

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ŞANLIURFA YÖRESİNE AİT BAZI ENDEMİK BİTKİLERİN**  
**ANTİNEOPLASTİK ÖZELLİKLERİ**

**Ayfer ÖZÇELİK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA**

**2011**


Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ' ün danışmanlığında, Ayfer ÖZÇELİK' in hazırladığı "Şanlıurfa Yöresine Ait Bazı Endemik Bitkilerin Antineoplastik Özellikleri" konulu bu çalışma 29/06/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



Danışman: Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ



Üye: Doç. Dr. Mustafa ZERİN



Üye: Yrd. Doç. Dr. Tijen DEMİRAL

**Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.**



**Prof. Dr. Mehmet CİCİ**  
Enstitü Müdürü

**Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
Proje No: 849

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	v
SİMGELER DİZİNİ .....	vi
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	3
2.1. Endemik Bitki Kavramı .....	3
2.2. Endemik Bitkilerin Tıpta Kullanımı .....	5
2.2.1. Endemik bitkilerin kanser tedavisindeki yeri .....	7
2.3. Bitkisel Kökenli Kemoterapötik Ajanlar .....	7
2.3.1. Antineoplastikler .....	10
2.4. Yörenin Endemik Bitki Kapasitesi Ve Genel Adlar .....	11
2.5. <i>Linaria confertiflora</i> .....	11
2.5.1. Taksonomi .....	13
2.5.2. Genel Özellikleri .....	14
2.6. <i>Centaurea obtusifolia</i> .....	15
2.6.1. Taksonomi .....	16
2.6.2. Genel Özellikleri .....	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	20
3.1. Bitki Örneklerinin Toplanması .....	20
3.2. Bitki Örneklerinin Etanolik Ekstrelerinin Hazırlanması .....	21
3.3. Bitki Ekstresinin Sterilizasyonu Ve Doz Ayarlaması .....	22
3.4. Diklofenak Sodyumun Doz Ayarlaması .....	22
3.5. 96 Kuyucuklu Kültür Plaklarının Hazırlanması .....	23
3.6. Hücre Kültür Ortamının Hazırlanması .....	23
3.7. MTT Testi .....	24
3.7.1. Kültür plağı kuyucuklarının görüntülenmesi .....	25
3.8. İstatiksel Analizler .....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	26
4.1. Araştırma Bulguları .....	26
4.1.1. Diklofenak sodyumun sitotoksitesisi .....	26
4.1.2. <i>Centaurea obtusifolia</i> çiçeği ekstresinin sitotoksik etkileri .....	28
4.1.3. <i>Centaurea obtusifolia</i> gövde ekstresinin sitotoksik etkileri .....	30
4.1.4. <i>Centaurea obtusifolia</i> kök ekstresinin sitotoksik etkileri .....	32
4.1.5. <i>Centaurea obtusifolia</i> yaşlı yaprak ekstresinin sitotoksik etkileri .....	34
4.1.6. <i>Centaurea obtusifolia</i> genç yaprak ekstresinin sitotoksik etkileri .....	36
4.1.7. <i>L. confertiflora</i> çiçeği ekstresinin sitotoksik etkileri .....	38
4.1.8. <i>L. confertiflora</i> gövde ekstresinin sitotoksik etkileri .....	40
4.1.9. <i>L. confertiflora</i> kök ekstresinin sitotoksik etkileri .....	42
4.1.10. <i>L. confertiflora</i> yaprak ekstresinin sitotoksik etkileri .....	44
4.2. Tartışma .....	46
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	52
KAYNAKLAR .....	53
ÖZGEÇMİŞ .....	60
ÖZET .....	61
SUMMARY .....	62

## ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

### ŞANLIURFA YÖRESİNE AİT BAZI ENDEMİK BİTKİLERİN ANTİNEOPLASTİK ÖZELLİKLERİ

Ayfer ÖZÇELİK

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ  
Yıl: 2011, Sayfa: 62

Kanser tedavisinde uygulanan kemoterapi, henüz modern tıpta alternatifi olmayan ve daha uzun yıllar önemini koruyacak en etkin yöntemdir. Bütün dünyada bilim adamları bu tedavi metodu üzerinde çalışmalarını sürdürmektedirler. Çalışmamızda kanser tedavisine katkı sağlamak amacıyla yöremiz endemik bitkilerinden *Centaurea obtusifolia* ve *Linaria confertiflora* bitkilerinin antineoplastik özellikleri araştırılmıştır. Bitki örneklerinin çiçek, gövde, kök ve yapraklarının etanolik ekstraları hazırlandıktan sonra sitotoksik etkileri bir eritrolösemi hücre serisi olan K562 kanser hücreleri üzerinde test edilmiştir. Kontrol olarak kullanılan Diklofenak sodyumun ve bitki ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml' lik dozlarının sitotoksik etkileri MTT metoduyla belirlenmiştir. En güçlü sitotoksik etkinlik *Centaurea obtusifolia* için çiçek ve gövde ekstresini 100 µg/ml lik dozunda (% 68) saptanırken, *Linaria confertiflora* için yaprak ekstresinin 1000 µg/ml lik dozunda (% 70) saptanmıştır. Elde edilen veriler *in vitro* ön çalışmalardan elde edilmiş ve *in vivo* çalışmalarla desteklenmesi gereken veriler olmakla beraber, *Centaurea obtusifolia* ve *Linaria confertiflora* bitkilerinin kanser tedavisi için gelecek vadeden yöremize özgü birer zenginliğimiz olduğunu söyleyebiliriz.

**ANAHTAR KELİMELER:** Antineoplastik, Kemoterapotik ajan, Endemik bitki, *Centaurea*, *Linaria*.

## ABSTRACT

MSc Thesis

### ANTINEOPLASTIC PROPERTIES OF SOME ENDEMIC PLANTS SPECIAL TO SANLIURFA REGION

Ayfer ÖZÇELİK

Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ  
Year: 2011, Page: 62

Chemotherapy is a method which is used in cancer therapy and has no alternative in modern medicine and it keeps its importance for years. World scientist are working on this treatment method. In this study, to contribute to cancer therapy, we investigated the antineoplastic properties of *Centaurea obtusifolia* and *Linaria confertiflora* plants which are endemic for Sanliurfa region. First, we prepared ethanolic extracts of flower, body, root and leaves. Then cytotoxic effects of the extracts were examined on K562 erythroleukemic cell line. Cytotoxic effects of the plant extracts, and diclofenac sodium ,as control, were tested in doses 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml. The strongest cytotoxic effects were found in dose 100 µg/ml of flower and body extract of *Centaurea obtusifolia* (68 %) and 100 µg/ml of leaf extract of *Linaria confertiflora* (70 %). Although our findings are *in vitro* data and need to be supported by *in vivo* experiments, *Centaurea obtusifolia* and *Linaria confertiflora* plants can be considered as promising endemic plants.

**KEY WORDS:** Antineoplastic, Chemotherapeutic agent, Endemic plant, *Centaurea*, *Linaria*.

## TEŞEKKÜR

Tezım süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetişmeme ve gelişmeme katkıda bulunan, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum değerli hocam Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında önemli katkılarda bulunan Sayın Doç. Dr. Hasan AKAN' a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer Faruk KAYA' ya teşekkür ederim.

Vakit ayıran ve sorularımı yanıtlayan Sayın Prof. Dr. Mustafa TURAN ( Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi)' a, Sayın Doç. Dr. Bektaş TEPE (Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi )' ye, yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Selçuk ERTEKİN (Biyoloji Anabilim Dalı, Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi )' e teşekkür ederim.

Her aşamada pratik çözümleriyle yanımda olan yüksek lisans öğrencisi Nida Esra CAN' a, Nimet CAN' a, aileme ve laboratuarda birlikte çalıştığımız arkadaşlarıma en derin duygularla teşekkür ederim.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1.	<i>Linaria confertiflora</i> 'nın kuru ve canlı örnekleri .....	12
Şekil 2.2.	<i>Linaria confertiflora</i> 'nın illere göre yayılışı.....	13
Şekil 2.3.	<i>Linaria confertiflora</i> 'nın bölgesel yayılışı.....	13
Şekil 2.4.	<i>Centaurea obtusifolia</i> .....	15
Şekil 2.5.	<i>C. obtusifolia</i> 'nın illere göre yayılışı.....	15
Şekil 2.6.	<i>C. obtusifolia</i> 'nın bölgesel yayılışı.....	16
Şekil 3.1.	<i>Linaria confertiflora</i> herbaryum örneği.....	20
Şekil 3.2.	<i>C. obtusifolia</i> herbaryum örneği.....	21
Şekil 3.3.	Kuru maddelerin alkol eklendikten sonra 24 saat 25°C' de inkübasyonu.....	21
Şekil 3.4.	Bitki örneklerinden filtrasyonla etanolik ekstrelerin elde edilmesi.....	21
Şekil 3.5.	Liyofilizasyon cihazında alkolün uzaklaştırılması.....	22
Şekil 3.6.	Etanolik bitki ekstreleri.....	22
Şekil 3.7.	Örnek triple kültür plağı düzeneği.....	23
Şekil 4.1.	DFS' nin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri.....	26
Şekil 4.2.	DFS' nin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	27
Şekil 4.3.	<i>C. obtusifolia</i> çiçeği ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri.....	28
Şekil 4.4.	<i>C. obtusifolia</i> çiçeği ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	29
Şekil 4.5.	<i>C. obtusifolia</i> gövde ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri.....	30
Şekil 4.6.	<i>C. obtusifolia</i> gövde ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	31
Şekil 4.7.	<i>C. obtusifolia</i> kök ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri...	32
Şekil 4.8.	<i>C. obtusifolia</i> kök ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	33
Şekil 4.9.	<i>C. obtusifolia</i> yaşlı yaprak ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri.....	34
Şekil 4.10.	<i>C. obtusifolia</i> yaşlı yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	35
Şekil 4.11.	<i>C. obtusifolia</i> genç yaprak ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri.....	36
Şekil 4.12.	<i>C. obtusifolia</i> genç yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	37
Şekil 4.13.	<i>L. confertiflora</i> çiçeği ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri.....	38
Şekil 4.14.	<i>L. confertiflora</i> çiçeği ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	39
Şekil 4.15.	<i>L. confertiflora</i> gövde ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri.....	40
Şekil 4.16.	<i>L. confertiflora</i> gövde ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	41
Şekil 4.17.	<i>L. confertiflora</i> kök ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri	42
Şekil 4.18.	<i>L. confertiflora</i> kök ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	43
Şekil 4.19.	<i>L. confertiflora</i> yaprak ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri.....	44
Şekil 4.20.	<i>L. confertiflora</i> yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin OD değerleri.....	45

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	<i>DFS</i> ' nin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	27
Çizelge 4.2	<i>C. obtusifolia</i> çiçeği ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri...	29
Çizelge 4.3.	<i>C. obtusifolia</i> gövde ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri...	31
Çizelge 4.4	<i>C. obtusifolia</i> kök ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	33
Çizelge 4.5.	<i>C. obtusifolia</i> yaşlı yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	35
Çizelge 4.6.	<i>C. obtusifolia</i> genç yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	37
Çizelge 4.7.	<i>L. confertiflora</i> çiçeği ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri...	39
Çizelge 4.8.	<i>L. confertiflora</i> gövde ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri...	41
Çizelge 4.9.	<i>L. confertiflora</i> kök ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	43
Çizelge 4.10	<i>L. confertiflora</i> yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri	45



## SİMGELER DİZİNİ

MTT	[3-(4,5-Dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Thiazolyl blue]
PBS	Phosphate Buffered Saline
DMSO	Dimetilsülfoksit
FCS	Fetal Calf Serum
IC 50	Inhibitör Concantration
DFS	Diklofenak Sodyum
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
µl	Mikrolitre

## 1. GİRİŞ

Bitkiler dünyası bize sınırsız bir renk ve görüntü zenginliği sunar. Ama yalnızca bununla yetinmeyip yaşamımızı sürdürebilmemiz için gerekli olan oksijeni, besinleri sağlar ve sağlığımızı korumamıza katkıda bulunur. Yani bitkiler ve insanlar arasında, insanlık tarihi kadar eski sayılabilecek çok yakın bir ilişki vardır. Günümüzden binlerce yıl öncesinde insanoğlu bitkilerin tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yaşayabilmek için bitkilerden yararlanma yoluna gitmişlerdir. Eski Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından temelleri atılan şifalı bitkilerle tedavi bilimi çağlar boyunca insanlar tarafından kullanılagelmiş ve sürekli olarak zenginleştirmiştir (Azırak, 2007).

4000-5000 yıllık bir geçmişe dayanan şifalı bitkilerle tedavi uygulamalarının çağımızda artık geleneksellikten bilimsellik aşamasına ulaşmış olduğu gerçeği göz ardı edilmemelidir. Günümüzde ilaç endüstrisinin geliştirmiş olduğu ilaçların hemen hemen dörtte birinin, temel veya tamamlayıcı etkin maddelerinin bitkisel kaynaklı oluşu, konunun artık bilimsel düzeyde ele alındığının başlıca kanıtlarından yalnızca biridir (Azırak, 2007).

Kemoterapi uygulamalarında kullanılan ilaçların çoğu bitkisel kaynaklı antineoplastik ajanlardır. Bitkilerin antineoplastik özelliklerini belirlemek için çoğunlukla ilk aşamada bitkilerden elde edilen ekstrakter hücre kültüründe denenmekte ve elde edilen ilk verilerin değerlendirilmesinden sonra *in vivo* çalışmalara geçilmektedir.

