacterium phlei* bakterilerine karşı daha zayıf olduğu ve *Fusarium tricuictum* ve *Microsporum gypseum* mantarlarına karşı aktif fakat *Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae* mantarlarına karşı daha zayıf olduğu bildirilmiştir. %50'lik etanol ekstresinin ise *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Shigella dysenteriae* ve *Escherichia coli*'ye karşı aktif olduğu, %70'lik etanolik ekstrenin ise *Shigella flexneri*'ye karşı çok aktif, *S. aureus*, *Shigella sonnei*, *E. coli*, *Mycobacterium smegmatis*'e karşı ise zayıf aktif olduğu rapor edilmiştir. Anti-giardiasik aktivite çalışmasında *P. major* tuz ekstresinin *Giardia duodenalis* trofozoitleri üzerine mortalitesinin (+) kontrol tinidazol seviyesinde olduğu bulunmuştur (Ponce-Macotela vd., 1994). *P. major*'un antimalaryal aktiviteye sahip olduğu, tüm bitkinin diklorometan ekstresinin multi-ilaç direnci olan *Plasmodium falciparum* K₁ suşuna karşı in vitroda bazı etkilere sahip olduğunun, petrolyum eter ve metanolik ekstresinin küçük etkilere sahip olduğunun gösterilmesiyle bildirilmiştir (Weenen vd., 1990). *P. major*'un içeriğinde bulunan ferulik asit ve kafeik asidin in vitroda HSV-2'ye karşı antiviral aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Bourne vd., 1999). *P. major*'un anti-enflamatuvar ve analjezik etkiye sahip olduğu da yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalarda *P. major* yapraklarının sıvı ekstresinin fare ve ratlarda prostaglandin sentezine bağlı anti-enflamatuvar ve analjezik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Guillen vd., 1997). *P. major* bitki poşet çayı ve *P. major* yapraklarından yapılan infüzyonların varlığında ilk oluşmuş 2,2'-azinobiyos (3-etilbenziazolinesulfonik asit) radikal katyon absorbansının beyazlamasıyla antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. *P. major*'un çay infüzyonu siyah çayla kıyaslandığında küçük miktarlarda serbest radikal süpürücü içerdiği rapor edilmiştir (Campos ve Lissi, 1995). Farklı bir çalışmada, *P. major*'un diüretik etkisi araştırılmıştır ve orta derecede diüretik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Caceres vd., 1987a). *P. major*'un hipotansif ve hipoglisemik etkileri de çalışılmıştır fakat sonuçlar önemli bulunmamıştır (Schmeda-Hirschmann vd., 1992; Rodriguez vd., 1994). *P. major*'un biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan bu çalışmaların yanı sıra *P. major*'un toksik etkisi de araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda, *P. major*'un oral ve i.p. uygulandığında ratlarda düşük toksisiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Angelov vd., 1980). Laboratuvar fareleri bitkilerde oluşan toksik maddelere karşı hassastırlar. Artan miktarlarda ekstraktların verilmesi toksisite limitinin belirlenmesine olanak sağlar. Para vd. (2001)'nin yaptığı çalışmada, *P.*

major'un farelerde yapılan akut toksisite in vivo denemesi sonucu LD₅₀: 182, 54 mg/kg bulunmuştur. Bu ekstrenin düşük toksisiteye sahip olması ve yukarıda kısaca özetlenen çalışmalardaki biyolojik aktiviteleri göz önüne alınca kanserde ve etkili olduğu hastalıklarda bir ilaç ham maddesi olarak değerlendirilebileceği görüşündeyiz.

P. major'un anti-kanserojen etkileri değişik araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Hartwell, bitkilerin kanser hücrelerine karşı insanlar tarafından kullanımı üzerine olan çalışmasında (Duke, 1985; Hartwell, 1982) *P. major*'un kullanımını yayınlamışlardır. Bundan başka, tümör tedavisinde *P. major*'un geleneksel kullanımının yeniden incelenmesi Kanada Adaları, Şile; Venezuela ve Panama'da kullanıldığını gösterir (Samuelson, 2000). Bu çalışmalara göre *P. major*'un anti-metastatik aktivitesi olduğu (Yaremenko, 1990), farelerde meme kanseri üzerine profilaktik etkiye sahip olduğu (Lithander, 1992) rapor edilmiştir. Bunun yanı sıra Rufa vd. (2001), *P. major* metanolik ekstresinin 15,5-1000 µg/ml dozlarında HepG2 üzerine hiçbir inhibitör etkisi bulunmadığını göstermişlerdir.

P. major ekstresinin *Mus musculus* Balb/C türü farelere sıvı EAT oluşumunu engelleyip engellemediğini göstermek amacı ile 1×10^6 sıvı EAT verildikten sonra uygulanan *P. major* ekstresinin etkisi ile deney hayvanlarında sıvı EAT'nin inhibisyonu gözlenmiştir. Bu inhibisyon hem deneme süresince hayvanlardaki ağırlık artışının gözlenmesiyle hem de hayvanlardan çıkarılan dokuların preparasyonu neticesinde yapılan değerlendirmelerle belirlenmiştir.

Çalışma süresince tüm deney hayvanlarının ağırlık değişimlerinin kaydedilmesi sonucu elde edilen değerlerde tümör transplante edilen deney gruplarında tümör yüküne bağlı olarak kilo artışı gözlenmiştir. Tümör inokülasyonu yapılmayan (+) kontrol grubundaki ağırlık artışı 0,713 gr olarak kaydedilmiştir. Bu değer sağlıklı hayvanların 10 gün içerisinde ne kadar ağırlık değişimi gösterdiğini vermektedir. Bu değere kıyasla, sadece tümör transplante edilmiş (-) kontrol grubunda kaydedilen ağırlık artışı ise deney grupları arasındaki en fazla ağırlık artışı değeri olan 5,221 gr olarak ölçülmüştür. (-) Kontrol grubu ile (+) kontrol grubunun ağırlık artışları arasındaki bu büyük fark (-) kontrol grubu hayvanlarının tümör yükünden kaynaklanmaktadır. Bu iki grubun yanı sıra hem tümör inokülasyonu yapılan hem de farklı konsantrasyonlarda *P. major* ekstresi uygulanan diğer üç deneme grubunun da

ağırlık artışları kaydedilmiştir. Elde edilen değerler kıyaslandığında bu üç grubun ayrı ayrı ağırlık artışları (-) kontrol grubuna oranla daha az bulunmuştur. %1'lik *P. major* ekstresi verilen I. Grupta 2,450 gr, %2'lik ekstre uygulanan II. Grupta 3,129 gr ve %3'lük ekstre verilen III. Grupta ise 3,900 gr olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak Grup I, II ve III'de tümör yüküne bağlı kilo artışının (-) kontrol grubuna göre daha az olduğu dolayısıyla bu gruplarda bir tümör inhibisyonunun olduğu sonucuna varılabilir. En az ağırlık artışının I. Grupta kaydedilmesiyle, en az tümör yükünün bu grupta olduğu dolayısıyla en çok inhibisyon gözlenen grubun I. Grup olduğu bulunmuştur. I. Gruptan sonra en fazla inhibisyon görülen gruplar sırasıyla II. Grup ve ardından III. Gruptur. Deneme grupları arasında en az inhibisyonun gözlendiği III. Gruptaki tümör inhibisyonu bile önemli sayılacak kadar anlamlı bulunmuştur.

Deneme süresi içerisinde hiçbir grupta mortalitenin görülmeşi ekstrenin bu konsantrasyonlarda mortaliteye neden olacak bir toksik etkisinin bulunmadığını gösterir. *P. major* ekstresinin uygulama rejimi sona erdikten sonra sakrifiye edilen hayvanların mide, karaciğer, böbrek, ince barsak ve kalın barsak dokuları çıkarılmıştır. Bu dokulardan hazırlanan preparatların patolojik değerlendirmeleri yapılmıştır. (+) Kontrol grubunu oluşturan hayvanlardan çıkarılan dokuların tümü sağlıklı bulunmuş ve hiçbir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Aynı şekilde değerlendirmeler neticesinde tüm gruplara ait mide, karaciğer ve böbrek doku preparatlarının hiçbirinde de patolojik bir bulguya rastlanmamıştır. Buradan peritona transplante ettiğimiz sıvı tümörün bu dokulara invaze olmadığı sonucuna varılmıştır.

(-) Kontrol grubundan çıkarılan diğer iki doku (ince ve kalın barsak dokuları)'nda ise tümör hücrelerinin geniş bir invazyonu gözlenmiştir. Buradan da peritona inoküle edilen sıvı EAT'nin invaze ettiği dokuların ince ve kalın barsak dokuları olduğu sonucu doğmuştur. Dolayısıyla gruplar arasında tümör inhibisyonunun değerlendirilmesinde bu gruplara ait ince ve kalın barsak dokuları dikkate alınmıştır.

P. major ekstresi uygulanan diğer tüm deneme grupları (I, II ve III)'nda ince barsak preparatlarının (-) kontrol grubununkiyle aynı derecede tümör hücreleri tarafından invaze olduğu tespit edilmiştir. Ekstreden kaynaklanan inhibisyon farkı sadece kalın barsak dokularında bulunmuştur. EAT, bu dokulara peritondan invaze olduğu için yayılımı da bu dokuların seroza tabakasından mukoza tabakasına doğru olmuştur.

İnce barsak kesitlerinde dokunun tüm tabakalarının (mukoza, submukoza, muskularis eksterna ve seroza) tümörle invaze olduğu gözlenirken kalın barsak preparatlarının kimisinde sadece serozaya tutunmuş tümör hücreleri kimisinde tüm tabakaların invazyonu gözlenmiş kimisinde ise hiçbir patolojik durum gözlenmemiştir. Kalın barsak preparatlarında gözlenen bu farklı patolojik tablolar sayesinde gruplar arası tümör inhibisyon dereceleri yorumlanabilmiştir.

I.Gruba ait kalın barsak doku preparatlarının %50'sinde hiçbir patolojik bulguya rastlanmamış, %50'sinde ise sadece serozaya tutunmuş tümör hücreleri tespit edilmiştir. Bu grup en fazla tümör inhibisyonunun gözlendiği gruptur.

II.Grup kalın barsak preparatlarının patolojik değerlendirmesi sonucunda bu grubun %33'ünde hiçbir patolojik bulguya rastlanmamış, %50'sinde sadece serozada tümör hücrelerinin tutulumu görülmüş geriye kalan %17'sinde ise tüm tabakaların tümör hücreleri tarafından invaze edildiği tespit edilmiştir. (-) Kontrolle kıyaslandığında bu gruptaki tümör inhibisyonu da dikkat çekicidir fakat I. Grupla kıyaslandığında inhibisyon oranının bir hayli düştüğü de dikkati çekmektedir.

III.Gruba ait kalın barsak doku preparatlarının ise %33,3'ünde dokunun tüm tabakaları tamamen invaze olmuş, %33,3'ünde sadece serozada tümör hücrelerinin tutulumu gözlenmiş ve geriye kalan %33,3'ünde ise hiçbir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Elde edilen oranlar kıyaslandığında III.Grupta tümör inhibisyonunun daha da azaldığı fakat yine (-) kontrolle kıyaslandığında önemli bir inhibisyonun varlığından söz edebiliriz.

P. major ekstresinin farklı dozları uygulanan deney gruplarının ince ve kalın barsak preparatları arasında bir kıyaslamaya gidildiğinde tüm grupların ince barsak preparatlarında hiçbir inhibisyon görülmeysi ve buna rağmen her grupta farklı oranlarda da olsa kalın barsak preparatlarında inhibisyon görülmesi peritona ekilen tümörün önce ince barsağı invaze ettiği oradan da kalın barsağa doğru bir yayılış gösterdiği şeklinde yorumlanabilir. Buna dayanarak *P. major* ekstresinin tümörün yayılımını engellediğini söyleyebiliriz. Bu inhibisyon *P. major* ekstresinin doz farklılıklarına bağlı olarak değişmektedir. En fazla inhibisyon I.Grupta gözlenmiş ondan sonra sırasıyla II.Grup ve ardından III.Grup gelmektedir. Dolayısıyla doz

artışına bağlı olarak inhibisyonun azaldığı ve denenen konsantrasyonlar arasında etkin dozun %1 veya daha altında bir değer olduğu sonucu doğmuştur.

P. major ekstresinin EAT üzerine inhibisyonunu tespit etmek ve dozlar arasındaki inhibisyon derecelerini ölçmek amacıyla yaptığımız iki farklı değerlendirmenin sonucu birbiriyle uyumlu bulunmuştur. Hayvanlardaki tümör inhibisyonuyla ilişkilendirdiğimiz kilo artışlarındaki farklılıklar tümör inhibisyonunun Grup I > Grup II > Grup III sıralamasında olduğunu göstermiştir. Patolojik değerlendirmeler neticesinde elde edilen inhibisyon derecesi de yine aynı sırayla Grup I > Grup II > Grup III şeklinde bulunmuştur. Bu iki değerlendirmenin neticelerinin bu şekilde uyumlu olması doz artışıyla birlikte inhibisyon derecesinin azaldığını ve etkin dozun %1'lik *P. major* ekstresi dozu olduğunu ispatlar niteliktedir.

Yapılan literatür araştırmasında, *P. major*'un benzoik bileşik (vanillik asit), flavonoidler (baikalein, baikalin, luteolin), iridoid glikozit (okubin), fenolik bileşikler (kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit ve p-kumarik asit) ve triterpenler (oleanolik asit, ursolik asit) olarak adlandırılan biyolojik yönden aktif bileşiklerin 5 sınıfını içerdiği gösterilmiştir (Duke, 1992; Samuelson, 2000). *P. major*'un suda çözünebilir fenolik bileşikleri (kafeik asit, ferulik asit, klorojenik asit ve p-kumarik asit)'nin antiviral etki gösterdiği rapor edilmiştir (Chiang vd., 2001). Bunun yanı sıra *P. major* ham sıvı ekstresinin ve fenolik bileşiklerinin %75'inin in vitroda insan periferik mononükleer hücrelerinden interferon sekresyonunu sağlayan böylelikle güçlü immün stimülasyon aktivite gösterdiği bulunmuştur (Chiang vd., 2001). *P. major*'un hücrel immüniteyi ve interferon salgısını arttıran bu bileşikler antitümöral etkinin oluşmasında da rol oynayabilirler. *P. major*'un yapısında bulunan flavonoidlerin kanser gelişimini önlediği yada inhibe ettiği hipoteziyle ilgili birçok çalışma vardır (Hertog vd., 1993; Hertog, 1996). Flavonoidlerin sitotoksik etkisi DNA kırıklarıyla ilişkilendirilir, bundan başka bazı flavonoidlerin topoizomera I ve II aracılı DNA kırık komplekslerini indüklediği gösterilmiştir (Boege vd., 1996; Martin-Cordero vd., 2000; Lopez-Lazaro vd., 2000, 2002). Bu nedenle, topoizomera aracılı DNA hasarı bazı flavonoidlerin oluşturduğu sitotoksik potansiyel tarafından meydana getirilen ikinci bir aday mekanizmadır. Çalışmamızda, *P. major* ekstresinin yapısının aydınlatılması yönünde gidilmediğinden bu konu tartışma dışı bırakılmıştır. Sonuç olarak diyebiliriz ki; *P. major* ekstresinin *Mus musculus* Balb/C türü farelerde

oluşturulan sıvı EAT'ye karşı tümör yayılımını inhibe edici etkisi olduğu sonucu elde edilmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, *Mus musculus* Balb/C türü farelerde oluşturulan sıvı EAT'nin *P. major* ekstresinin etkisi ile tedavi edilebileceği izlenimi elde edilmiştir. Ancak *P. major* ekstresindeki aktif madde veya maddelerin tanımının ve bu maddenin/maddelerin direk etkisinin incelenmesinin konuya açıklık kazandıracaağı inancındayız. Bu nedenle, elde edilen bulgulara göre *P. major* bitkisi içeriğinin ayrıştırılarak, her bir madde yada maddeler kombinasyonunun EAT'ye karşı etkisinin çalışılması araştırmanın pratikte kullanılabilir hale getirilmesi açısından son derece önemlidir.

Sonuç olarak; bu çalışmayla *P. major* bitkisinin EAT zerine etkili bir tedavi edici ajan olduğu belirlenmiş olup yeni planlanacak çalışmalarla in vivoda aktif madde ve dozaj durumları belirlenmelidir.

KAYNAKLAR

Aktaş, E. (1996). Ehrlich Asit Sıvısının L-Hücrelerinin Çoğalma Hızına Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.

Altun, S. (1996). Normal, Tümoral ve Rejeneratif Büyümler Arasındaki Kinetik İlişkiler. *Traditional Journal of Biology*, Tübitak, **20(3)**, 153-173.

Andrzejewska-Golec, E. ve Swiatek, L. (1984). Badania Chemotaksonomiczne Rodzaju *Plantago* I. Analiza Frakcji İrydoidow. *Herba Polonica* **30**, 9-16.

Andrzejewska-Golec, E., Ofterdinger-Daegel, S., Calis, I. ve Swiatec, L. (1993). Chemotaxonomic Aspects of İridoids Occuring in *Plantago* Subgenus *Psyllium* (Plantaginaceae). *Plant Systematic Evolutionary* **185**, 85-89.

Andrzejewska-Golec, E. (1995). The Occurence of İridoids in Plants, *Acta. Soc. Bot. Pol.* **64**, 181-186.

Andrzejewska-Golec, E. (1997). Taxonomic Aspects of the İridoid Glucosides Occuring in the Genus *Plantago* L. *Acta. Soc. Bot. Pol.* **66**, 201-205.

Arimura, T., Kojima-Yuasa, A., Watanabe, S., Suzuki, M., Kennedy, D.O., Matsui-Yuasa, I. (2003). Role of İntracellular Reactive Oxygen Species and Mitochondrial Dysfunction in Evening Primrose Extract-İnduced Apoptosis in Ehrlich Ascites Tumor Cells. *Chemico-Biological Interactions* **145**, 337-347.

Atta, A.H., Abo El-Sooud, K. (2004). The Antinociceptive Effect of Some Egyptian Medicinal Plant Extracts. *Journal of Ethnopharmacology* **95**, 235-238.

Balint, Z., Holczinger, L. (1984). Changes in Lipoprotein Lipase Activity (LPLA) in Tumor Cells and Tissues in Mice Bearing Ehrlich Ascites Tumor, *Bull. Cancer*, **71(5)**.