Günümüzde birçok bitkinin antineoplastik özelliklerinin araştırılmasına karşın bitkilerin büyük bir kısmı üzerinde henüz bu çalışmalar gerçekleştirilmemiştir. Özellikle endemik bitkiler bu konuda daha büyük önem taşımaktadır. Ülkemizde nadiren yapılan bu tip çalışmalara yöremiz endemikleriyle ilgili olarak

rastlanmamaktadır. Genel anlamda bitki ve özellikle endemik bitkiler açısından bazı kıtalardan dahi daha zengin çeşide sahip olan ülkemizde bu çalışmaların henüz ortaya konulmamış olması büyük bir eksikliklerdir.

Bu çalışmada, insan sağlığı açısından önemli olan kanser tedavisine yeni kemoterapotik ajanlar kazandırmak ve yöremiz endemik bitkilerine dikkat çekerek bu zenginliğimizi katma değere dönüştürmek amacıyla *Centaurea obtusifolia* ve *Linaria confertiflora* bitkilerinin antineoplastik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Endemik Bitki Kavramı

Endemik, Yunanca endomos (indigenous) kelimesinden gelir. Anlamı “yerli, o yere ait” demektir. Endemizm, bir bitki türünün dar bir bölgede bulunması durumudur. Bir bitki, sınırları belli, dar bir alanda yayılış gösterirse, o bitkiye endemik bitki denir (Davis, 1975).

Ülkemiz hem iklim hem de bitki örtüsü yönünden çok zengindir. Bunun birçok nedeni vardır. Birincisi, floristik yapısı bakımından farklı 3 bitki coğrafyası bölgesinin karşılaştığı bir konumda olmasıdır. Bunlar Kuzey Anadolu’ da Avrupa-Sibirya, Batı ve Güney Anadolu’ da Akdeniz, İç ve Güneydoğu Anadolu’ da yer alan İran-Turan bitki coğrafyası bölgeleridir (Davis, 1975).

İkinci olarak Anadolu’ nun Avrupa ve Asya kıtası arasında köprü konumunda olması ve buna bağlı olarak iki kıta arasında karşılıklı bitki göçleri ile çeşitliliğin artması, üçüncü olarak birçok cins ve seksiyonun farklılaşma merkezinin Anadolu oluşu, dördüncüsü ise Anadolu’ da tür endemizminin oldukça yüksek oluşudur. Tür endemizminin yüksek olması şüphesiz iklim ve topoğrafyadaki zengin çeşitliliğin ve sınırlı da olsa Pleistosen devrindeki buzullaşma ile ilgilidir (Davis, 1975).

Kültürü yapılan pek çok hububat, meyve ve süs bitkilerinin ayrıca Avrupa’ da yabani bitki konumundaki birçok türün doğal gen merkezi Anadolu ya da yakın çevresidir. Topraksal faktörlerin çeşitlilik göstermesi ise diğer bir etkidir. Örneğin; İç Anadolu’ da yer alan Tuz Gölü ve çevresinde tuz faktörü nedeniyle çok sayıda buraya özgü endemik tuzcul bitkiler, Çankırı ve Sivas çevrelerindeki jipsli alanlara özgü endemikler (sadece Türkiye’ de yetişen) yer almaktadır (Davis, 1975).

Şanlıurfa’ nın da içinde bulunduğu İran-Turan floristik bölgesi %70-80 endemik tür içermesiyle endemikçe en zengin bölgedir. Geçmişte ve günümüzde yeni, kurağı seven türlerin oluşumunda da önemli bir merkezdir ( Davis, 1975).

İnsanlar çok eski zamanlardan beri bitkilerden besin olarak, süs bitkisi olarak, boya elde etmek ve tedavi yolu bulmak amacıyla yararlanmışlardır. Özellikle kırsal kesimde yaşayan halkımızın çoğunluğu yabani bitkilerle yakından ilgilenmektedir (Baytop, 1984).

Halk bu yabani bitkileri kendi yöntemleriyle farklı şekillerde kullanıma hazırlamaktadırlar. En basit yol bitkisel drogu (bitkisel ilaç hammaddesi) toz halinde olduğu gibi almak olsa da, hap, infüzyon, dekoksasyon ve merhem şekilleri diğer yaygın yöntemlerdir (Anonim, 2011).

**Toz (*pulveres*)** : Bitki parçalarının bir havanda dövülmesi veya bir değirmende çekilmesi ile elde edilir. Toz halinde kullanılacak olan en kolay yol, ince tozun yarım bardak kadar su içine dökülmesi ve karıştırıldıktan sonra karışımın içilmesidir (Anonim, 2011).

**Hap (*pilulae*)** : İnce toz halindeki drogun bir yardımcı madde (sıvağ) yardımıyla hap haline getirilmesiyle elde edilir. Sıvağ olarak bal, şeker şurubu, nişasta, leblebi unu, arap zamkı, meyan balı gibi tedavi etkisi bulunmayan maddeler seçilir. Drog tozu uygun sıvağ maddesi ile hamur haline sokulur, bu hamur avuç arasında döndürülerek uygun uzunlukta bir çubuk yapılır, çubuk bir bıçakla uygun büyüklükte parçalara bölünür ve her bir parça yuvarlanarak hap haline sokulur. Hapların birbirine yapışmaması için aralarına meyan kökü tozu konur (Anonim, 2011).

**İnfüzyon (*infusa*)** : Drogların ilaç olarak kullanılmasında en çok kullanılan yöntemdir. İnfüzyonu hazırlamak için küçültülmüş bitki parçaları üzerine kaynar su dökülür ve karışım kapalı bir kaptaki sık sık karıştırılarak çok hafif ateş üzerinde 5 dakika tutulur, soğuduktan sonra ince bir tülbentten süzülür. Kullanılacak drog miktarı genellikle 100 g su için 2 g'dır. Miktarlar % 2, % 5, % 10 şeklinde gösterilir. İnfüzyonlar her defasında taze olarak hazırlanır. Tatlandırıcı olarak içlerine bir miktar bal veya şeker konulabilir (Anonim, 2011).

**Dekoksasyon (*decocta*)** : Dekoksasyon hazırlamak için ufalanmış bitki kısımları

üzerine yeterli miktarda soğuk su konur ve hafif ateş üzerinde, sık sık karıştırılarak yarım saat ısıtılır ve sıcakken ince bir tülbentten süzülür. Kullanılacak drog miktarı genellikle 100 g su için 2 g' dır (Anonim, 2011).

**Merhem (*unguenta*)** : Katı yağ, sıvı yağ (zeytinyağı, badem yağı), lanolin ve vazelin gibi sıvağlar ile yapılan ve vücut dışına uygulanan ilaç şekilleridir. Merhem hazırlamak için, merhem içine konulacak madde veya maddeler önce havanda iyice toz haline getirilir. Sonra az bir miktar sıvı yağ ile ezilir ve sonra sıvağ maddesi (genellikle eşit miktarlarda lanolin ve vazelin karışımı) azar azar etkili madde üzerine ilave edilir ve havanda iyice karıştırılır. Merhemler kapalı kaplarda ve serin yerlerde saklanır (Anonim, 2011).

İlaç sanayinin vazgeçilmez materyali olan yabancı bitkilerin yöresel isimlerini bilmek, bu bitkilerin hangi hastalığa iyi geldiğini ve hangi amaçlarla kullanıldığını bilmek de insanlık için faydalı olacaktır. Ülkemizde ham droglar genellikle doğal bitkilerden karşılanmakta ve son yıllarda birçok bitkinin tıbbi ürünleri sağlıklı şartlarda üretilerek halka sunulmaktadır (Bağcı, 2000).

## 2.2. Endemik Bitkilerin Tıpta Kullanımı

Günümüz tıbbında geleneksel sistemlere, özellikle bitkisel ilaçlarla tedaviye ilginin giderek arttığı bilinmektedir. Bu artış gelişmiş ülkelerde son 20 yılda olmuştur. Bitkisel ilaçların bütün dünyadaki toplam pazar payının 2000 yılı için yaklaşık 60 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir ve bu, dünyadaki yıllık ilaç pazarının yaklaşık % 20' sini oluşturmaktadır (Azırak, 2007).

Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) 2000 yılındaki raporunda, Avrupa, Avustralya ve Kuzey Amerika'da yaşayan insanların yaklaşık %50' sinin alternatif-destekleyici tedavi metodlarından (CAM) birini kullandıklarını ve bu metodlar içinde en çok kullanılanın da bitkisel ilaçlar olduğunu açıklamıştır. Aynı raporda Çin'de kullanılan bitkisel ilaçların, aynı ülkede total olarak kullanılan ilaçların yaklaşık %30-50'sini oluşturduğu ve ekonomik açıdan daha sıkıntılı olan ülkelerde ise (Afrika

kıtası gibi) halkın halen geleneksel tedavi metodlarını kullandığı ifade edilmiştir (Azırak, 2007).

WHO tarafından 1991 yılında Cenevre toplantısında yapılan tarife göre bitkisel ilaç; bitkisel drog veya karışımlarını olduğu gibi veya değişik preparatları halinde etkili kısım olarak taşıyan bitmiş, etiketlenmiş, tıbbi ürünler veya müstahzarlardır. Bu ürünlerde terapötik etkinliği olduğu kabul edilen aktif maddeler ve miktarları uygun analitik metodlar kullanılarak tanımlanmalıdır (Azırak, 2007).

Türk tıp tarihinde ise kansere “seretan” adı verilmektedir. Tarsuslu Osman Hayri Efendi'nin “Kenzüsihhatül Ebdaniye” (1298) adlı eserinde seretan, fındık ya da küçük yumru büyüklüğünde, ağırlı, etrafı damarlı bir oluşum olarak tanımlanmaktadır. İshak bin Murad'ın “Havasüledviye” (1390) adlı eserinde kanser tedavisinde günlük önerilmektedir. Şerafeddin Sabuncuoğlu'nun “Cerrahiye-i İlhaniye” adlı eserinde (1465) ise seretanın çevresinin dağlanarak kitlenin kesilmesi önerilir. Ancak uzun zamandır duran ve büyük olan kitlenin dağlanmaması gerektiği belirtilmektedir. Seretanın açılıp yara olması durumunda ise kurşun ya da tutya merhemi sürülmektedir (Ünver, 1938).

Yine aynı eserde seretan tedavisinde kullanılan ilaç terkipleri yer almaktadır. Beş dirhem mürdesenk (kurşun di-oksit), on dirhem mum, sekiz dirhem zencefre (civa sülfür) gülyağı ile karıştırılarak seretan üzerine sürülür. Bir başka terkipte yirmi dörder dirhem ak mum ve çam sakızı, ikişer dirhem cavaşir otu, çadırüşağı otu, zincâr (bakır hidrokarbonat) ve mürrüsafi, üçer dirhem boru elması ve günlük, dört buçuk dirhem mürdesenk (kurşun dioksit) karıştırılarak sürülür (Baylav, 1953). Topkapı Sarayı'nda Revan odasında yer alan, tarihi ve yazarı belli olmayan bazı tıbbi eserlerde ise iltihaplı seretanda tutya, kuru seretanda ise tudri adlı siyah tohumları olan bir otun balla karıştırılarak kitle üzerine sürülmesi önerilmektedir (Ünver, 1938).

Değişik araştırmacılar tarafından fitofarmaka, fitomedisin, fitofarmasötik gibi terimler kullanılsa da “bitkisel ilaç” terimi Türkçe'de en çok kabul gören ve

kullanılan terimdir. Bitkisel ilaç kullanılarak yapılan tedaviye ise “bitkilerle tedavi” (fitoterapi) kelimesinin yanında “fitofarmakoterapi” adı da verilmektedir (Gürün, 2004).

Yukarıda açıklandığı gibi bitkiler, dünyanın pek çok ülkesinde geleneksel olarak halk ilacı, gıda desteği veya bitkisel ilaç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Halk ilacı olarak kullanım, hekim ve ilaca ulaşmanın zor olduğu Afrika, bazı Asya ve Güney Amerika ülkelerinde görülmekte ve adeta modern tıp ile yarışmaktadır (Gürün, 2004).

### 2.2.1. Endemik bitkilerin kanser tedavisindeki yeri

Görülme sıklığı ve yüksek oranda ölümlere yol açması nedeni ile kanserin günümüzde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ön plana çıkmış bulunması, kanser hastalıklarında teşhis ve tedavi imkanlarının artması, yaşam süresinin uzaması bu alanda sağlık kuruluşlarına olan hasta talebini de arttırmıştır (Demirtaş, 2003).

Ülkemizde kanser bildirimleri çok sağlıklı olmamakla birlikte araştırmalara göre kanser görülme sıklığı kesin rakamı yüz binde 68, tahmini rakam ise yüz binde 235 olarak bulunmuştur (Demirtaş, 2003).

Kanser tedavisinde ilaçla tedavi uygulamaları (kemoterapi) önemli bir yer tutmakta ve yaygın bir tedavi yöntemi olarak uygulanmaktadır (Demirtaş, 2003).

### 2.3. Bitkisel Kökenli Kemoterapötik Ajanlar

Kemoterapide kullanılan kemoterapötik ilaçlar arasında bitkisel kökenli ajanlar geniş yer tutmaktadır. Kemoterapötikler genel olarak kimyasal yapıları ve hücre aktivitesine göre şu şekilde ayrılmaktadırlar (Akyol, 2004).