- Benndorf, R., Nurnberg, P., Bielka, H. (1988). Growth Phase-Dependent Proteins of the Ehrlich Ascites Tumor Analyzed by One-and-Two-Dimensional Electrophoresis. *Experimental Cell Research* **174**, 130-138.
- Bhakuni, D.S., Dhar, M.L., Dhar, M.M., Dhawan, B.N. ve Hehrotra, B.N. (1969). Screening of Indian Plants for Biological Activity. Part II. *Indian Journal of Experimental Biology* **7**, 250-262.
- Bhattacharyya, A., Mandal, D., Lahiry, L., Sa, G., Das, T. (2004). Black Tea Protects Immunocytes From Tumor-Induced Apoptosis by Changing Bcl-2/ Bax Ratio. *Cancer Letters* **209**,147-154.
- Bianco, A., Guiso, M., Passacantilli, P., Francesconi, A. (1984). Iridoid and Phenylpropanoid Glycosides From New Sources. *Journal of Natural Products* **47**, 901-902.
- Bichel, P. (1970). Tumor Growth Inhibiting Effect of JB-1 Ascitis Fluid-1, An In Vivo Investigation, *European Journal of Cancer* **6**, 291.
- Bichel, P. (1971). Autoregulation of Ascites Tumour Growth by Inhibition of the G-1 and the G-2 Phase. *European Journal of Cancer* **7**, 349-355.
- Bocek, B.R. (1984). Ethnobotany of Costanoan Indians, California, Based on Collections by John P. Harrington. *Economic Botany* **38**, 241-255.
- Bohm, H., Boeing, H., Hempel, J., Raab, B., Kroke, A. (1998). Flavonois, Flavones and Anthocyanins as Native Antioxidants of Food and Their Possible Role in the Prevention of Chronic Diseases. *Zeitschrift Fur Ernährungswissenschaft* **37**, 147-163.
- Bourne, K.Z., Bourne, N., Reising, S.F., Stanberry, L.R. (1999). Plant Products as Topical Mikrobicide Candidates; Assessment of in vitro and in vivo Activity Against Herpes Simplex Virus Type 2. *Antiviral Research* **42**, 219-226.
- Boyd, J.N., Babish, J.G., Stoewson, G.S. (1982). Modification by Beet and Cabbage of Aflatoxin B₁ Induced Rat Plasma α -Fetoprrotein Elevation, Hepatic Tumorogenesis and Mutagenicity of Urine. *Food Chemistry Toxicology* **20**, 47-50.

- Brandao, M., Botelho, M., Krettli, E. (1985). Antimalarial Experimental Chemotherapy Using Natural Products. *Ciencia E Cultura* **37**, 1152-1163.
- Brondeggard, V. J. (1987). *Folk Og Flora*. Vol. 4. Rosenkilde and Bagger, Kobenhavn, pp. 68-77.
- Bulan, Ö. (1990). Ehrlich Ascites Tümör Hücrelerinde Yaşlanma ile Hücre Kinetigi Arasındaki İlişkiler. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Burns, E.R. (1968). Initiation of DNA Synthesis in Ehrlich Ascites Tumor Cells in Their Plateau Phase of Growth. *Cancer Research* **28**, 1191-1196.
- Burns, E.R. (1969). On the Failure of Self-Inhibition of Growth in Tumors. *Growth* **33**,25.
- Burns, E.R., Solofy, B.L. (1970). Further Studies on the Recurrent Growth of the Ehrlich Ascites Tumor. *Anat. Rec.* **166**, 285.
- Burns, E.R., Yeh, H., Yeh, Y. (1983). Initiations of DNA Synthesis in the Parotid Salivary Gland of Adult Mice by a Factor Isolated From Acellular Fluid of Ehrlich Ascites Carcinoma *Bioscience Reports* **3(2)**, 113-125.
- Bustos, D.A., Tapia, A.A., Feresin, G.E., Espinar, L.A. (1996). Ethnopharmacobotanical Survey of Bauchazeta District, San Juan Province, Argentina. *Fitoterapia* **5**, 411-415.
- Caceres, A., Giron, L.M., Martinez, A.M. (1987a). Diuretic Activity of Plants Used for the Treatment of Urinary Ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology* **19**, 223-245.
- Caceres, A., Giron, L.M., Alvarado, S.R., Torres, M.F. (1987b). Screening of Antimicrobial Activity of Plants Populary Used in Guatemala for the Treatment of Dermat mucosal Diseases. *Journal of Ethnopharmacology* **20**, 223-237.

Caceres, A., Cano, O., Samayoa, B., Aguilar, L. (1990). Plants Used in Guatemala for the Treatment of Gastrointestinal Disorders. A. Screening of 84 Plants Against Enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology* **30**, 55-73.

Caceres, A. (1996). *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala*, 1^a ed, 61, 67, 167, 236, 283, 325, 328.

Campos, A.M., Lissi, E.A. (1995). Evaluation of the Antioxidant Capacity of Herbal Teas by a Procedure Based on the Bleaching of ABTS Radical Eations. *Boletin de la Sociedad Chilena de Quimica* **40**, 375-381.

Chang, I.M., Yun, H.S., Kim, Y.S., Ahn, J.W. (1984). Aucubin: Potential Antidote For Alpha-Amanitin Poisoning. *Clinical Toxicology* **22**, 77-85.

Chang, R.S., Yeung, H.W. (1988). Inhibition of Growth of Human Immunodeficiency Virus In vitro by Crude Extracts of Chinese Medical Herbs. *Antiviral Research* **9**, 163-176.

Chang, I.M. (1997). Antiviral Activity of Aucubin Against Hepatitis B Virus Replication. *Phytotherapy Research* **11**, 189-192.

Chang, I.M. (1998). Liver-Protective Activites of Aucubin Derived From Traditional Oriental Medicine. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology* **102**, 189-204.

Chatterton, N.J., Harrison, P.A., Thornley, W.R., Bennett, J.H. (1990). Sucrosloligosaccharides and Cool Temperature Growth in 14 Forb Species. *Plant Physiology and Biochemistry* **28**, 167-172.

Chiang, L.C., Chiang, W., Chang, M.Y., Ng, L.T., Lin, C.C. (2002). Antiviral Activity of *Plantago major* Extracts and Related Compounds In vitro. *Antiviral Research* **55**, 53-62.

Conway, G.A., Slocumb, J.C. (1979). Plants Used as Abortifacients and Emmenagogues by Spanish New Mexicans. *Journal of Ethnopharmacology* **1**, 241-261.

Cordell, G.A., Beecher, C.W., Pezzuto, J.M. (1991). Can Ethnopharmacology Contribute to Development of New Anticancer? *Journal of Ethnopharmacology* **32**, 117-133.

Cragg, G.M., Newmann, D. (1999). Discovery and Development of Antineoplastic Agents From Natural Sources. *Cancer Investigation* **17**, 153-163.

Darias, V., Bravo, L., Barquin, E., Herrera, D.M., Fraile, C. (1986). Contribution to the Ethnopharmacological Study of the Canary Islands. *Journal of Ethnopharmacology* **15**, 169-193.

Davini, E., Lavarone, C., Trogolo, C., Aureli, P., Pasolini, B. (1986). The Quantitative Isolation and Antimicrobial Activity of the Aglycone of Aucubin. *Phytochemistry* **25**, 2420-2422.

Devasagayam, T.P.A., Sainis, K.B. (2002). Immune System and Antioxidants, Especially Those Derived From Indian Medicinal Plants. *Indian Journal of Experimental Biology* **40**, 639-655.

Dewick, P.M. (1989). *Tumour Inhibitors From Plants in "Trease and Evans"* *Pharmacognosy*. Evans W.C.(Ed.). 13 th. Edition . Baillere Tindol, p: 637-43.

Doan, D.D., Nguyen, N.H., Doan, H.K., Nguyen, T.L., et al. (1992). Studies on the Individual and Combined Diuretic Effects of Four Vietnamese Traditional Hermal Remedies(*Zea mays*, *Imperata cylindrica*, *Plantago major* and *Orthosiphon stamineus*). *Journal of Ethnopharmacology* **36**, 225-231.

Donenko, F.V., Kabieva, A.O., Moroz, L.V. (1992). In vivo Model of Ehrlich Carcinoma and Teratoma T-36 Growth by Ascitis Fluid and Dialysate of Ehrlich Tumor Cells. *Biull. Eksperimental Biology Medicine* **114(8)**, 193-195.

Duckett, S. (1980). Plantain Leaf for Poison Ivy. *New England Journal of Medicine* **303**, 583.

Duke, J.A. (1985). *CRC Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Pres International Inc., pp. 272-276.

Ehrlich, P., Apolant, H. (1905). *Beobachtungen Über Maligne Mausentumoren*, Berlin, Klin. Wschr. **28**, 871-874.

Eisner, G. (1931). The Lifesaving Action of Portions of Plants and the Juices Removed From Them in the Case of Otherwise Fatal Subacute Uranium Intoxication. *Biochemistry* **2(232)**, 218-221.

Ekinci, G. (2000). Katı Ehrlich Ascites Tümörünün Büyüme Kinetiği, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

El-Khawaga Om-Ali, Y., Salem, T.A., Elshal, M.F. (2003). Protective Role of Egyptian Propolis Against Tumor in Mice.

Eli Lilly, (1898). *Lilly's Handbook of Pharmacy and Therapeutics*. 5th rev. Eli Lilly and Company, Indianapolis, In 46206, USA.

Estrela, M.J., Hernandez, R., Terradez, P., Asensi, M., Puertes, R., Vina, J. (1992). Regulation of Glutathione Metabolism in Ehrlich Ascites Tumour Cells. *Biochemistry Journal* **286**, 257-262.

Faegri, K. (1970). *Norges Planter: Blomster og Traer i Naturen*. Cappelen, Oslo, Norway.

Fazal, U. (1979). Preliminary Clinical Study of the Treatment of Kastat-e-Tams (Menorrhigie) With Tukhm-e-Bartang (Plantago Major Linn.). *Journal of Research in Indian Medicine Yoga and Homeopathy* **14**, 1-6.

Fecchio, D., Russo, M., Sirois, P., Braquet, P., Jancar, S. (1990a). Inhibition of Ehrlich Ascites Tumor In vivo by PAF Antagonists. *International Journal of Immunopharmacology* **12**, 57-65.

Fecchio, D., Sirois, P., Russo, M., Jancar, S. (1990b). Studies on İnflammatory Response İnduced by Ehrlich Tumor in Mice Peritoneal Cavity. *Inflammation* **14**, 125-132.

Fleurentin, J., Mazars, G., Pelt, J.-M. (1983). Additional Information on the Cultural Background of Drugs and Medicinal Plants of Yemen. *Journal of Ethnopharmacology* **8**, 335-344.

France, F., Lago, E.L., Marsden, P.D. (1996). Plants Used in the Treatment of Leishmanial Ulcers Due to *Leishmania (Viannia) Braziliensis* in an Endemic Area of Bahia, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **29**, 229-232.

Gabrilovac, J., Benkovic, B., Burek, B., Cepelak, I., Boranic, M. (1982). Immunoregulatory Activity of Cell-Free Peritoneal Washings of Mice with Ehrlich Ascitic Carcinoma. *Research of Experimental Medicine* **180**, 147-154.

Galvez, M., Martin-Cordero, C., Lopez-Lazaro, M., Cortes, F., Ayusa, M.J. (2003). Cytotoxic Effect of *Plantago* spp. on Cancer Cell Lines. *Journal of Ethnopharmacology* **88**, 125-130.

Gao, Z.H., Huang, K.X., Yang, X.L., Xu, H.B. (1999). Free Radical Scavenging and Antioxidant Activities of Flavonoids Extracted From the Radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochimica et Biophysica- General Subjects* **1472**, 643-650.

Gaw, H.Z., Wang, H.P. (1949). Survey of Chinese Drugs for Presence of Antibacterial Substances. *Science* **110**, 11-12.

Gomi, K., Morinto, M., Nomoto, K. (1983). Influence of Surgical Removal and Effect of Levamisole on Cytotoxic T-Cell Mediated Antitumour Immunity in Mice. *Cancer Research* **43**, 5120.

Gorin, A.G. (1966a). Polysaccharides from *Plantago major* Leaves. I. Analysis of Monosaccharide Composition of Polysaccharide Complex. *Chemical Abstracts* **64**, 8277.

Gorin, A.G. (1966b). Polysaccharides from *Plantago major* Leaves. II. Pectic Acid. *Chemical Abstracts* **64**, 11552.

Gorin, A.G., Maksyutina, N.P., Kolesnikov, D.G. (1966). New Ulcer Remedy from the Leaves of *Plantago major*. *Chemical Abstracts* **65**, 17581.

Graham, S., Dayal, H., Swanson, M., Mittelman, A., Wilkinson, G. (1978). Diet in the Epidemiology of Cancer of the Colon and Rectum. *Journal of National Cancer Institute* **61**, 709-12.

Graham, S. (1983). Results of Case-Control Studies of Diet and Cancer in Buffalo. *Cancer Research New York. Suppl.* **43**, p. 2409.

Grune, T., Siems, W., Uhlig, R., Jakstadt, M. (1992). Adenine Metabolism of Ehrlich Mouse Ascites Cells in Proliferating and Resting Phases of Tumor Growth. *Biochemical Int.* **26(2)**, 199-209.

Guha, M., Basuray, S., Kumar, S.A. (2003). Preventive Effect of Ripe Banana in the Diet on Ehrlich's Ascitis Carcinoma Cell Induced Malignant Ascites in Mice. *Nutrition Research* **23**, 1081-1088.

Guil, J.L., Rodriguez-Garcia, I., Torija, E. (1997). Nutritional and Toxic Factors in Selected Wild Edible Plants. *Plant Foods for Human Nutrition* **51**, 99-107.

Guillen, M.E.N., Emim, J.A.S., Souccar, C., Lapa, A.J. (1997). Analgesic and Antiinflammatory Activities of the Aqueous Extract of *Plantago major* L. *International Journal of Pharmacognosy* **35**, 99-104.

Gupta, M.P., Arias, T.D., Correa, M., Lamba, S.S. (1979). Ethnopharmacognostic Observations on Panamanian Medicinal Plants. Part I. *Quarterly of Crude Drug Research* **17**, 115-130.

Gupta, M., Mazumder, U.K., Rath, N., Mukhopadhyay, D.K. (2000). Antitumor Activity of Methanolic Extract of *Cassia fistula* L. Seed Against Ehrlich Ascites Carcinoma. *Journal of Ethnopharmacology* **72**, 151-156.

Gurib-Fakim, A., Sewrey, M., Guecho, J., Dulloo, E. (1993). Medical Ethnobotany of Some Weeds of Mauritius and Rodrigues. *Journal of Ethnopharmacology* **39**, 175-185.

Gururaj, A.E., Belakavadi, M., Venkatesh, D.A., Marme, D. ve Salimath, B.P. (2002). Molecular Mechanisms of Anti-Angiogenic Effect of Curcumin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **297**, 934-942.

- Gümüşhan, H. (2002). İ.P., İ.V., S.C., Yollarla Uygulanan Adriamycin'in Ehrlich Asit Tümörü (EAT) Taşıyan Farelere Etkileri Üzerine Bir Çalışma, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, şanlıurfa.
- Gürkan, E., Köksal, G. (1988). The Cytolytic Affect of Two Brassica Species. *Fitoterapia* **LIX**,47-48.
- Handjieva, N., Spassov, S., Bodurova, G., et al. (1991). Majoroside, an İridoid Glucoside from *Plantago major*. *Phytochemistry* **30**, 1317-1318.
- Harborne, J.B., Williams, C.A. (1971). 6-Hydroxyluteolin and Scutallarein as Phyletic Markers in Higher Plants. *Phytochemistry* **10**, 367-378.
- Haris, W.J., Meyskens, F., Patt, M.H. (1970). Biochemical Studies of Cytokinetic Changes During Tumor Growth. *Cancer Research* **30**, 1937-1946.
- Hazra, B., Sarkar, R., Bhattacharyya, S., Roy, P. (2002). Tumour İnhibitory Activity of Chicory Root Extract Against Ehrlich Ascites Carcinoma in Mice. *Fitoterapia* **73**, 730-733.
- Herbert, H.M., Maffrand, F.P., Taoubi, K., Augereau, J.M., Fouraste, I., Gleye, J. (1991). Verbascoside İsolated from *Lantana camara*, an İnhibitor of Portein Kinase C. *Journal of Natural Products* **54**, 1595-1600.
- Hetland, G., Samuelsen, A.B., Lovik, M. et. al. (1999). Protective Effect of *Plantago major* L. Pectin Polysaccharide Against *Streptococcus pneumoniae* İnfection in Mice (Submitted).
- Hiltibran, R.C., Wadkins, C.L., Nicholas, H.J. (1953). *Journal of the American Society* **75**, 5125.
- Hoeg, O.A. (1974). Planter og Tradisjon. *Universitetsforlaget*, Oslo, pp. 507-511.
- Holdsworth, D.K. (1991). Traditional Medical Plants of Rarotonga, Cook Islands. Part II. *International Journal of Pharmacognosy* **29**, 71-79.

- Houghton, P.J., Manby, J. (1985). Medicinal Plants of the Mapuche. *Journal of Ethnopharmacology* **13**, 89-103.
- Hunte, P., Safi, M., Macey, A., Kerr, G.B. (1975). Indigenous Methods of Voluntary Fertility Regulation in Afghanistan. *National Demographic Family Guidance Survey of Settled Population Afghanistan* **4**, 1.
- Hussey, J.S. (1974). Some Useful Plants of Early New England. *Economic Botany* **28**, 311.
- Inoue, T., Jackson, E.K. (1999). Strong Antiproliferative Effects of Baicalein in Cultured Rat Hepatic Stellate Cells. *European Journal of Pharmacology* **378**, 129-135.
- Jain, S.P., Puri, H.S. (1984). Ethnomedicinal Plants of Jaunsar-Bawar Hills. Uttar Pradesh, India. *Journal of Ethnopharmacology* **12**, 213-222.
- Jain, S.K. (1991). Dictionary of Indian Folk Medicine and Ethnobotany. *Deep Publications*, New Delhi, p. 145.
- Jansson, O. (1974). Phylloquinone (vitamin K) Levels in Leaves of Plant Species Differing in Susceptibility to 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Physiologia Plantarum* **31**, 323-325.
- Jimenez, C., Riguera, R. (1994). Phenylethanoid Glycosides in Plants: Structure and Biological Activity. *Natural Product Reports* **11**, 591-606.
- Jonsson, S. (1983). Blomsterboken. Markens Urter, Lyng og Traer. *Teknologisk Forlag*, Oslo.
- Joshi, D.N., Sah, B.C.L., Suri, R.K. (1982). Some Medicinal Plants of Rudranath Bugyal (dist. Chamoli) . *U.P. Bulletin of Medicoethnobotanical Research* **3**, 27-42.
- Justo, G.Z., Duran, N., Queiroz, M.L.S. (2000). Myelopoietic Response in Tumour-Bearing Mice by an Aggregated Polymer Isolated from *Aspergillus oryzae*. *European Journal of Pharmacology* **388**, 219-226.

Justo, G.Z., Silva, M.R., Queiroz, M.L.S. (2001). Effects of the Green Algae *Chlorella vulgaris* on the Response of the Host Hematopoietic System to Intraperitoneal Ehrlich Ascites Tumor Transplantation in Mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* **23**, 119-132.

Justo, G.Z., Duran, N., Queiroz, M.L.S. (2003). Natural Killer Cell Activity, Lymphocyte Proliferation and Cytokine Profile in Tumour-Bearing Mice Treated with MAPA, a Magnesium Aggregated Polymer from *Aspergillus oryzae*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* **25**, 305-319.

Kaleoğlu, Ö., İşli, N. (1977). Ehrlich-Lette Asit Tümörü, *Tıp Fakültesi Mecmuası* **40**,978-984.