**Alkilleyici ajanlar:** Sitotoksik etkileri, bünyelerindeki elektrofilik alkil kökü ile hedef makromoleküllerin nükleofilik parçasının geri dönüşsüz bir kombinasyon yapması ile olmaktadır. Bu gruptaki ilaçlar arasında;



• **Busulfan**, kronik lenfositik lösemi ve kronik miyelojen lösemide yaygın olarak kullanılan kimyasal bir ajandır (Lesurtel ve ark., 2006)

• **Carboplatin**; güçlü antineoplastik etkinliğe sahip olması nedeniyle cisplatin'in bir alternatifi olarak da kullanılmaktadır (Salmon ve ark., 1995). Carboplatin'in endikasyon alanı kısıtlıdır. Genellikle önceden yapılan kemoterapiden sonra nükseden over kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır (Kayaalp, 2000). Bunun dışında mesane kanseri tedavisi için gemcitabin ile kombinasyonunun (Carles ve ark., 2000), metastatik-refrakter meme kanseri için ifosfamid ve etoposid'le kombinasyonunun (Chang ve ark., 1999) ve küçük hücreli akciğer kanseri tedavisinde yine etoposid'le kombinasyonunun (Shi ve Yan, 1994) iyi bir seçenek olabileceği bildirilmektedir.

- Carmustine,
- Clorambusil,
- Cyclophosphamide,
- Dacarbazine,
- İfosfamide,
- Lomustine,
- Melphalan,
- Nitrojen mustard,
- Procarbazine, yer almaktadır (Akyol, 2004).

**Antimetabolitler:** Hücrenin normal metabolitleri ile benzerlik gösterdiklerinden onların yerine, enzimler için benzerlik gösterdikleri metabolitlerin yerine geçer veya aynı rolü alarak aktiviteyi bloke eder, azaltır ya da makromoleküllerin içine girerek, fonksiyonu olmayan bir makromolekül yaratırlar.

Bu grupta;

- Cytrabine,
- Methotexate,
- 5Flourouracil,
- Procarbazine gibi yer almaktadır. (Akyol, 2004).

**Bitki alkaloidleri:** Podofilotoksinler'den ve vinca alkaloidlerinden semisentetik olarak elde edilen ilaçlardır. Hücre bölünmesini mitoz safhasında durdururlar (Akyol, 2004).

Bu grupta;

• **Vincristine, Vinblastine;** *Vinca rosae*' dan elde edilmişlerdir. Adlarını da Vinka alkaloidlerinden almış bu ilaçlar, intrasellüler bir protein olan tubuline bağlanarak onun çökmesine ve hücresel mikrotubullerin bozulmasına neden olurlar. (Bender ve ark., 1977).

Vinka alkaloidleri küçük hücreli akciğer kanseri ve meme kanseri gibi solid tümörler yanında lenfoma, lösemi, myeloma ve testis kanserinde sıklıkla kullanılır. (Bilgir ve ark., 1995).

• **Etoposide,** *Podophyllum peltatum*' dan elde edilmiştir (Mantle ve ark., 2000).

**Antitümör antibiyotikler:** Hücrede DNA ve RNA transkripsiyonunu durdurup, dokularda uzun süre kaldıklarından DNA sentezi boyunca hücre ölümüne yol açarlar. Radyasyonla birlikte verildiklerinde toksisiteyi artırırlar.

- Actinomycin- D,
- Adriamycin,
- Bleomycin,
- Epirubicin,
- İdarubicin bu gruptadırlar (Akyol, 2004).

**Kortikosteroidler:** Kortikosteroidler pasif difüzyonla hücre içine girip, glukokortikoid reseptörleri ile bağlanarak çekirdeğe geçer, orada DNA ile bağlanıp transkripsiyon olayını bozarlar (Akyol, 2004).

### 2.3.1. Antineoplastikler

Antineoplastik ilaçlar, hücre bölünmesini ve dolayısıyla çoğalmasını inhibe ederler. Antineoplastik ilaçların kanser hücresine karşı olan selektiflikleri azdır. Çünkü malign hücre ile normal insan hücresi arasında kalitatif bakımdan fazla fark yoktur. Bu nedenle, antineoplastik ilaçlar, kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı bir biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok edebilirler (Cingi ve Erol, 1996).

Antineoplastik özelliği bilinen birçok bitkisel kökenli ilaç kemoterapide oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Örnek olarak paklitaksel ve dokotaksel *Taxus baccata*' dan, etoposid *Podophyllum peltatum*' dan, kamptotesin *Camptotheca acuminata*' dan, vinblastin ise *Vinca rosae*' dan üretilmektedir (Mantle ve ark., 2000).

2006 yılında yapılan bir araştırmada *Achillea clavennae* bitkisinin içerdiği bazı bileşiklerin anti-proliferatif etkisinin olduğu gözlenmiştir (Trifunovic ve ark., 2006). *Cousinia shulabadensis* ekstresinin hücre gelişimini inhibe ettiği ve anti-invazif etkiye sahip olduğu (Shahverdi ve ark., 2007), *Agrimonia pilosa* türünün de hücre gelişimine yüksek sitotoksosite gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Kim ve ark., 2009).

Sivas yöresine endemik olan doğada kendiliğinden yetişen yabancı sarımsak türlerinden *Allium sivasicum*' da umut vaat edecek düzeyde antineoplastik aktivite tespit edilmiştir (Turan ve ark., 2010).

Yine Sivas yöresine özgü *Thymus* türlerinin antineoplastik aktiviteleri test edilmiştir. *Thymus pectinatus*' da umut vaat edecek düzeyde, *Thymus sipyleus subsp. sipyleus* da orta düzeyde ve *Thymus sipyleus subsp. rosulans*' da yetersiz düzeyde antitümöral aktivite tespit edilmiştir (Turan ve ark., 2010).

*Pelargonium graveoleus*' dan elde edilen eterik yağların antitümöral aktiviteleri test edilmiştir ve *Pelargonium endlicherianum*' de meme kanser serilerine karşı umut vaat edecek düzeyde bir antitümör aktivitesi olduğu tespit edilmiştir (Turan, 2010).

#### 2.4. Yörenin Endemik Kapasitesi ve Genel Adları

Güneydoğu Anadolu Bölgesi, 1980' li yıllara değin ekonomik, tarımsal ve endüstriyel yatırımlar açısından az ilgi gösterilmiş bir bölgemizdir. Bu bölge floristik yönden Türkiye' nin kendine özgü bölgelerinden biridir. Bölge, Zohary' e göre İran-Turan floristik bölgesinin Mezopotamya alt bölgesine aittir. Bölgedeki bitki örtüsünün, %36' sını İran-Turan, %32' sini (Doğu) Akdeniz ve %2-3' ünü Avrupa-Sibirya kökenli bitkiler oluşturmaktadır (Anonim, 2011).

Türkiye' de bulunan bitkilerin yaklaşık %30-35' inin bu bölgede yayılış gösterdiği bilinmektedir. Aynı zamanda bitki türleri açısından da zengin bir bölgedir ve bazı nadir bitkiler (soğanlı bitkiler, orkide gibi) yetişmektedir. Bölge birçok bitkinin, özellikle bazı tarım bitkilerinin (buğday, arpa ve baklagil gibi) gen merkezi olarak da bilinmektedir (Anonim, 2011).

En çok endemik takson kapsayan cins *Astragalus* (37), *Verbascum* (14), *Centaurea* (12), *Allium* (11), ve *Onosma* (10) izlemektedir (Anonim, 2011).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi' ndeki endemik takson sayısı toplam 304' ü bulmuştur. Bu taksonlardan yalnızca bu bölgeye özgü olanlar ise 74 adettir. Geri kalan taksonlar komşu bölgelerde ve ülkelerde de yayılmıştır. Bölgeye özgü taksonların 64' ü tür, 5' i alttür ve 5' i varyete seviyesindedir (Anonim, 2011).

#### 2.5. *Linaria confertiflora*

*Linaria* türleri "Nevruz otu" adıyla bilinmektedir. İri ve güzel kokulu çiçekleriyle dikkat çekici bir bitkidir (Ertekin, 2002).



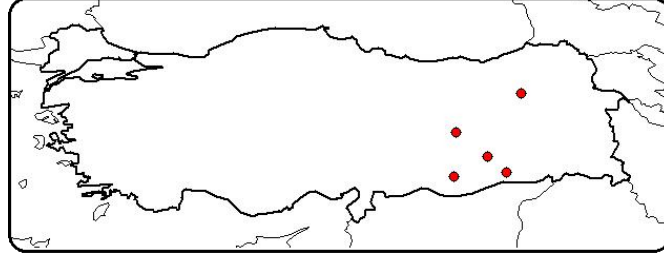
Şekil 2.1. *Linaria confertiflora*' nın kuru ve canlı örnekleri

*Scrophulariaceae* familyasına ait bir cins olan *Linaria* çok yıllık otsu bir bitkidir. Yeryüzünde 150 kadar tür ile temsil edilen cinsin ülkemizde 9 tanesi endemik olmak üzere, 20 türü ve 12 alt türü bulunmaktadır (Davis, 1978).

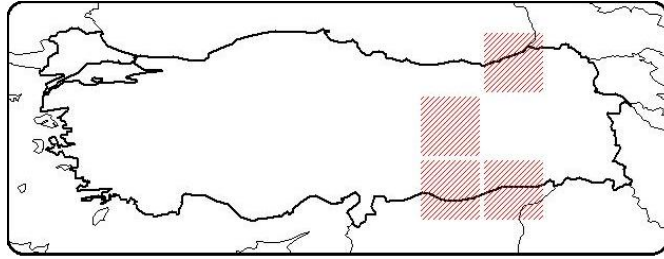
*Linaria confertiflora*, Türkiye' ye özgü, güzel çiçekli ve hoş kokulu endemik bir türdür. Karacadağ çevresinde özellikle boş araziler, nadaslı tarlalar, tarla kenarları gibi alanlarda bulunmaktadır. Bu alanların işlenmesi bu güzel bitki için en büyük tehdit unsurudur. Yörede çok yaygın olmayan bu takson gelecekte büyük tehlike altına girebilir. Alanda yapılan gözlemlere göre Türkiye' de yetişmesine karşın, yetiştirme yerinin özelliğinden dolayı "LR (lc) en az endişe verici" kategorisinde bulunan bitkinin "LR (nt) tehdit altına girebilir" kategorisine alınması daha uygun görülmektedir (Ertekin, 2002).

### ***Yetiştirme Şartları***

Bu taksonun habitatu, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin genelinde olduğu gibi iklim şartlarına bağlı olarak bir stepin (bozkır) özelliklerini yansıtmaktadır. *Linaria confertiflora*' nın toplandığı yer olan Karacadağ' ın büyük bir kısmı bazaltik topraklardan oluşmuştur. Azonal toprak grubundan olan ve ana kayası bazaltik olup eğimli yerlerde rastlanan litozal topraklar, kahverengi orman toprakları, kullanılmayan arazi olan çıplak kaya, molozlar ve koluviyal daha küçük alanlar kapsar (Ertekin, 2002).



Şekil 2.2. *Linaria confertiflora*'nın illere göre yayılışı; Mardin, Diyarbakır, Elazığ, Erzurum, Şanlıurfa (Tubives)



Şekil 2.3. *Linaria confertiflora*'nın bölgesel yayılışı (Tubives)

Karacadağ, endemik ve nadir bitkinin yanısıra birçok buğdaygil ve baklagil bitkisinin yabani akrabalarının yetiştiği önemli bitki alanlarından birisidir.

### 2.5.1. Taksonomi

*Linaria confertiflora*'nın sistematik durumu aşağıda verilmektedir.

Alem	<i>Plantae</i>
Alt alem	<i>Tracheobionta</i>
Bölüm	<i>Magnoliophyta</i> (Kapalı Tohumlu)
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i> (Çift çenekli)
Alt sınıf	<i>Asteridae</i>
Takım	<i>Scrophulariales</i>
Familya	<i>Scrophulariaceae</i>
Cins	<i>Linaria</i>
Tür	<i>Linaria confertiflora</i> Benth.

### 2.5.2. Genel özellikleri

Çok yıllık, 15-32 cm uzunluğunda, dik veya yükselici, steril sürgünleri olan otsu bitkilerdir. Yapraklar almaşlı, dikdörtgensi-eliptik ile genişçe şeritsi arasında şekilli, 15-35 x 3-13 mm, 1-3 (-5) damarlı, taban kısmı obtus veya yarı gövdeyi sarıcı, uç kısmı sivridir. Çiçek durumu salkım şeklinde, genişçe yumurtamsı-dikdörtgensi, sık çiçekli, 3-5 cm, meyvada uzamış, şeritsi-dikdörtgensidir. Brakteler yumurtamsı, uzun yumuşak tüylü-kenarlı, en az kaliksin yarısı kadar uzundur. Pediseller 1 mm. Kaliks lopları yumurtamsı-dikdörtgensi, 4-6 mm, hemen hemen kör uçlu, salgılı- uzun yumuşak tüylüdür. Korolla açık sarı renkli, 14-19 mm, iki dudaklı, korolla mahmuzu 7-9 mm, aşağı doğru kıvrıktır. Tohumlar kanatlı, 3 mm, disk yumrucukludur (Davis, 1978).

*Çiçeklenme zamanı:* (Nisan) Mayıs-Haziran ayları.

*Yetiştirme yeri:* Mera ve nadaslı tarlalar, 600-1700 m.

*Tip örneği:* C7/8 Urfa / Diyarbakır, Siverek ile Diyarbakır arası.