Kandaswami, C., Middleton, E. (1994). Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Plant Flavonoids. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **366**, 351-376.

Kapur, S.K. (1983). Medico-Botanic Survey of Medicinal and Aromatic Plants of Mawphlang(Shillong). *Indian Drugs* **21**, 1-5.

Kawasaki, M., Toyoda, M., Teshima, R., et al. (1994). In Vitro Antiallergenic Activity of Flavonoids in Histamine-Release Assay Using Rat Basophilic Luekemia (RBL-2H3) Cells. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* **35**, 497-503.

Kawashty, S.A., Gamal-El-Din, E., Abdalla, M.F., Saleh, N.A.M. (1994). Flavonoids of Plantago Species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology* **22**, 729-733.

Kayaalp, O. (1996). *Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe Taş Kitapçılık, ISBN: 975-7731-23-4, 79-322, Ankara.

Kın, T. (1971). The Effects of Carcinostatic Agents on the Cell Cycle of Ehrlich Ascites Carcinoma Cells. *Nagoya Journal of Medicine Science* **33**, 307-314.

Kimura, Y., Okuda, S., Nishibe, S., Arichi, S. (1987). Effects of Caffeoylglycosides on Arachidonate Metabolism in Leukocytes. *Planta Medica* **53**, 148-153.

- Kirkwood, J.M., Ernstaff, M.S. (1990). Role of Interferons in the Therapy of Melanoma. *Journal of Investigative Dermatology* **95**, 1805.
- Klein, G. (1951). Comparative Studies of Mouse Tumors with Respect to Their Capacity for Growth as ‘Ascites Tumors’ and Their Average Nucleic Acid Content Per Cell. *Experimental Cell Research* **2**, 518-573.
- Kyi, K.K., Mya-Bwin, Sein-Gwan, Chit-Maung, Aye-Thau, Mya-Tu, M., Tha, S.J. (1971). Hypotensive Property of *Plantago Major* Linn. *Union of Burma Journal of Life Sciences* **4**, 167-171.
- Larsen, L.M., Olsen, O., Sorensen, H. (1983). Failure to Detect Glucosinolates in *Plantago* Species. *Phytochemistry* **22**, 2314-2315.
- Latha, P.G., Panikkar, K.R. (1998). Cytotoxic and Antitumour Principles from *Ixora coccinea* Flowers. *Cancer Letters* **130**, 197-202.
- Latha, P.G., Evans, D.A., Panikkar, K.R., Jayavardhanan, K.K. (2000). Immunomodulatory and Antitumor Properties of *Psoralea corylifolia* Seeds. *Fitoterapia* **71**, 223-231.
- Lawrendiadis, G. (1961). Contribution to the Knowledge of the Medicinal Plants of Greece. *Planta Medica* **9**, 164-169.
- Lazebnik, Y.A., Medvedeva, D.N., Zenin, V.V. (1991). Reversible G2 Block in the Cell Cycle of Ehrlich Ascites Carcinoma Cells. *Experimental Cell Research* **195**, 247-254.
- Lennartz, K.J., Maurer, W., Eder, M. (1968). Autoradiographic Analysis of the Cell Cycle of Ascites Tumors (Mouse) of Various Chromosome Stemlines and Different Origin. *Z. Krebsforsch.* **71**, 267-282.
- Leporatti, M.L., Pavesi, A. (1990). New or Uncommon Uses of Several Medicinal Plants in Some Areas of Central Italy. *Journal of Ethnopharmacology* **29**, 213-223.

- Lette, R., Paweletz, N., Werner, D., Granzow, C. (1972). Sublines of the Ehrlich-Lette Mouse Ascites Tumor, A New Tool for Experimental Cell Research. *Naturwissenschaften* **59**, 59-63.
- Lim-Sylianco, C.Y., Sheir, W.T. (1985). Mutagenic and Antimutagenic Activities in Philippine Medicinal and Food Plants. *Journal of Toxicology- Toxin Reviews* **4**, 71-105.
- Lin, C.C., Kan, W.S. (1990). Medicinal Plants Used for the Treatment of Hepatitis in Taiwan. *Am. Journal of Chinese Medicine* **18**, 35-43.
- Lin, C.C., Shieh, D.E. (1996a). The Anti-Inflammatory Activity of Scutellaria Rivularis Extracts and its Active Components, Baicalin, Baicalein and Wogonin. *American Journal of Chinese Medicine* **24**, 31-36.
- Lin, C.C., Shieh, D.E. (1996b). In Vivo Hepatoprotective Effect of Baicalein, Baicalin and Wogonin from Scutellaria Rivularis. *Phytotherapy Research* **10**, 651-654.
- Lithander, A. (1992). Intracellular Fluid of Waybread(Plantago Major) as a Prophylactic for Mammary Cancer in Mice. *Tumor Biology* **13**, 138-141.
- Liu, J. (1995). Pharmacology of Oleanolic Acid and Ursolic Acid. *Journal of Ethnopharmacology* **49**, 57-68.
- Lobo, C., Ruiz-Bellido, M.A., Aledo, J.C., Marquez, J., De Castro, I.N., Alonso, F.J. (2000). Inhibition of Glutaminase Expression by Antisense mRNA Decreases Growth and Tumourigenicity of Tumour Cells. *Biochemistry Journal* **348**, 257-261.
- Loewenthal, H., Jahn, G. (1932). Übertragung-Suersuche Mit Carcinomatöser Mause-Asciteslussigkeit Und Ihr Verhalten Gegen Physikalische Und Chemische Einwirkungen. *Z. Krebsforsch.* **37**, 439-447.
- Logan, M.H. (1973). Digestive Disorders and Plant Medicine in Highland Guatemala. *Anthropos* **68**, 537-543.

Long, C., Moulis, C., Stanislas, E., Fouraste, E. (1995). Laucuboside et le Catapol Dans Les Feuilles De *Plantago Lanceolata* L., *Plantago Major* L. et *Plantago Media* L. *Journal De Pharmacie De Belgique* **50**, 484-488.

Maksyutina, N.P. (1971a). Baicalein and Scutellarein Derivatives in the Keaves of *Plantago Major*. *Chemistry of Natural Compounds* **7**, 352.

Maksyutina, N.P. (1971b). Hydroxycinnamic Acids of *Plantago Major* and *Pl. Lanceolata*, *Chemistry of Natural Compounds*, **7**, 795.

Manso, C., Sugiura, K., Wroblewski, F. (1958). Glutathione Reductase and Lactic Dehydrogenase Activities of Tissues of Rodents With Transplanted Tumors. *Cancer Research* **18**, 682-687.

Markov, M. (1992). On the Pharmacology of *Plantago Major*. *Poster 6 at the 2nd Int. Congr. On Ethnopharmacology*, Uppsala, Sweden.

Marquez, J., Sanchez-Jimenez, F., Medina, M.A., Quesada, A.R., De Castro, I.N. (1989). Nitrogen-Metabolism in Tumor-Bearing Mice. *Arch. Biochemical Biophysics* **268**, 667-675.

Mascarenhas, M. (1994). Structure-Activity Characterization, a Quick Method to Screen Mushrooms for the Presence of Antitumor Glucans. *Mushroom Research* **3**, 77-80.

Matsuzaki, Y., Kurokawa, N., Terai, S., Matsumura, Y, Kobayashi, N., Okita, K. (1996). Cell Death Induced by Baicalein in Human Hepatocellular Carcinoma Cell Lines. *Japanese Journal of Cancer Research* **87**, 170-177.

McCutcheon, A.R., Ellis, S.M., Hancock, R.E.W., Towers, G.H.N. (1992). Antibiotic Screening of Medicinal Plants of the British Colombian Native Peoples. *Journal of Ethnopharmacology* **37**, 213-223.

McCutcheon, A.R., Roberts, T.E., Gibbons, E., et al. (1995). Antiviral Screening of British Colombian Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology* **49**, 101-110.

- Melo, P.S., Justo, G.Z., Duran, N., Haun, M. (2004). Natural Killer Cell Activity and Anti-Tumour Effects of Dehydrocrotonin and its Synthetic Derivatives *European Journal of Pharmacology* **487**, 47-54.
- Michaelsen, T.E., Gilje, A., Samuelsen, A.B., Hoegaasen, K., Paulsen, B.S. (1999). Complement Activation of a Pectin Type Polysaccharide Fraction, PMII from the Leaves of *Plantago Major* L.
- Mironov, V.A., Vasil'ev, G.S., Matrosov, V.S., et al. (1983). Physiologically Active Alcohols from Great Plantain. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* **17**, 1321-1325.
- Miyase, T., Ishino, M., Akahori, C., Ueno, A., Ohkawa, Y., Tanizawa, H. (1991). Phenylethanoid Glycosides from *Plantago Asiatica*. *Phytochemistry* **30**, 2015-2018.
- Mohanan, P.V., Devi, K.S. (1997). Effect of Sobatum on Tumour Development and Chemically Induced Carcinogenesis. *Cancer Letters* **112**, 219-223.
- Moongkarndi, P., Bunyapraphatsara, N., Srisukh, V., Wagner, H. (1991). The Inhibitory Activity in 5-Lipoxygenase Pathway of Hispidulin from *Millingtonia Hortensis* Linn. F. *Journal of the Science Society of Thailand* **17**, 51-56.
- Morita, K. (1978). Studies on Natural Desmutogenem: Screening For Vegetable and Fruit Factors Active in Activation of Mutagenic Pyrolysis Products for Amino Acids. *Agricultural Biological Chemistry* **42**, 1235-39.
- Morton, J.F. (1975). Current folk Remedies of Northern Venezuela. Quarterly. *Journal of Crude Drug Research* **13**, 97-121.
- Moskalenko, S.A. (1986). Preliminary Screening of Far-Eastern Ethnomedicinal Plants for Antibacterial Activity. *Journal of Ethnopharmacology* **15**, 231-259.
- Motoo, Y., Sawabu, N. (1994). Antitumor Effects of Saikosaponins, Baicalin and Baicalein on Human Hepotoma-Cell Lines. *Cancer Letters* **86**, 91-95.
- Munoz, S.E., Lopez, C.B., Valentich, M.A., Eynard, A.R. (1998). Differential Modulation by Dietary N-6 or N-9 Unsaturated Fatty Acids on the Development of

Two Murine Mammary Gland Tumors Having Different Metastatic Capabilities. *Cancer Letters* **126**, 149-155.