*Yayılışı:* Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri. Endemik. İran-Turan elementi.

### **Genel Kullanım Alanları**

*Linaria* türleri halk ilacı olarak Anadolu'da, Japon ve Hint halk tıbbında yaygın olarak kullanılmaktadır. Antidiyabetik, pürgatif, diüretik etkileri yanında emoliyen ve yara iyileştirici özelliklere sahip olmaları nedeniyle çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldıkları bildirilmiştir (Baytop, 1984, Singh ve Prakash, 1987, Kitagawa, 1973).

Ayrıca antiallerjik etkileri nedeniyle ekzema tedavisinde de faydalanılmıştır (Dobrescu, 1985). Bitkinin kimyasal yapısı üzerinde yapılan araştırmalarda başlıca monoterpenler, diterpenler, iridoitler, flavanoidler ve alkaloidler olmak üzere birçok etken madde grubunun varlığı tespit edilmiştir (Singh ve Prakash, 1987, Kitagawa, 1973, Glasby, 1991, Sticher, 1971, Harborne ve ark., 1971, Harborne, 1966, Groeger ve Johne, 1965).

2005 yılında yapılan bir araştırmada *Linaria reflexa* bitkisinin içerdiği flavonoidlerle potansiyel bir antitümör etkinliğinin olduğu belirtilmektedir (Tundis ve ark., 2005).

### 2.6. *Centaurea obtusifolia*

Tip örneği Şanlıurfa Tek Tek Dağları'ndan 1867 yılında Haussknecht tarafından toplanmıştır. Boiss & Haussknecht tarafından *Phaeopappus obtusifolius* olarak tanımlanan bu takson 1963' de Wagenitz şimdiki adıyla yeniden tanımlanmıştır.



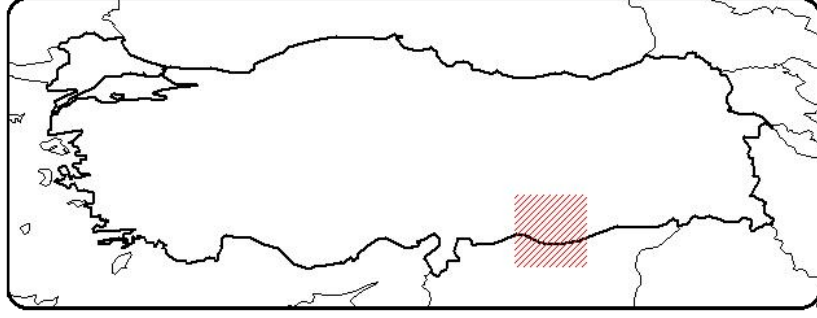
Şekil 2.4. *Centaurea obtusifolia*

*Centaurea spectabilis* vary. *spectabilis* ile benzerdir. Fakat yaprakları bölünmemiş mızrak şeklinde genişçe ve dikdörtgenimsidir. Uç kısımları küt olup, 7-18 cm' dir. Yaprak ayası gövde üzerine yapıştığı kısım aşağı doğru uzamaktadır.



Şekil 2.5. *C. obtusifolia*'nin illere göre yayılışı; Şanlıurfa (Tubives)





Şekil 2.6. *C. obtusifolia*'nin bölgesel yayılışı (Tubives)

Türün tüm çiçek tipleri toplanmadığı için tip örneği iyi bilinmemekte olup, toplayıcıya göre çiçekler sarıdır. Çiçekler sarı, merkezde menekşe renkli, anter tüp şeklinde nadiren mor çiçeklidir.

Akenler 6-9 mm arası pappus 12-17 mm, kahverengi, çiçek sayısı 6-8 arasında, kurak yamaçlarda, çayırarda, orman steplerinde, 853-2650 m. arasında yayılış göstermektedir. Çok yıllık olup, odunsu bir bitkidir (Davis, 1975).

### 2.6.1. Taksonomi

*Centaurea obtusifolia*'nin sistematik durumu aşağıda verilmektedir.

Alem	<i>Plantae</i>
Alt alem	<i>Tracheobionta</i>
Bölüm	<i>Magnoliophyta</i> (Kapalı tohumlu)
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i> (Çift çenekli)
Alt sınıf	<i>Asteridae</i>
Takım	<i>Asterales</i>
Familya	<i>Asteraceae</i>
Cins	<i>Centaurea</i>
Tür	<i>Centaurea obtusifolia</i> (BOISS. ET HAUSSKN.) WAGENITZ

### 2.6.2. Genel Özellikleri

2004 yılında *Centaurea L.* Tıbbi bitkilerden biri olan *Centaurea L.* Asteraceae familyasına ait bir cinstir ve Türkiye’de 168 türü vardır. Bitki, peygamber çiçeği, zerdali diken, çoban kaldıran, Timur diken gibi Türkçe isimlerle bilinmektedir (Wagenitz, 1975, Baytop, 1999).

Halk arasında ‘acı süpürge’ olarak bilinen *Centaurea virgata* Lam. türü alerji ve kurdeşenlere karşı kullanıldığı, bitki çok acı olduğundan özellikle gözlerin korunmasının önemli olduğu belirtilmektedir (Çakılcıoğlu, 2006).

*Centaurea kurdica* Reichardt. yöre halkı tarafından pamuk diken adıyla anıldığı, sinir gevşetici etkisi olduğu, *Centaurea solstitialis* L. subsp. *solstitialis*, tohumunun toz halinde mesane taşlarına, kökünün toz halinde idrar yollarındaki kuma ve taşlara karşı tedavi edici olarak kullanıldığı bilinmektedir (Çakılcıoğlu, 2006).

Batı ve Güneybatı Anadolu’da yaygın olan *Centaurea cyanus* türünün kurutulmuş çiçekleri halk arasında % 5’lik infüzyonları halinde ishal kesici, kuvvet verici, iştah açıcı ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanılmaktadır. Doğu Anadolu’da yetişen *Centaurea behen* Ak behmen ve Zerdali diken olarak bilinmekte ve çiçekleri mideyi ve adet getirici olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Kuzeybatı Anadolu’da yetişen ve çoban kaldıran, Timur diken olarak bilinen *Centaurea calcitrapa*’nın % 2-6’lik infüzyonları dâhilen ateş düşürücü olarak, çayır peygamberi ismiyle bilinen ve Kuzeydoğu Anadolu’da yaygın olarak yetişen *Centaurea jacea* ateş düşürücü, adet getirici, kabız yapıcı ve iştah açıcı olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Eğirdir (Isparta) yöresinde geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bitkilerin saptanmasına yönelik yapılan bir araştırmada, *Centaurea iberica*’nın mide ağrılarında ve böcek ve yılan sokmalarına karşı kullanıldığı saptanmıştır (Erol ve Tuzlacı, 1997).

Bunun yanı sıra *Centaurea* türleri halk tababetinde tek başına veya diğer bitkilerle birlikte antidiyabetik, antidiyareik, antiromatizmal, antienflamatuvar, kolagog, koleretik, dijestif, stomaşik, diüretik, adet söktürücü, astrenjan, hipotansif, antipiretik, sitotoksik, antibakteriyel amaçla kullanılmaktadır (Barrero, 1997, Farrag, 1993, Gürkan, 1998, Kaj-A-Kamb, 1992, Orallo, 1998).

Çin geleneksel tababetinde *Centaurea uniflora* ateş tedavisinde ve zehirlenmelere karşı kullanılmaktadır. Ayrıca bitkinin etilasetatlı ekstresi membran lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve antiaterosklerotik etkilerinin olduğu da bilinmektedir (Wei ve ark., 1997).

*Centaurea chilensis* bitkisinin sulu ekstresi halk arasında antipiretik ve antiromatizmal olarak kullanılmaktadır (Negrete ve ark., 1984, Negrete ve ark., 1993, Sepulveda ve ark., 1994).

İspanya'da *C.aspera* *C.seridis* var. *maritima*, *C.melitensis* gibi pek çok *Centaurea* türü infüzyon halinde halk arasında hipoglisemiyen olarak kullanılmaktadır (Chucla ve ark., 1988).

*Centaurea melitensis* acı lezzetinden dolayı halk arasında dijestif ve tonik olarak kullanılmaktadır. Diüretik ve hipoglisemiyen etkileri de bulunmaktadır (Kamanzi ve ark., 1983).

*Centaurea pallescens* Mısır'da, acı lezzetinden dolayı stomaşik, dijestif ve diüretik olarak kullanılmaktadır (Ali, Y.E. ve ark., 1987). Mısır halk tababetinde yer alan diğer bir *Centaurea* türü olan *C.sinaica* sitostatik, diüretik, antipiretik, antimalaryal, astrenjan, fitotoksik, antineoplastik, allerjenik, stomaşik, tonik ve emanogog olarak bilinmektedir (Al-Easa ve ark., 1992).

İspanya'nın Barros bölgesinde *Centaurea ornata* halk arasında depüratif, kolagog ve antiromatizmal amaçla kullanılmaktadır. Bitkinin toprak üstü kısımları Portekiz'de hipoglisemiyen , toprak altı kısımlarından hazırlanan ekstreler ise

antispazmodik amaçla kullanılmaktadır (Bastos ve ark., 1994, Vazquez ve ark., 1997).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmamızda Şanlıurfa yöresine ait endemik bitkilerden *Centaurea obtusifolia*, *Linaria confertiflora* türlerinin antineoplastik etkileri araştırılmıştır.

#### 3.1. Bitki Örneklerinin Toplanması:

Bitki örneklerinin herbaryum bilgileri aşağıda listelenmiştir.

*Linaria confertiflora* bitkisi 2010 Mayıs sonu Haziran başları çiçeklenme zamanında Şanlıurfa' nın 127 km kuzeydoğusundaki Karacadağ' dan 1130 m. de tarla kenarından toplanmıştır. Bitki örneği, Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Selçuk ERTEKİN tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği, Dicle Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumundan (DUF, Diyarbakır, Türkiye) temin edilmiştir.



Şekil 3.1. *Linaria confertiflora* herbaryum örneği

*Centaurea obtusifolia* bitkisi 2010 Mayıs sonu Haziran başları çiçeklenme zamanında Şanlıurfa' nın 45 km güneydoğusundaki Tektek dağları' ndan toplanmıştır. Bitki materyali, Harran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Hasan AKAN tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği, Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumundan (Şanlıurfa, Türkiye) temin edilmiştir.

Şekil 3.2. *Centaurea obtusifolia* herbarium örneği

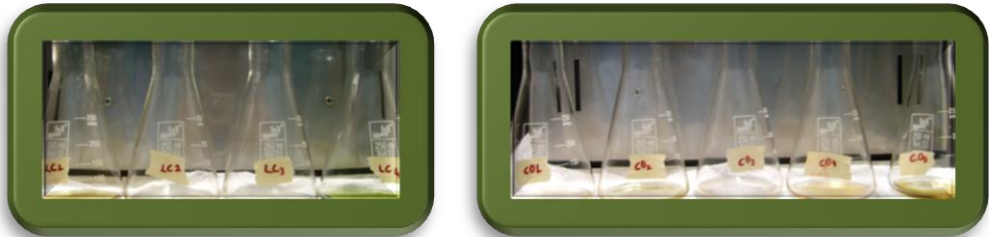
### 3.2. Bitki Örneklerinin Etanolik Ekstrelerinin Hazırlanması:

Kurutulmuş bitki örnekleri çiçek, yaprak, kök, gövde kısımlarına ayrılıp her biri ayrı ayrı öğütülerek toz haline getirilmiştir. Materyaller yaklaşık 250 mg. olarak tartılmış ve 10 ml' ye tamamlanacak şekilde % 80 lik hidroetanol (20 ml H<sub>2</sub>O, 80 ml etil alkol) eklenmiştir. 25°C de çalkalamalı inkübatörde 24 saat bekletilmiştir.



Şekil 3.3. Kuru maddelerin alkol eklenip saat 25°C çalkalanması

Bitki ekstrelerini saflaştırmak için örnekler 1750 rpm de 10 dk. santrifüj edildikten sonra evaporasyon işlemi öncesi örnekler süzölmüştür.

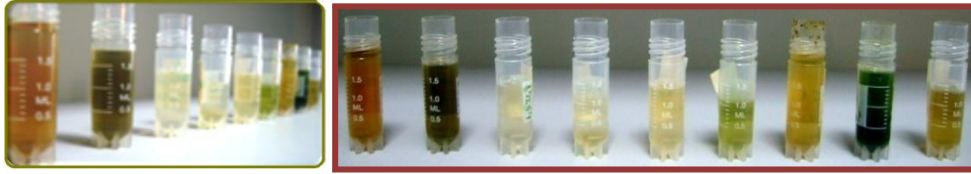


Şekil 3.4. Bitki örneklerinin filtrasyondan sonra elde edilen süzöntüleri

Filtrasyon işleminden sonra ekstrelerin sıvı içeriğinin uzaklaştırılması amacıyla ekstre içeren erlenler liyofilizasyon cihazına (Telstar, 23750, İspanya) yerleştirilmiştir. Örneklerin sıvı içerikleri, 2 saat boyunca  $-50^{\circ}\text{C}$ ' de vakum altında uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.5. Liyofilizasyon cihazında alkolün uzaklaştırılması



Şekil 3.4. Etanolik bitki ekstreleri

Elde edilen özütlerin miktar tayini yapıldıktan sonra analizler gerçekleştirilene kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ ' de karanlık ortamda saklanmıştır.