Munoz, S.E., Piegari, M., Guzman, C.A., Eynard, A.R. (1999). Differential Effects of Dietary Oenothera, Zizyphus Mistol and Corn Oils, and Essential Fatty Acid Deficiency on the Progression of a Murine Mammary Gland Adenocarcinoma. *Nutrition* **15**, 208-212.

Murai, M., Tamayama, Y., Nishibe, S. (1995). Phenylethanoids in the Herb of *Plantago Lanceolata* and Inhibitory Effect on Arachidonic Acid-Induced Mouse Ear Edema. *Planta Medica* **61**, 479-480.

Murai, M., Takenaka, T., Nishibe, S. (1996). Iridoids From *Plantago Major*. *Natural Medicines* **50**, 306.

Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C. (1998). *Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden; Farmakoloji*.

Nagata, K.M. (1971). Hwaiian Medicinal Plants. *Economic Botany* **25**, 245-254.

National Research Concil: Diet Nutrition and Cancer. (1982). *National Academy Press*. Washington DC. p: 11.

Nevin, K.G., Vijayammal, P.L. (2003). Effect of *Aerva lanata* on Solid Tumor Induced by DLA Cells in Mice. *Fitoterapia* **74**, 578-582.

Nielsen, H. (1969). Laegeplanter og Trolddomsurter. In: Kehler, S. (Ed.). *Politikens Forlag, Kobenhavn*, pp. 321-324.

Nishibe, S., Murai, M., Tamayama, Y. (1995). Studies on Constituents of Plantaginis Herba 7: Flavonoids from *Plantago Asiatica* and *P. Augustifolia*. *Natural Medicines* **49**, 340-342.

Nishibe, S., Ono, K., Nakane, H., Kawamura, T., Noro, Y., Tanaka, T. (1997). Studies on Constituents of Plantaginis Herba 9. Inhibitory Effects of Flavonoids From *Plantago Herb* on HIV-Reverse Transcriptase Activity. *Natural Medicines* **51**, 547-549.

Noro, Y., Hisata, Y., Okuda, K., et al. (1991). Pharmacognostical Studies of Plantaginis Herba (VII) on the Phenylethanoid Contents of *Plantago* spp. *Japanese Journal of Pharmacognosy* **1**, 24-28.

Obolentseva, G.V., Khadzhai, Y.I. (1966). Pharmacological Study of Plantaglucide (*Plantago* Major Leaf Extract) Used in the Treatment of an Acid Gastritis and Peptic Ulcer. *Farmakologiya i Toksikologiya* **29**, 469-472 (English Abstract).

Ognibene, F.P., Rosenberg, S.A., Lotzc, M., Skibber, J., Parker, M.M., Schelhamer, J.H., Parrillo, J.F. (1988). Interleukin-Z Administration Causes Reversible Hemodynamic Changes and Left Ventricular Dysfunction Similar to Those Seen in Specific Shock. *Chest* **94**, 750-754.

Okay, H.G. (1998). Deneysel EAT Oluşturulan Fare Karaciğer Plazmasında Nitrik Oksit Metabolizmasının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya ABD., İstanbul.

Ortiz De Urbina, A.V., Martin, M.L., Fernandez, B., San Roman, L., Cubillo, L. (1994). In Vitro Antispasmodic Activity of Peracetylated Penstemonoside, Aucubin and Catapol. *Planta Medica* **60**, 512-515.

Öner, D. (1985). Ehrlich Ascites Tümör Hücrelerinde Vincristin'e Karşı Duyarlılığın Tümör Yaşı ile İlişkisi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Radyoloji ve Sağlık Fizyolojik Araştırma ve Uygulama Merkezi., İstanbul.

Pailer, V.M., Haschke-Hofmeister, E. (1969). Inhaltstoffe Aus *Plantago* Major. *Planta Medica* **17**, 139-145.

Pan, P.C., Lay, Y.C. (1966). Application of Chinese Traditional Medicine in the Treatment of Liver Cancer. *Zhongyi Zazhi* **5**, 33-37.

Para, A.L., Yhebra, R.S., Sardinas, I.G., Bulea, L.I. (2001). Comparative Study of The Assay of *Artemia salina* L. and The Estimate of The Medium Lethal Doze [LD50 Value] in Mice, to Determine Oral Acute Toxicity Of Plant Extracts. *Phytomedicine* Vol. **8(5)**, pp. 395-400.

- Parhar, R.S., Lala, P.K. (1988). Prostaglandin E₂-Mediated Inactivation of Various Killer Lineage Cells by Tumour-Bearing Host Macrophages. *Journal of Leukocyte Biology* **44**, 185-190.
- Paul, J. (1975). Ascites Tumors, *Cell and Tissue Culture*, New York, 5th Ed., p. 318-321.
- Peel, S., Fletcher, P.A. (1969). Changes Occuring During the Growth of Ehrlich Ascites Cells In vivo. *European Journal of Cancer* **5**, 581-589.
- Ponce-Mocotela, M., Navarro-Alegria, I., Matinez-Gordillo, M.N., Alvarez-Chacon, R. (1994). In Vitro Antigiardiasic Activity of Plant Extracts. *La Revista De Investigacion Clinica* **46**, 343-347.
- Popoca, J., Aguilar, A., Alonso, D., Villareal, M.L. (1998). Cytotoxic Activity of Selected Plants Used in Antitumorals in Mexican Tradicional Medicine. *Journal of Ethnopharmacology* **59**, 173-177.
- Qardry, S.M.J.S. (1963). A Note on Plantago Major Seeds: a Substitute for Ispaghula. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **15**, 552-555.
- Quasney, M.E., Carter, L.C., Oxford, C., Watkins, S.M., Gershwin, M.E., German, J.B. (2001). Inhibition of Proliferation and Induction of Apoptosis in SNU-I Human Gastric Cancer Cells by the Plant Sulfolipid, Ulfoquinovosyldiacylglycerol. *Journal of Nutrition Biochemical* **12**, 310-315.
- Rajeshkumar, N.V., Joy, K.L., Kutton, G., Ramsewak, R.S., Nair, M.G., Kuttan, R. (2002). Antitumour and Anticarcinogenic Activity of *Phyllanthus amarus* Extract. *Journal of Ethnopharmacology* **81**, 17-22.
- Ramirez, V.R., Mostacers, L.J., Garcia, A.E., et al. (1988). Vegetales Empleados En Medicina Tradicional Norperuana. *Banco Agrariondel Peru & NACL University*, Trujillo, Peru, p. 54.
- Rao, R.R. (1981). Ethnobotany of Maghayala: Medicinal Plants Used by Khasi and Garo Tribes. *Economic Botany* **35**, 4-9.

- Rao, R.R., Jamir, N.S. (1982). Ethnobotanical Studies in Nagaland. I. Medicinal Plants. *Economic Botany* **36**, 176-181.
- Rastogi, R.P. ve Dhawan, B.N. (1982). Research on Medicinal Plants at Central Drug Research Institute, Lucknow. *Indian Journal of Medicinal Research (Suppl.)* **76**, 27-45.
- Ravn, H., Brimer, L. (1988). Structure and Antibacterial Activity of Plantamajoside, a Caffeic Acid Sugar Ester From *Plantago Major* Subsp. *Major*. *Phytochemistry* **27**, 3433-3437.
- Ravn, H., Nishibe, S., Sasahara, M., Li, X. (1990). Phenolic Compounds From *Plantago Asiatica*. *Phytochemistry* **29**, 3627.
- Recio, M.C., Giner, R.M., Rios, J.L. (1994). Structural Considerations on the Iridoids as Anti-Inflammatory Agents. *Planta Medica* **60**, 232-234.
- Ribi, E., Canterall, J., Schwartzman, S., et al. (1981). BCG Cell Wall Skeleton, P3, MDP and Other Microbial Components Structure Activity Studies in Animal Studies. *Raven Press*, New York, p. 15.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology and Medicine* **20**, 933-956.
- Ringbom, T., Segura, L., Noreen, Y., Perera, P., Bolin, L. (1998). Ursolic Acid From *Plantago Major*, a Selective Inhibitor of Cyclooxygenase-2 Catalyzed Prostaglandin Biosynthesis. *Journal of Natural Products* **61**, 1212-1215.
- Rivera, D., Obon, C. (1995). The Ethnopharmacology of Madeira and Porto Santo Island, a Review. *Journal of Ethnopharmacology* **46**, 73-93.
- Roca-Garcia, H. (1972). Weeds: a Link With The Psat. *Arnoldia* **30**, 23-24.

- Rodriguez, J., Loyola, J.I., Maulen, G., Schmeda-Hirschmann, G. (1994). Hypoglycaemic Activity of Geranium Core-Core, Oxalis Rosea and Plantago Major Extract in Rats. *Phytotherapy Research* **8**, 372-374.
- Rohrer, D.C. (1972). The Crystal and Molecular Structure of Planteose Dihydrate. *Acta Crystallographica B* **28**, 425-433.
- Roig, J.T. (1974). Plantas Medicinales, Aromaticas o Venenosas de Cuba, Habana, Ed., *Ciencia y Tecnica*.
- Rojas, I.R. (1968). Contribucion Al Estudio quimico Del Hanten (Plantago Major L.) *Anales De La Facultad De Quimicay Farmacia* **20**, 146-150.
- Rosenberg, S.A., Yang, J.C., Topalian, S.L., Schwartzenuber, D.J., Werber, J.S., et al. (1994) The Treatment of 283 Consecutive Patients With Metastatic Melanoma or Renal Cell Cancer Using High-Dose Bolus Interleukin 2. *The Journal of the American Medical Association* **274**, 907-913.
- Rufa, M.J., Ferraro, G., Wagner, M.L., Calcagno, M.L., Campos, R.H., Cavallaro, L. (2002) Cytotoxic Effect of Argentine Medicinal Plant Extracts on Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line. *Journal of Ethnopharmacology* **79**, 335-339.
- Ruiz, A.R., De la Torre, R.A., Alonso, N., Villaescusa, A., Betancourt, J., Vizoso, A. (1996). screening of Medicinal Plants for Induction of Somatic Segregation Activity in Aspergillus Nidulans. *Journal of Ethnopharmacology* **52**, 123-127.
- Ruiz De Morales, J., Velez, D., Subiza, J.L. (1999). Ehrlich Tumor Stimulates Extramedullar Hematopoiesis in Mice Without Secreting Identifiable Colony-Stimulating Factors and Without Engagement of Host T Cells. *Experimental Hematology* **27**, 1757-1767.
- Saima, Y., Das, A.K., Sarkar, K.K., Sen, A.K., Sur, P. (2000). An Antitumor Pectic Polysaccharide From *Feronia limonia*. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Saklani, A., Jain, S.K. (1989). Ethnobotanical Observations on Plants Used in Northeastern India. *International Journal of Crude Drug Research* **27**, 65-73.

Samuelsen, A.B., Paulsen, B.S., Wold, J.K., Otsuka, H., Yamada, H., Espevik, T. (1995). Isolation and Partial Characterization of Biologically Active Polysaccharides From *Plantago Major* L. *Phytotherapy Research* **9**, 211-218.

Samuelsen, A.B., Paulsen, B.S., Wold, J.K., et al. (1996). Characterization of a Biologically Active Pectin From *Plantago Major* L. *Carbohydrate Polymers* **30**, 37-44.

Samuelsen, A.B., Paulsen, B.S., Wold, J.K., Knutsen, S.H., Yamada, H. (1998). Characterization of a Biologically Active Arabinogalactan From the Leaves of *Plantago Major* L. *Carbohydrate Polymers* **35**, 145-153.

Samuelsen, A.B., Lund, I., Djahromi, J.M., Paulsen, B.S., Wold, J.K., Knutsen, S.H. (1999a). Structural Features and Anti-Complementary Activity of Some Heteroxylan Polysaccharide Fractions From the Seeds of *Plantago Major* L. *Carbohydrate Polymers* **38**, 133-143.

Sanz, M.J., Ferrandiz, M.L., Cejudo, M., et al. (1994). Influence of a Series of Natural Flavonoids On Free-Radical Generating Systems and Oxidative Stress. *Xenobiotica* **24**, 689-699.

Sasaki, H., Nishimura, H., Morota, T., et al. (1989). Immunosuppressive Principles of *Rehmannia glutinosa* var. *hueichingensis*. *Planta Medica* **55**, 458-462.

Schmeda-Hirschmann, G., Loyola, L.I., Retamal, S.R., Rodriguez, J. (1992). Hypotensive Effect and Enzyme Inhibition Activity of Mapuche Medicinal Plant Extracts. *Phytotherapy Research* **6**, 184-188.

Schmidt, H., Siems, W., Müller, M., Dumdey, R., Rapoport, S.M. (1991). ATP-Producing and Consuming Processes of Ehrlich Mouse Ascites Tumor Cells in Proliferating and Resting Phases. *Experimental Cell Research* **194**, 122-127.

Schneider, G. (1990). *Arzneidrogen, Ein Kompendium Für Pharmazeuten, Biologen Und Chemiker*. Wissenschaftsverlag, Mannheim, Germany, p. 131.

- Schultes, E.V., Raffauf, R.F. (1994). De Plantis Toxicariis e Mundo Novo Tropicale Commentationes XXXXIX. *Harvard Papers in Botany* **5**, 50-68.
- Schwendel, A., Siems, W.G., Grune, T., Holzhütter, G.H. (1994). Transitions of Hepatic Purine Metabolism of Ehrlich Ascites Tumor Bearing Mice in Different Phases of Tumor Growth. *Biochemistry and Molecular Biology Int.* **34(3)**, 457-463.
- Seaforth, C.E., Ballah, S., Rollocks, S., Craig-James, S. (1998). Medicinal Plants Used in Tobago. *Fitoterapia* **69**, 523-527.
- Segura, J.A., Barbero, L.G., Marquez, J. (1997). Early Tumor Effect on Splenic the Lymphocytes in Mice. *FEBS Letters* **414**, 1-6.
- Segura, J.A., Barbero, L.G., Marquez, J. (2000). Ehrlich Ascites Tumour Unbalances Splenic Cell Populations and Reduces Responsiveness of T Cells to *Staphylococcus aureus* Enterotoxin B Stimulation. *Immunology Letters* **74**, 111-115.
- Segura, J.A., Ruiz-Bellido, M.A., Arenas, M., Lobo, C., Marquez, J., Alonso, F.J. (2001). Ehrlich Ascites Tumor Cells Expressing Anti-Sense Glutaminase RNA Lose Their Capacity to Evade the Mouse Immune System. *International Journal of Cancer* **91**, 379-384.
- Selvanayahgam, Z.E., Gnanevendhan, S.G., Balakrishna, K., Rao, R.B. (1994). Antisnake Venom Botanicals From Ethnomedicine. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants* **2**, 45-100.
- Senger, D.R., Gali, S.J., Dvorak, M.A., Perruzzi, C.A., Harvey, V.S., Dvorak, H.F. (1983). Tumor Cells Secrete a Vascular Permeability Factor That Promotes Accumulation of Ascites Fluid. *Science* **219**, 983-985.
- Shoyama, Y., Matsumoto, M., Nishioka, I. (1987). Phenolic Glycosides From Diseased Roots of *Rehmannia Glutinosa* var. *Purpurea*. *Phytochemistry* **26**, 983-986.
- Shylesh, B.S., Padikkala, J. (2000). In Vitro Cytotoxic and Antitumor Property of *Emilia sonchifolia* (L) DC in Mice. *Journal of Ethnopharmacology* **73**, 495-500.

Siems, W., et al. (1989). Changes in the Nucleotid Metabolism of Ehrlich Ascites Tumor Cells During Their Growth In vivo. *Cellular and Molecular Biology* **35(3)**, 255-262.

Siems, W.G., Grune, T., Schmidt, H., Tikhonov, Y.V., Pimenov, M.A. (1993). Purine Nucleotide Levels in Host Tissues of Ehrlich Ascites Tumor Bearing Mice in Different Growth Phases of the Tumor. *Cancer Research* **53**, 5143-5147.

Skari, K.P., Malterud, K.E., Haugli, T. (1999a). Radical Scavengers and Inhibitors of Enzymatic Lipid Peroxidation from *Plantago Major*, a Medicinal Plant. In: Kumpulainen, J.T., Salone, J.T., (Eds.), *Proceedings of the 2nd International Conference on Natural Antioxidants and Anticarcinogens in Nutrition, Health and Disease*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 200-202.

Skari, K.P., Malterud, K.E., Haugli, T. (1999b). Radical Scavengers and Inhibitors of Enzymatic Lipid Peroxidation ,from *Plantago Major*, a Medicinal Plant. Poster 495 at 2000 Years of Natural Products Research- Past, Present and Future, Amsterdam, The Netherlands.

Skog, S., Ericsson, A., Nordell, B., Nishida, T., Tribukait, B. (1989). ³¹P-NMR-Spectroscopy Measurements of Energy Metabolism of In Vivo Growing Ascites Tumours Following Addition of Glucose. *Acta Oncologica* **28**, 277-281.

Skog, S., He, Q., Tribukait, B. (1990). Lack of Correlation Between Thymidine Kinase Activity and Changes of DNA Synthesis With Tumour Age: An In Vivo Study in Ehrlich Ascites Tumour. *Cell Tissue Kinetics* **23**, 603-617.

Smolenski, S.J., Silinis, H., Farnsworth, N.R. (1974). Alkaloid Screening. IV. *Lloydia* **37**, 30-61.

Soini, Y., Paakkö, P. ve Letho U.P. (1998). Histopatological Evaluation of Apoptosis in Cancer. *Am. Journal of Pathology* **153**, 1041-1053.

Song, Z., Varani, J., Goldstein, I.J. (1993). Differences in Cell Surface Carbohydrates and in Laminin and Fibronectin Synthesis Between Adherent and

Non-adherent Ehrlich Ascites Tumor Cells. *International Journal of Cancer* **55**, 1029-1035.

Spring, M.A. (1989). Ethnopharmacologic Analysis of Medicinal Plants Used by Laotian Hmong in Minnesota. *Journal of Ethnopharmacology* **26**, 65-91.

Stevenson, H.C., Gren, I., Hamilton, J.M., et al. (1991). Levamisole Known Effects on the Immune System. Clinical Results and Future Applications to the Treatment of Cancer. *Journal of Clinical Oncology* **9**, 2052.

Stoewson, G.S., Babish, J.B., Wimbrelly, H.C. (1978). Inhibition of Hepatic Toxicities From Polybrominated Biphenyls and Aflatoxin B₁ Rats Feed Cauliflower. *Jm. Enviromental Pathology and Toxicology* **2**, 395-404.