### 3.3. Bitki Ekstresinin Sterilizasyonu Ve Doz Ayarlaması:

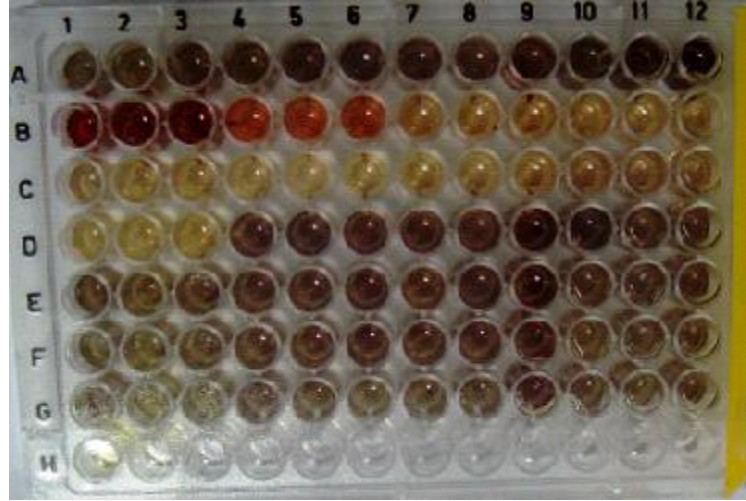
Ekstreler 10 mg/ml olacak şekilde Fosfat tampon solüsyonu (PBS) içerisinde çözüldükten sonra 20  $\mu\text{m}$  por çaplı enjektör tipi filtre ile (Minisart<sup>®</sup>, Biotech, 16534, USA) sterilize edilerek stok solüsyonlar hazırlanmıştır.

### 3.4. Diklofenak Sodyumun Doz Ayarlaması:

Diklofenak sodyum (Deva, A003565, Türkiye) 10 mg/ml olacak şekilde PBS içerisinde çözdürülerek stok solüsyon hazırlanmıştır.

### 3.5. 96 Kuyucuklu Kültür Plaklarının Hazırlanması:

96 kuyucuklu kültür plağının ilk sıradaki A1, A2 ve A3 kuyucukları kontrol olarak ayrılarak sadece çözücü olarak kullanılan PBS eklenmiştir. Solvent körü olarak kullanılacak kontrol kuyucuklarının yanındaki diğer üç kuyucuğa da saf PBS eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak diklofenak sodyum B1, B2, B3 olarak devam eden kuyucuklara 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml dozlarında 10 µl hacimlerde olmak üzere üçlü düzende (triple) eklenmiştir. C1, C2, C3 ve aşağı doğru devam eden diğer sıradaki kuyucuklara bitki ekstraktları pozitif kontrol kuyucuklarında olduğu gibi 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml dozlarında 10 µl hacimlerde olmak üzere triple düzende eklenmiştir.



Şekil 3.7. Örnek triple kültür plağı düzeneği.

Kültür plağının üzerine eklentiler kodlandıktan sonra; kontrol ve test kuyucuklarının üzerine hücreler 90 ul medyum içerisinde eklenerek final hacim 100 ul ye tamamlanmıştır.

### 3.6. Hücre Kültür Ortamının Hazırlanması:

Seri pasajlarını sürdürmekte olduğumuz K562 eritrolösemi hücre dizisinden alınan hücreler %10 fetal dana serumu ve antibiyotik içeren kültür ortamına alındıktan sonra santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst sıvı atıldıktan sonra hücreler



1 ml medyum ile sulandırılarak sayım işlemine geçilmiştir. Hücrelere % 10 oranında trypan blue solüsyonu eklenerek hücrelerin sayımı ve canlı/ölü ayrımı gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin canlılık oranı yaklaşık %96 bulunmuştur. Kültüre eklenecek hücre sayısının belirlenmesinde sadece canlı hücreler dikkate alınmıştır. Sayım işleminden sonra kültür plağına ekim için hücreler  $10^5$  hücre/ml olacak şekilde RPMI-1640 medyum ile sulandırılmıştır.

### 3.7. MTT Testi:

MTT yöntemiyle bir hücre topluluğundaki canlı hücrelerin oranı kolorimetrik yöntemle kantitatif olarak saptanabilmektedir. Bu yöntem sağlam hücrelerde mitokondrinin MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayabilmesi ilkesine dayanmaktadır (McGahan ve ark., 2000; Scinto ve ark., 1995).

Triple düzende hazırlanmış olan 96 kuyucuklu kültür plağına K562 hücre süspansiyonu her bir kuyucuğa 90 µl gelecek şekilde 8 kanallı otomatik pipetle dağıtılmıştır. Bu esnada sürekli çalkalama işlemi ile hücrelerin kuyucuklara eşit dağılımı sağlanmıştır.

Kültür flaskları 37°C' de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde (Heal Force, HF 212 UV, Çin), nemli ortamda 72 saat inkübasyona bırakıldı. Kültürün 72. Saatinde %0.5' lik MTT solüsyonu ([3- (4,5-dimetiltiyazol-2yl) -2,5-difenil tetrazolium], Sigma, M2128-1G, USA) solüsyonunda her bir kültür kuyucuğuna 10 µl eklendikten sonra 4 saat daha inkübasyona bırakılmıştır.

Bu süre sonunda kültür plağı kuyucuklarında canlı ve aktif hücreler tarafından hücre mitokondrisinde meydana getirilen MTT formazanının çözünmesi için kuyucuklara 100' er ml Dimetil sülfoksit (Sigma, D5879, Fransa) eklenmiştir. Kültür plaklarının kolorimetrik değerlendirmesi ELİZA mikropalak okuyucuda (MD Spectramax, M5, USA) 570 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Kontrol ve test kuyucuklarından elde edilen optik dansite (OD) değerlerinden solvent körü kuyucuklarının OD değerleri çıkarılmıştır. Kontrol ve test kuyucuklarına ait OD değerleri grafikler halinde sunulmuştur. Pozitif kontrol (Diklofenak sodyum) ve bitki ekstralarının gösterdiği sitotoksik etki düzeyleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır. Bu formülde elde edilen değer hücrelerin % proliferasyon düzeyini göstermektedir. Bu değerler 100' den çıkarıldığında % sitotoksosite oranına ulaşmak mümkündür.

$$\% \text{ sitotoksosite} = \frac{\text{ortalama OD (test kuyucukları)}}{\text{ortalama OD (kontrol kuyucukları)}} \times 100$$

### 3.7.1. Kültür plağı kuyucuklarının görüntülenmesi

Kültür flasklarının kuyucukları inverted mikroskopta (Motic, AE31, Çin) dijital görüntüleme aygıtıyla görüntülenmiştir. Elde edilen görüntüler bilgisayara kaydedildi. Görüntüleme işlemi kültürün 24., 48., 72. saatlerinde ve MTT eklendikten sonra tekrarlanmıştır.

### 3.8. İstatistiksel Analizler

Elde edilen OD değerleri ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Verilerin analizlerinde pozitif kontrol (diklofenak sodyum) ile çiçek, kök, gövde ve yapraklara ait ekstraların etkilerinin karşılaştırılması ANOVA testi ile gerçekleştirilmiştir. ANOVA testi sonucunda anlamlı bulunan pozitif kontrol ve bazı ekstraların değişen dozlarının sitotoksik etkinlikleri post hoc testlerden olan TUKEY testi ile gerçekleştirilmiştir. “*p*” değerinin 0.05’ ten küçük bulunması durumunda veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

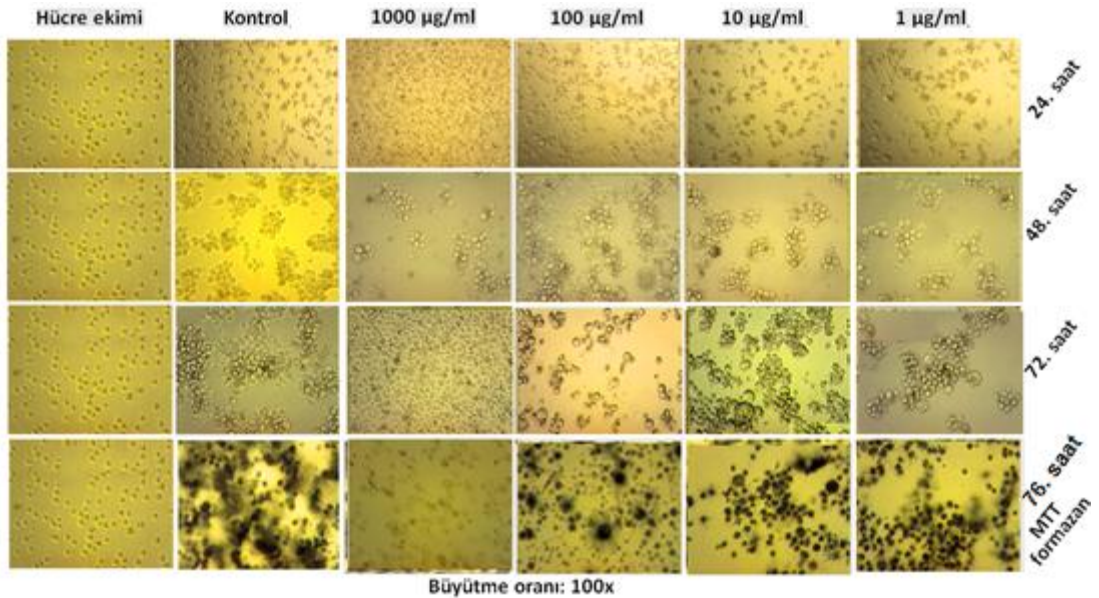
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Araştırma Bulguları

Çalışmamızda yöremize endemik olan *Centaurea obtusifolia* ve *Linaria confetriflora* bitkilerinin çiçek yaprak gövde ve köklerinden etanolik damıtma ile elde edilen ekstralarının K562 eritrolösemik hücre serileri üzerindeki antineoplastik etkilerini araştırmaya yönelik hücre kültürü uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Araştırmada DFS birçok araştırmada olduğu gibi pozitif kontrol olarak kullanılmış ve bitki ekstralarının etkinliği benzer dozlardaki DFS ile karşılaştırılmıştır.

#### 4.1.1. Diklofenak sodyumun sitotoksitesisi

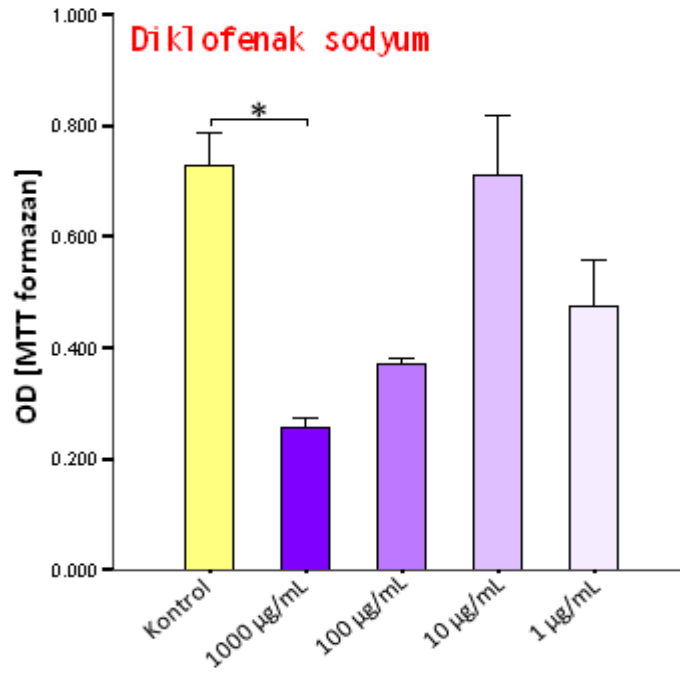
DFS kültür ortamında 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkileri belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. DFS' nin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri

*DFS*' nin 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonucunda elde edilen görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin ürettiği MTT formazana ait görüntüler görülmektedir (Şekil 4.1. ).

*DFS*' nin 72 saat inkübasyon sonunda kültür ortamında canlı kalan hücrelerin ortama eklenen MTT' yi MTT formazana dönüştürme düzeyleri kolorimetrik olan MTT yöntemiyle belirlenmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. *DFS*' nin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması. \* p<0.05.

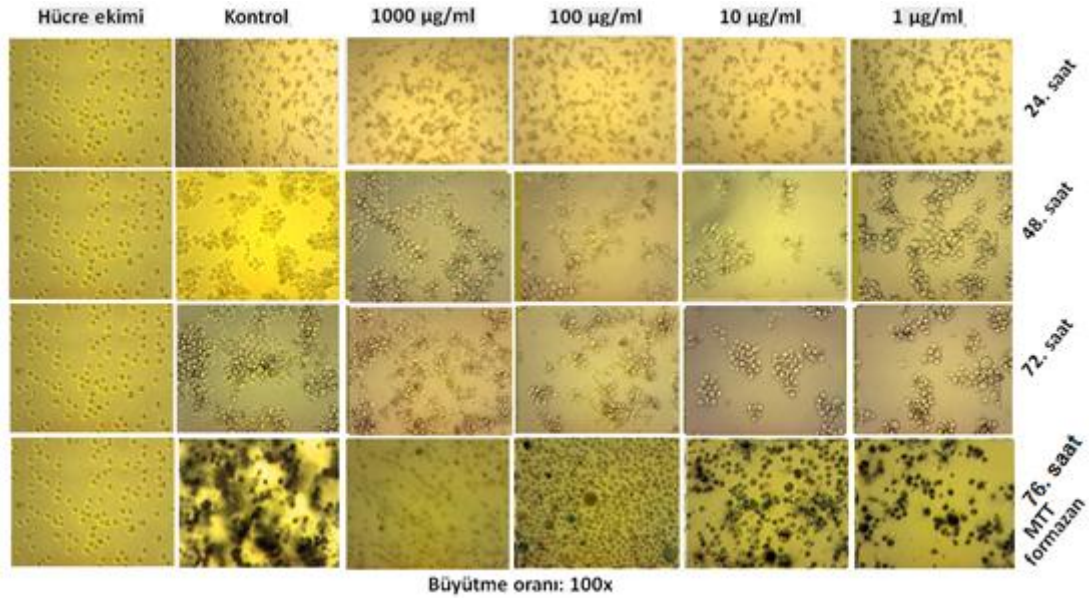
Elde edilen verilere göre *DFS*'nin en etkili sitotoksitesi 1000 µg/ml dozunda görülmüştür. Doz düştükçe etkisi azalmış, 10 µg/ml dozunda kontrole yakın bir değer saptanmıştır.