Subiza, J.L., Vinuela, J.E., Rodriguez, R., Gil, J., Figueiredo, M.A., De La Concha, E.G. (1989). Development of Splenic Natural Supressor (NS) Cells in Ehrlich Tumour-Bearing Mice. *International Journal of Cancer* **44**, 307-313.

Suffiness, M., Douros, J. (1982). Drugs of Plant Origin. *Cancer Drug Development*, Part A, Vol. **26**. Academic Press, Ny, pp. 73-126.

Suffiness, M., Pezzuto, J.M. (1991). Methods in Plant Biochemistry. *Academic Press*. Vol. **VI**, New York. P. 71.

Suganda, A.G., Amoros, M., Gire, L. (1983). Effects Inhibiteurs De quelques Extraits Bruts Et Semi Purifies De Plantes Indigenes Françaises Sur La Multiplication De l'herpesvirus Humain I Et Du Poliovirus Humain 2 En Culture Cellulaire. *Journal of Natural Products* **46**, 626-632.

Sugiura, K. (1962). Tumor Transplantation. *American Cancer Society* Chapter **3**.

Sunila, E.S., Kuttan, G. (2004). Immunomodulatory and Antitumor Activity of *Piper longum* Linn. and Piperine. *Journal of Ethnopharmacology* **90**, 339-346.

Swiatek, K., Kurowska, A., Gora, J. (1980). Chemical composition of Some Plantago Species Seed Oil. *Herba Polonica* **4**, 213-217.

Szıkla, K., Pokorny, E., Hullan, L., Holczinger, L. (1981). Variations of Thymidine Kinase Activity and DNA Content in Ehrlich and L121₀ Ascites Tumor Cells During Tumor Growth. *Cancer Biochemistry and Biophysics* **5**, 259-264.

Tabata, M., Sezik, E., Honda, G., et al. (1994). Traditional Medicine in Turkey III. Folk in East Anatolia. Van and Bitlis. *International Journal of Pharmacognosy* **32**, 3-12.

Tamer, L. (1992). *Brassica oleraceae var. capitata* Ekstresinin Antitümöral Etkisinin Araştırılması ve Adenozin 5' Trifosfataz Enzim Sistemi Üzerine Olan Etkisi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Adana.

Tannock, I.F. (1969). A Comparison of Cell Proliferation parameters in Solid and Ascites Ehrlich Tumors. *Cancer Research* **29**, 1527-1534.

Taskova, R., Handjieva, N., Evstatieva, L., Popov, S. (1999). Iridoid Glucosides From *Plantago Cornuti*, *Plantago Major* and *Veronica Cymbalaria*. *Phytochemistry* **52**, 1443-1445.

Taskova, R., Eustatieva, L., Handjieva, N., Popov, S. (2002). Iridoid Pattern of Genus *Plantago* L. and Their Systematic Significance. *Z. Naturforsch.* **57c**, 42-50.

Taşkın, E.İ. (2002). Ehrlich Ascites Tümörü ile Balb-C Farelerde Oluşturulmuş Solid Tümör Modelinde Curcuminin Apoptoz Üzerine Etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

Tiwari, K.C., Majumder, R., Bhattacharjee, S. (1979). Kolkler Medicines From Assam Arunachal Pradesh (District Tirap). *International Journal of Crude Drug Research* **17**, 61-67.

Toyoda, M., Tanaka, K., Hoshino, K., Akiyama, H., Tanimura, A., Saito, Y. (1997). Profiles of Potentially Antiallergic Flavonoids in 27 Kinds of Health Tea and Green Tea Infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 2561-2564.

Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., et al. (1976). *Flora Europaea*, Vol. 4. Cambridge University Press, Cambridge, p.39.

Veale, D.J.H., Furman, K.I., Oliver, D.W. (1992). South African Traditional Herbal Medicines Used During Pregnancy and Childbirth. *Journal of Ethnopharmacology* **36**, 185-191.

Vinuela, J.E., Rodriguez, R., Gil, J., Coll, J., Concha, E., Subiza, J.L. (1991). Antigen Shedding Vs. Development of Natural Suppressor Cells As Mechanism of Tumor Escape in Mice Bearing Ehrlich Tumor. *International Journal of Cancer* **47**, 86-91.

Wakabayashi, I. (1999). Inhibitory Effects of Baicalein and Wogonin on Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production in Macrophages. *Pharmacology and Toxicology* **84**, 288-291.

Wanger H. (1987). Immunostimulants From Higher. In: Hostettmann K., Lea P.J. (Eds.), *Biologically Active Natural Products*. Clarendon Press, Oxford.

Wasuwat, S. (1967). A List Thai Medicinal Plants. Research Report No. I on Research Project **17**, A.S.R.C.T., Bangkok, pp. 22.

Wattenberg, L.W., Loub, W.D. (1978). Inhibition of Polycyclik Aromatik Hydrocarbon Induced Neoplasia by Naturally Occuring Indolles. *Cancer Research* **38**, 1410-1414.

Weenen, H., Nkunya, M.H.H., Bray, D.H., Mwasumbi, L.B., Kinabo, L.S., Kilimali, V.A.E.B. (1990). Antimalarial Activity of Tanzanian Medicinal Plants. *Planta Medica* **56**, 368-370.

Weniger, B., Rouzier, M., Daguilh, R., Henrys, D., Henrys, J.H., Anton, R. (1986). La Medecine Populaire Dans Le Plateau Central D'haiti. 2 Inventaire Ethnopharmacologique. *Journal of Ethnopharmacology* **17**, 13-30.

Werner, D., Maier, G., Lommel, R. (1973). A Factor Reducing Protein Synthesis From Ehrlich Ascites Cells. *European Journal of Cancer* **9**, 819-824.

Xiong, Q.B., Kadota, S., Tani, T., Namba, T. (1996). Antioxidative Effects of Phynyletanoids From Cistanche Deserticola. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **19**, 1580-1585.

Yaremenko, K.V. (1990). Adaptogens of the Natural Origin in Prophylactic Oncology. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **116**, 82.

Yeh, H.W., Burns, E.R., Yeh, Y.C. (1985). Initiation of DNA Synthesis in the Liver and Other Tissues of Adult Mice by a Factor (EACF) Isolated From Acellular Fluid of Ehrlich Ascites Carcinoma. *Bioscience Reports* **5**, 205-214.

Yesilada, E., Sezik, E., Fujita, T., Tanaka, S., Tabata, M. (1993). Screening of Some Turkish Medicinal Plants For Their Antiulcerogenic Activities. *Phytotherapy Research* **7**, 263-265.

Yesilada, E., Honda, G., Sezik, E., et al. (1995). Traditional Medicine in Turkey. V. Folk Medicine in the Inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology* **46**, 133-152.

Yokozawa, T., Dong, E., Liu, Z.W., Shimizu, M. (1997). Antioxidative Activity of Flavones and Flavonols in Vitro. *Phytotherapy Research* **11**, 446-449.

Yoshida, T., Chou, T., Matsuda, M., Yasuhara, T., Yazaki, K., Hatano, T., Nitta, A., Okuda, T. (1991). Woodfordin D and Oenothelin A, Trimeric Hydrolyzable Tannins of Macroring Structure With Antitumor Activity. *Chemical Pharmacology Bull.* **39**, 1157-1162.

Yoshino, M., Ito, M., Okajima, H., Haneda, M., Murakami, K. (1997). Role of Baicalein Compounds as Antioxidant in the Traditional Herbal Medicine. *Biomedical Research- Tokyo* **18**, 349-352.

You, K.M., Jong, H.G., Kim, H.P. (1999). Inhibition of Cyclooxygenase/Lipoxygenase From Human Platelets by Polyhydroxylated/Methoxylated Flavonoids Isolated From Medicinal Plants. *Archives of Pharmacal Research* **22**, 18-24.

Yu, L.A, Xu, Q.L. (1989). Treatment of Infections Hepatitis with an Herbal Decoction. *Phytotherapy Research* **3**, 13-14.

Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J., Yong, J. (1990). Flavonoids as Superoxide Scavengers and Antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* **9**, 19-21.

Zagari, A. (1992). Medicinal Plants. Iran Book, Tehran, p. 969 *Teheran University Publications* No. 1819/4.

Zennie, T.M., Ogzewalla, C.D. (1977). Ascorbic Acid and Vitamin A Content of Edible Wild Plants of Ohio and Kentucky. *Economic Botany* **31**, 76-79.

Zeybek, Ş.Ü. (1996). En Uygun Ehrlich Ascites Tümör Modellerinin Farklı Soy ve Cinsiyetteki Farelerde Gösterilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Deneysel Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Zeybek, Ü. (2003). Deneysel Kanseri Modelleri. *Kalıtımsal Hastalıklara Moleküler Tıp Açısından Bakış Sempozyumu*. s. 283-310.

Zhou, Y.C., Zheng, R.L. (1991). Phenolic Compounds and Analogs as Superoxide Anion Scavengers and Antioxidants. *Biochemical Pharmacology* **42**, 1177-1179.

EKLER

Ek1.

Tümör Hücresi Sayımında Kullanılan Tampon Çözelti

1.Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7.4 (Fosfat Tampon Çözeltisi)

8.0 gr	NaCl
0.2 gr	KH ₂ PO ₄
2.9 gr	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O veya
2.3 gr	Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O
1.44 gr	Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O
1.15 gr	Na ₂ HPO ₄ (anhdrous)
0.2 gr	KClO
2 gr	NaN ₃

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH sı 0.1 N NaOH veya 0.1 N HCl ile ayarlanmış ve 4 °C de saklanmıştır.