Çizelge 4.1. *DFS*' nin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksosite	64.8	49.0	2.2	34.9	0.004

#### 4.1.2. *Centaurea obtusifolia* çiçeği ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *C. obtusifolia* çiçeği ekstresinin kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.3. ).

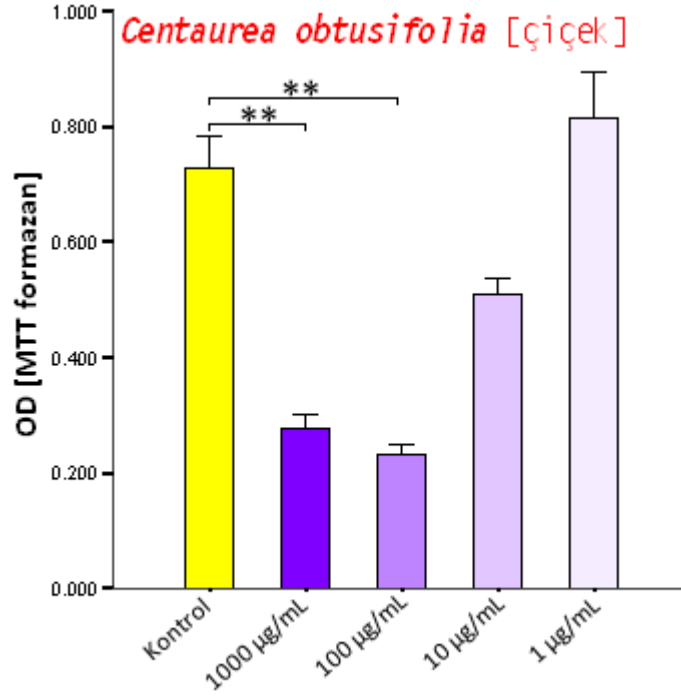


Şekil 4.3. *C. obtusifolia* çiçeği ekstresinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*C. obtusifolia* çiçeği ekstresinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*C. obtusifolia* çiçeği ekstresinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait OD değerleri şekil 4.4.' te görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*C. obtusifolia* çiçeği ekstralarının 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $278 \pm 023$ , [ $p < 0,0001$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $230 \pm 018$ , [ $p < 0,0001$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $511 \pm 026$ , [ $p < 0,055$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.816 \pm 0.080$  [ $p < 0.699$ ], (ANOVA  $p < 0.0001$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4. *C. obtusifolia* çiçeği ekstralarının K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması. \*\* $p < 0.001$ .

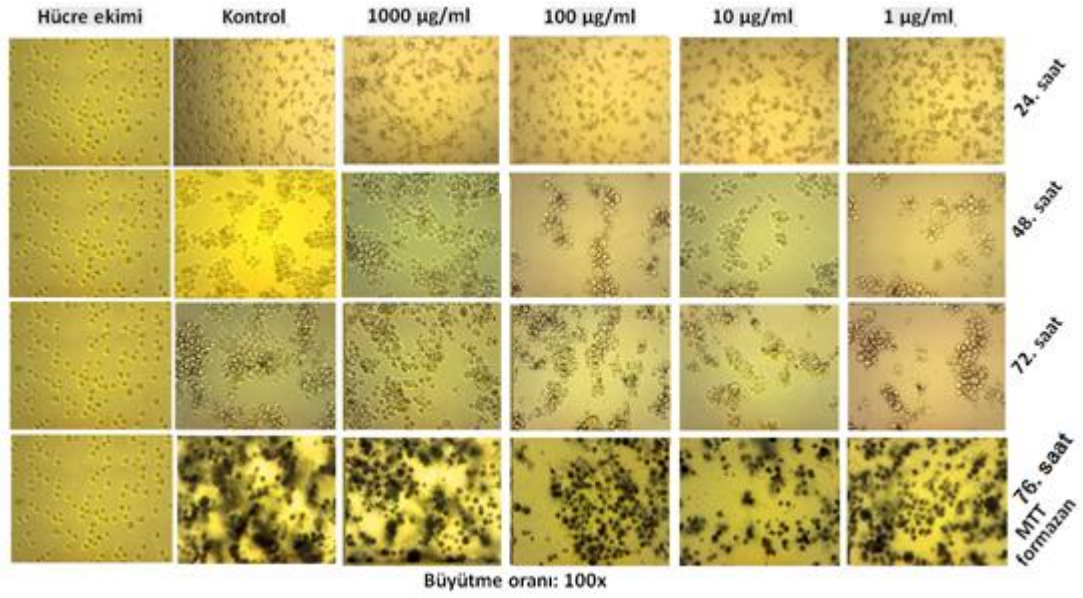
Elde edilen verilere göre, *C. obtusifolia* çiçeği 1000 µg/ml ve 100 µg/ml dozlarında ileri düzeyde sitotoksikite göstermiştir. Referans ilaç DFS' den daha etkin olduğu anlaşılmıştır. 1 µg/ml dozunda hiçbir etki görülmemiş, kontrolden daha üst seviyede proliferasyona neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.2. *C. obtusifolia* çiçeği ekstralarının K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksikite	61.8	68.3	29.8	0	0.0001

#### 4.1.3. *Centaurea obtusifolia* gövde ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *C. obtusifolia* gövde ekstresinin kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.5. ).

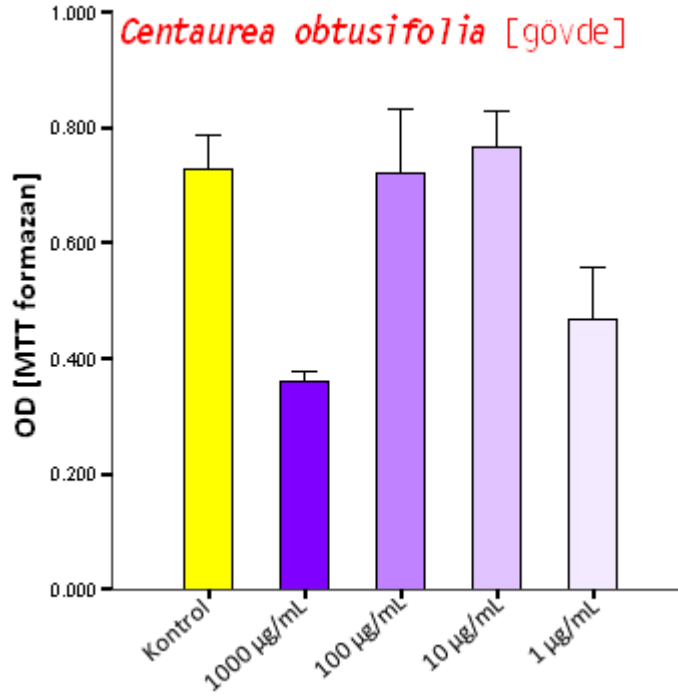


Şekil 4.5. *C. obtusifolia* gövde ekstresinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*C. obtusifolia* gövde ekstresinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*C. obtusifolia* gövde ekstresinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait OD değerleri şekil 4.6.' da görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*C. obtusifolia* gövde ekstrlerinin 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.360 \pm 0.016$ , [ $p < 0.089$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.722 \pm 0.110$ , [ $p < 0.1000$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.768 \pm 0.062$ , [ $p < 0.0996$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.467 \pm 0.090$  [ $p < 0.214$ ], (ANOVA  $p < 0.028$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.6. *C. obtusifolia* gövde ekstrlerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması.

Elde edilen verilere göre, *C. obtusifolia* gövdesi 1000 µg/ml dozunda yüksek sitotoksik etkinlik tespit edilmiştir. 100 µg/ml ve 10 µg/ml azalan dozlarında etkinin azaldığı, 1 µg/ml dozunda ise orta düzeyde bir sitotoksik etki olduğu gözlenmiştir.

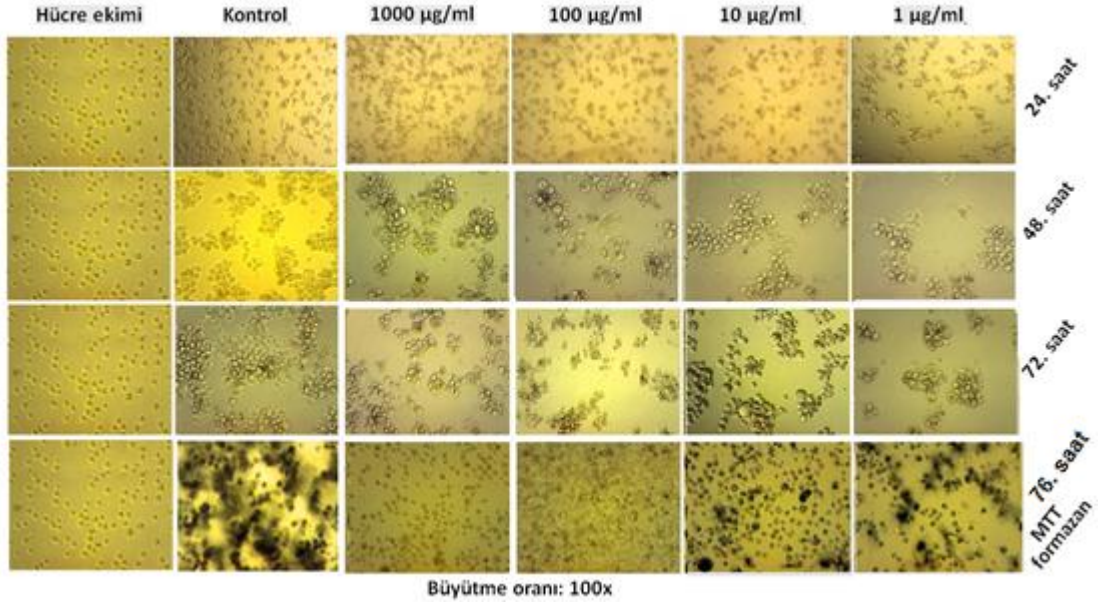
Çizelge 4.3. *C. obtusifolia* gövde ekstrlerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/m	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksisite	50.5	0.9	0	35.8	0.028



#### 4.1.4. *Centaurea obtusifolia* kök ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *C. obtusifolia* kök ekstrelerinin kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.7.).

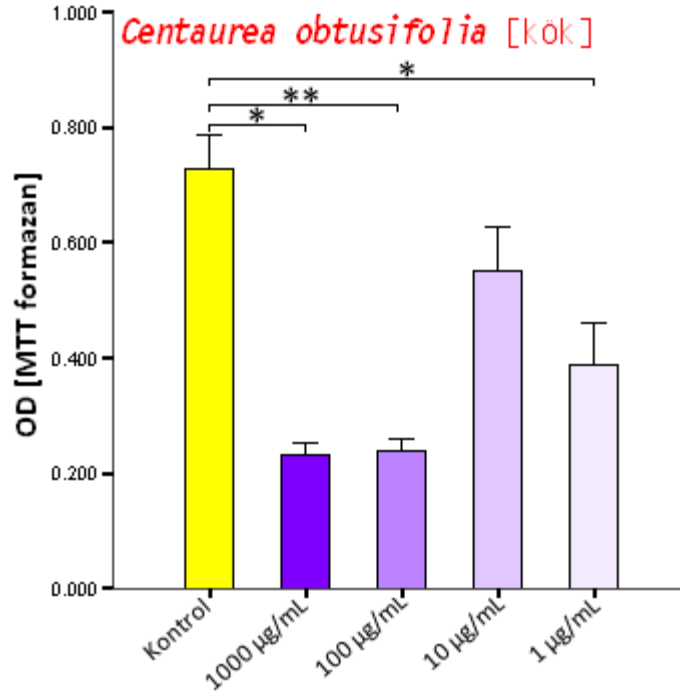


Şekil 4.7. *C. obtusifolia* kök ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*C. obtusifolia* kök ekstrelerinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*C. obtusifolia* kök ekstrelerinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait OD değerleri şekil 4.8.' de görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*C. obtusifolia* kök ekstralarının 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.231 \pm 0.022$ , [ $p < 0.003$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.237 \pm 0.022$ , [ $p < 0.001$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.552 \pm 0.075$ , [ $p < 0.276$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.389 \pm 0.072$  [ $p < 0.016$ ], (ANOVA  $p < 0.001$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.8. *C. obtusifolia* kök ekstralarının K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırması. \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ .

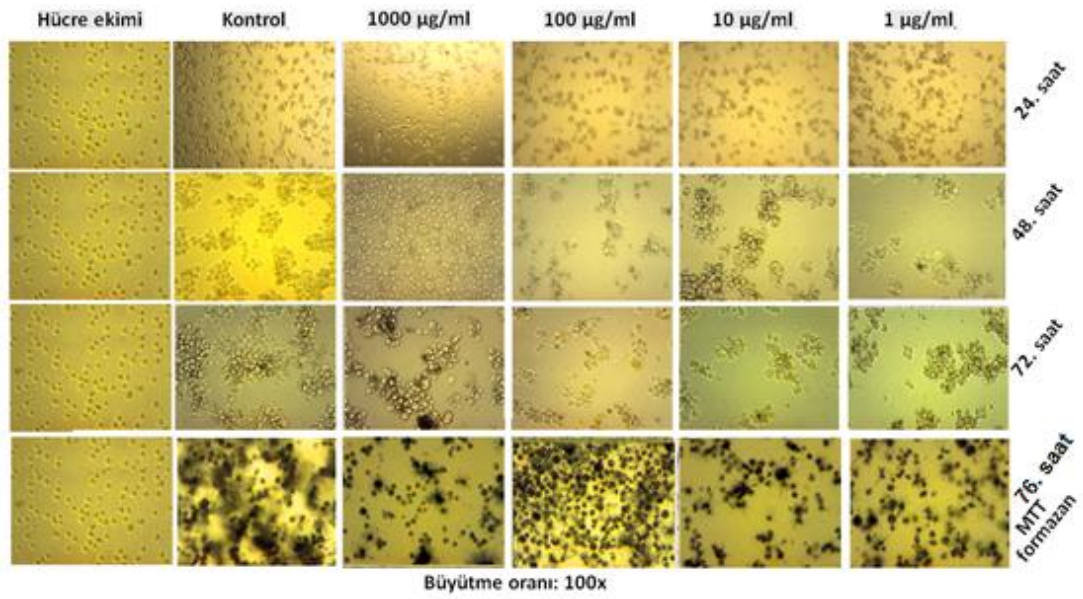
Elde edilen verilere göre, *C. obtusifolia* kök ekstresi 1000 µg/ml ve 100 µg/ml dozunda yüksek sitotoksikite gözlenmiştir. Etkinlik olarak DFS' den daha ileri düzeyde olduğu, 10 µg/ml dozunda belirgin ve 1 µg/ml dozunda zayıf sitotoksik etki olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. *C. obtusifolia* kök ekstralarının K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksikite	68.3	67.4	24.2	46.6	0.001

#### 4.1.5. *Centaurea obtusifolia* yaşlı yaprak ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *C. obtusifolia* yaşlı yaprak ekstralarının kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.9. ).

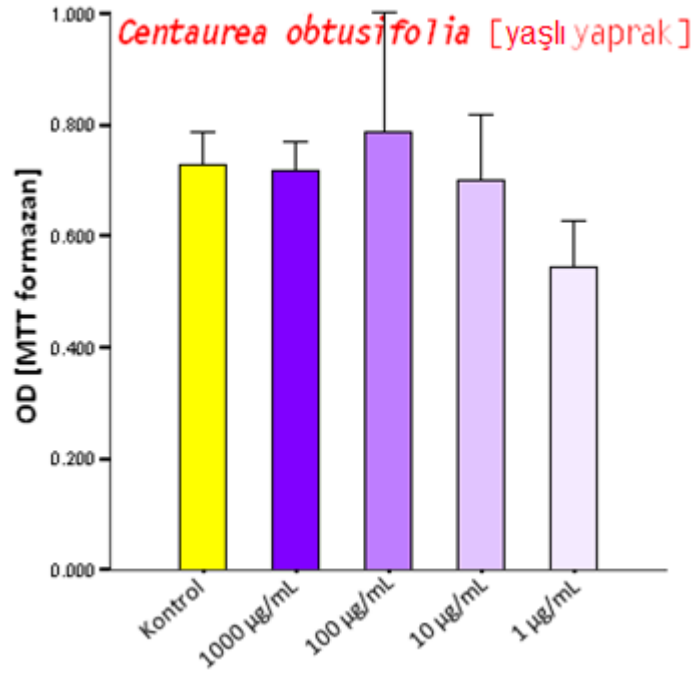


Şekil 4.9. *C. obtusifolia* yaşlı yaprak ekstralarının kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*C. obtusifolia* yaşlı yaprak ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*C. obtusifolia* yaşlı yaprak ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait OD değerleri şekil 4.10' da görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*C. obtusifolia* yaşlı yaprak ekstralarının 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.716 \pm 0.545$ , [ $p < 0,1000$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.927 \pm 0.141$ , [ $p < 0.692$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.579 \pm 0.137$ , [ $p < 0.803$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.543 \pm 0.825$  [ $p < 0.663$ ], (ANOVA  $p < 0.191$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.10. *C. obtusifolia* yaşlı yaprak ekstralarının K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması.

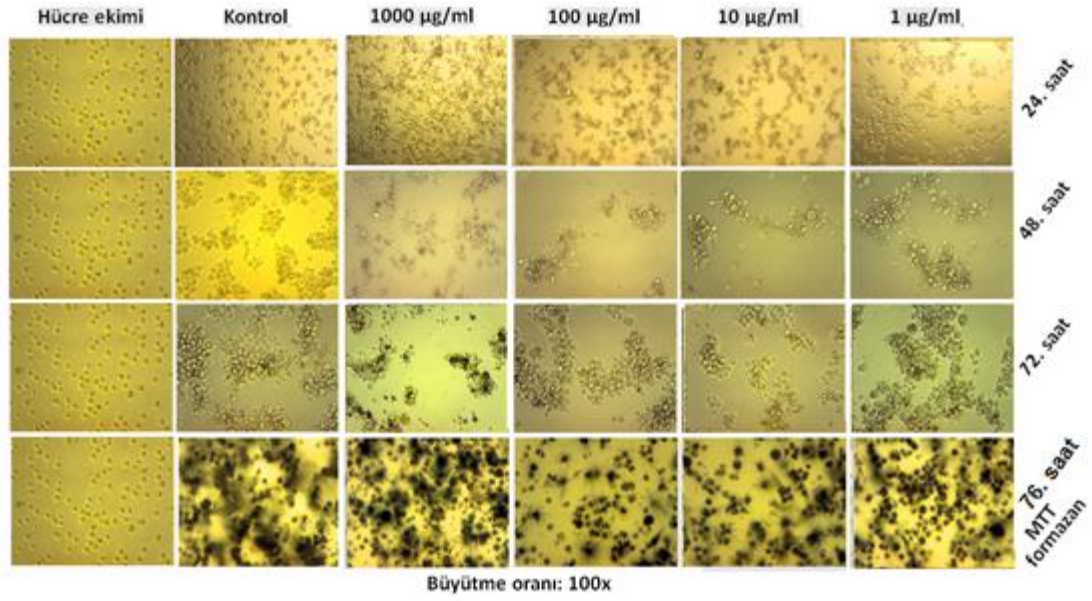
*Centaurea obtusifolia*'nın yaşlı yaprağından elde edilen özütün 1 µg/ml dozu dışında belirgin sitotoksikite görülmemiş, hücre proliferasyon düzeylerinin kontrolle benzer olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.5. *C. obtusifolia* yaşlı yaprak ekstralarının K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksikite	1.7	0	20.4	25.4	0.191

#### 4.1.6. *Centaurea obtusifolia* genç yaprak ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *C. obtusifolia* genç yaprak ekstralarının kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.11. ).

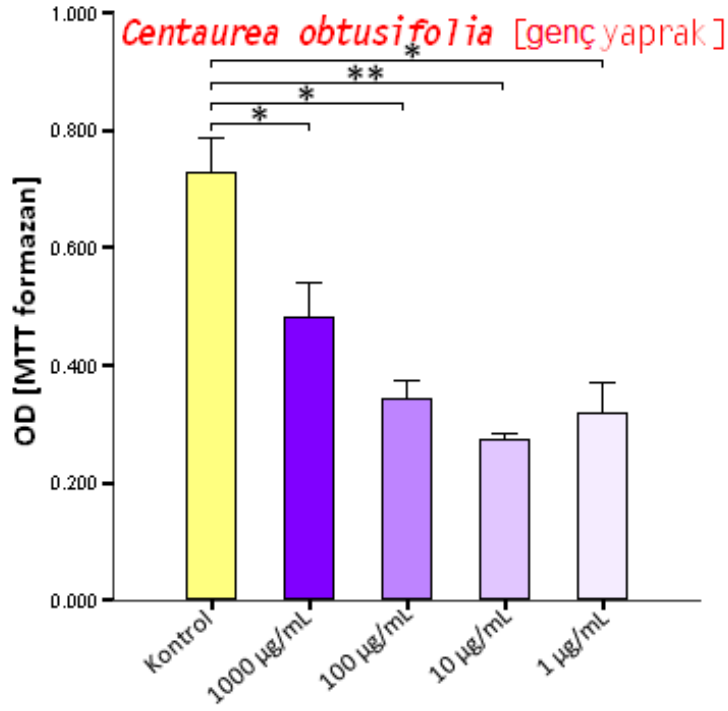


Şekil 4.11. *C. obtusifolia* genç yaprak ekstralarının kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*C. obtusifolia* genç yaprak ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin ürettiği MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*C. obtusifolia* genç yaprak ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri Şekil 4.12.' de görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*C. obtusifolia* genç yaprak ekstralarının 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.480 \pm 0.060$ , [ $p < 0.029$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.341 \pm 0.033$ , [ $p < 0.004$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.272 \pm 0.012$ , [ $p < 0.001$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.319 \pm 0.500$  [ $p < 0.003$ ], (ANOVA  $p < 0.001$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.12. *C. obtusifolia* genç yaprak ekstralarının K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması. \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ .

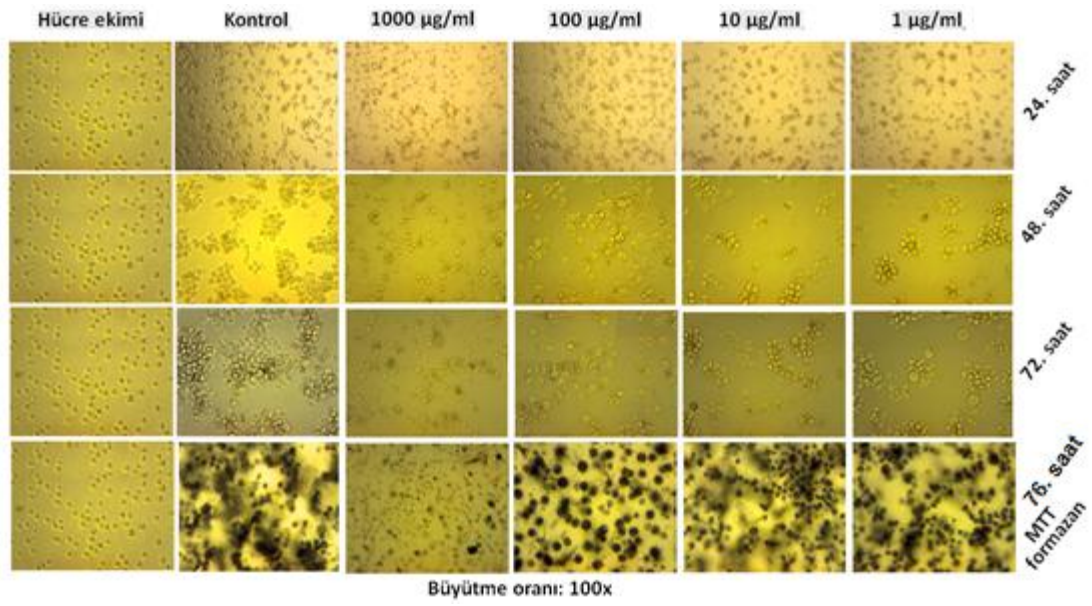
*Centaurea obtusifolia*'nın genç yaprağından elde edilen ekstrenin doz düştükçe sitotoksitesinin arttığı ancak 1 µg/ml dozunda 10 µg/ml dozuna göre daha az etki ettiği tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre, *C. obtusifolia* genç yaprak ekstresinin tüm dozlarında sitotoksikite görülmüştür. En etkin dozun 10 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. *C. obtusifolia* genç yaprak ekstralarının K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksikite	34.0	53.2	62.6	56.2	0.001

#### 4.1.7. *Linaria confertiflora* çiçeği ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.13. ).

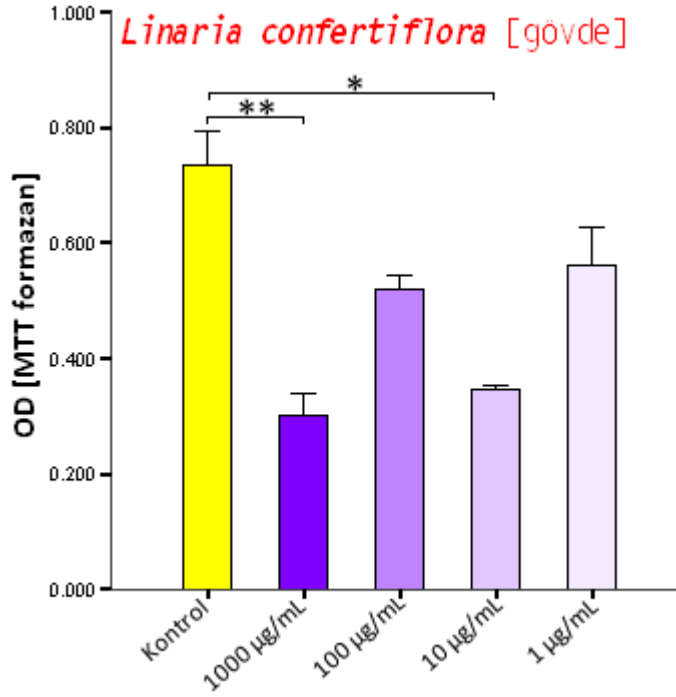


Şekil 4.13. *L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin ürettiği MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri şekil 4.14.' te görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.295 \pm 0.036$ , [ $p < 0.001$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.514 \pm 0.023$ , [ $p < 0.079$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.340 \pm 0.005$ , [ $p < 0.004$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.555 \pm 0.066$  [ $p < 0.171$ ], (ANOVA  $p < 0.001$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.14. *L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması. \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ .

Elde edilen verilere göre, *L. confertiflora* çiçek ekstresi 1000 µg/ml dozunda yüksek sitotoksik etki göstermiş, 10 µg/ml dozunda orta düzeyde ve 100 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında ise zayıf sitotoksik etki tespit edilmiştir.

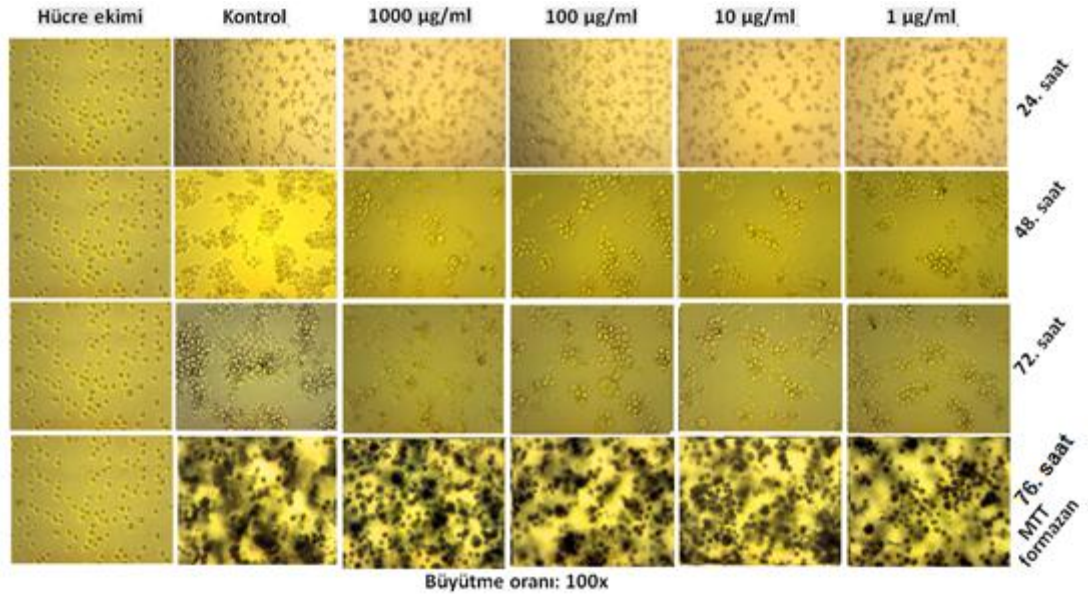
Çizelge 4.7. *L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksosite	59.5	29.5	53.3	23.8	0.001



#### 4.1.8. *Linaria confertiflora* gövde ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *L. confertiflora* çiçeği ekstrelerinin kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.15. ).

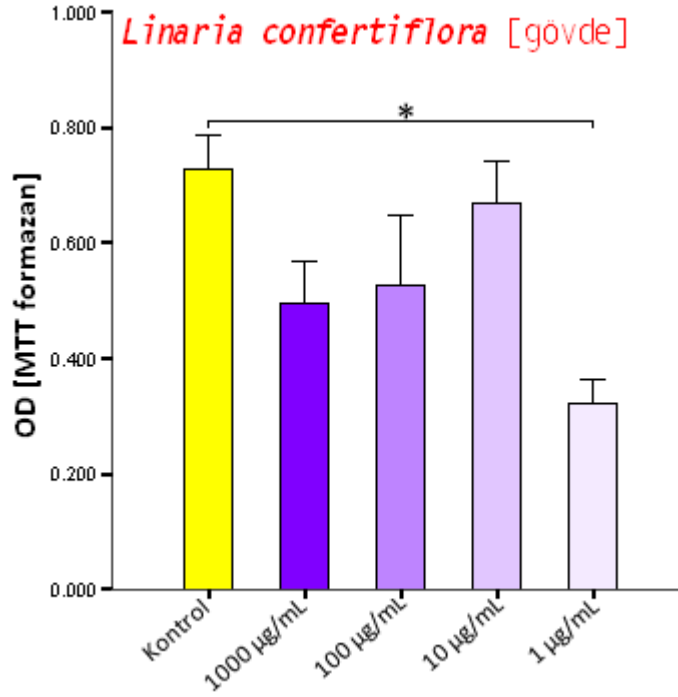


Şekil 4.15. *L. confertiflora* gövde ekstresinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*L. confertiflora* gövde ekstresinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*L. confertiflora* gövde ekstresinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin üretmiş oldukları MTT formazana ait OD değerleri şekil 4.16.' da görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri 0.728±0.057 olarak saptanmıştır.

*L. confertiflora* gövde ekstralarının 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.494 \pm 0.075$ , [ $p < 0.287$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.526 \pm 0.122$ , [ $p < 0.411$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.671 \pm 0.072$ , [ $p < 0.983$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.322 \pm 0.039$  [ $p < 0.028$ ], (ANOVA  $p < 0.031$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.16. *L. confertiflora* gövde ekstralarının K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması. \*  $p < 0.05$ .

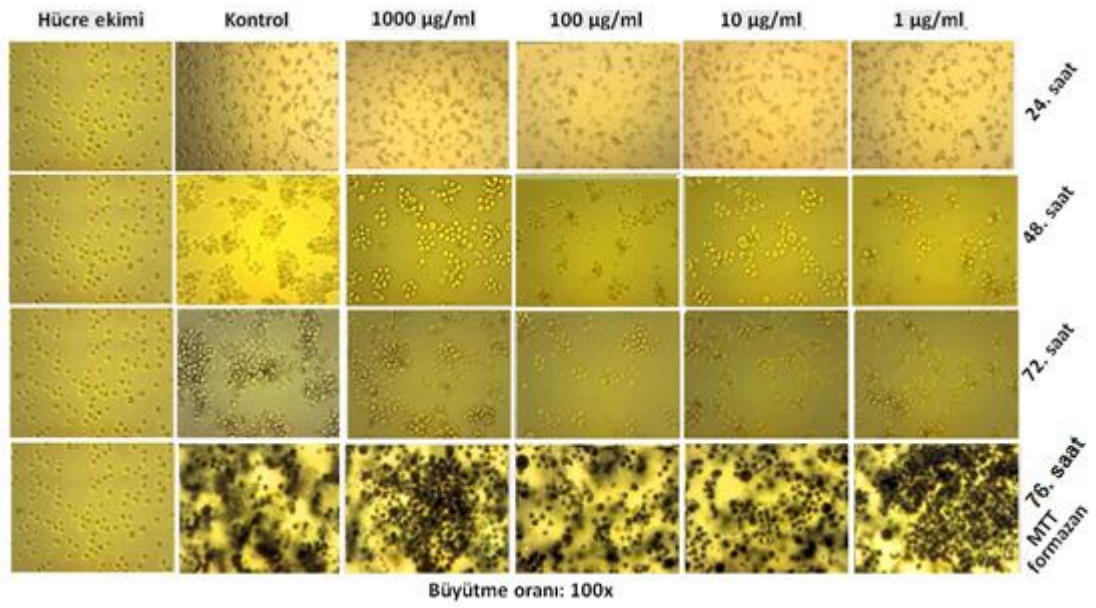
Elde edilen verilere göre, *L. confertiflora* gövde ekstrasının kontrole göre tüm dozlarında sitotoksosite görülmüştür. 1 µg/ml dozunun en çok sitotoksosite gösterdiği, 1000 µg/ml ve 100 µg/ml dozlarının birbirine yakın sitotoksosite ve 10 µg/ml dozunun ise en az sitotoksik olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8. *L. confertiflora* gövde ekstralarının K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/m	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksosite	32.2	27.8	7.9	55.7	0.031

#### 4.1.9. *Linaria confertiflora* kök ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *L. confertiflora* kök ekstrelerinin kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.17. ).

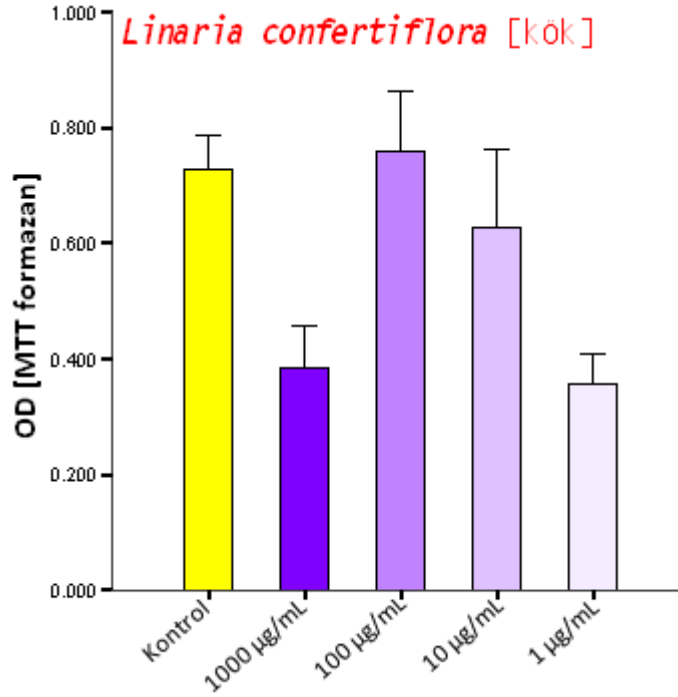


Şekil 4.17. *L. confertiflora* kök ekstrelerinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*L. confertiflora* kök ekstrelerinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin ürettiği MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*L. confertiflora* kök ekstrelerinin 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri şekil 4.18' de görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*L. confertiflora* kök ekstrelerinin 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.385 \pm 0.073$ , [ $p < 0.106$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.760 \pm 0.105$ , [ $p < 0.999$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.628 \pm 0.133$ , [ $p < 0.915$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.355 \pm 0.519$  [ $p < 0.074$ ], (ANOVA  $p < 0.028$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.18. *L. confertiflora* kök ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması.

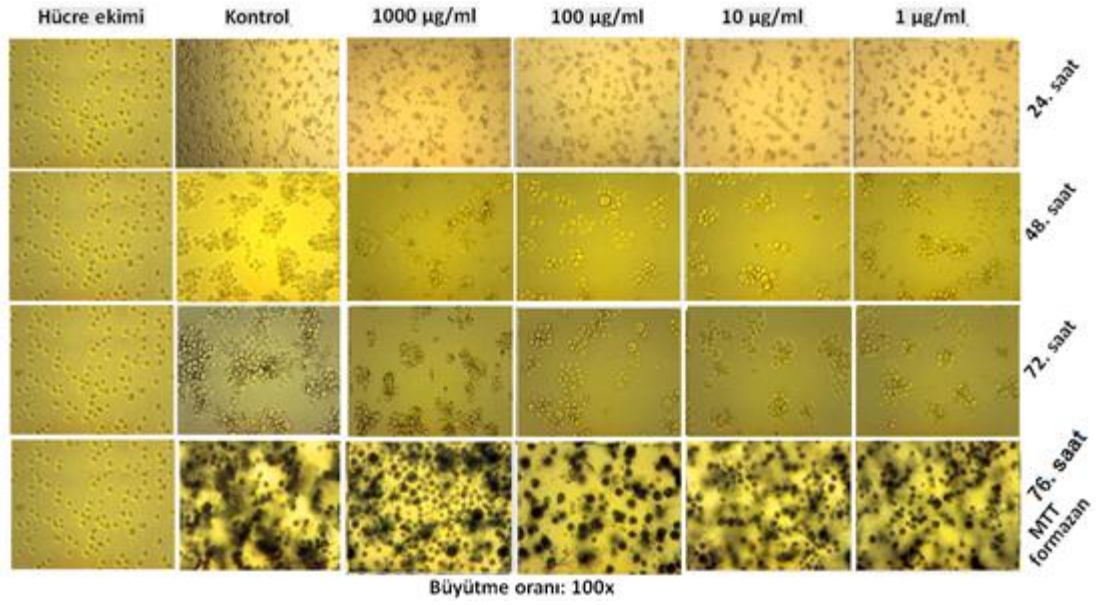
Elde edilen verilere göre, *L. confertiflora* kök ekstresi 1000 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarının sitotoksik etki gösterdiği, 100 µg/ml dozunun kontrole göre proliferasyonda artışa neden olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.9. *L. confertiflora* kök ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksosite	47.1	0	13.7	51.2	0.028

#### 4.1.10. *Linaria confertiflora* yaprak ekstresinin sitotoksik etkileri

Değişen dozlarda (1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml) *L. confertiflora* yaprak ekstralarının kültür ortamında K562 eritrolösemik kanser hücrelerinin gelişimleri üzerine etkilerinin belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopta incelenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değişimler görüntüleme sistemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.19. ).

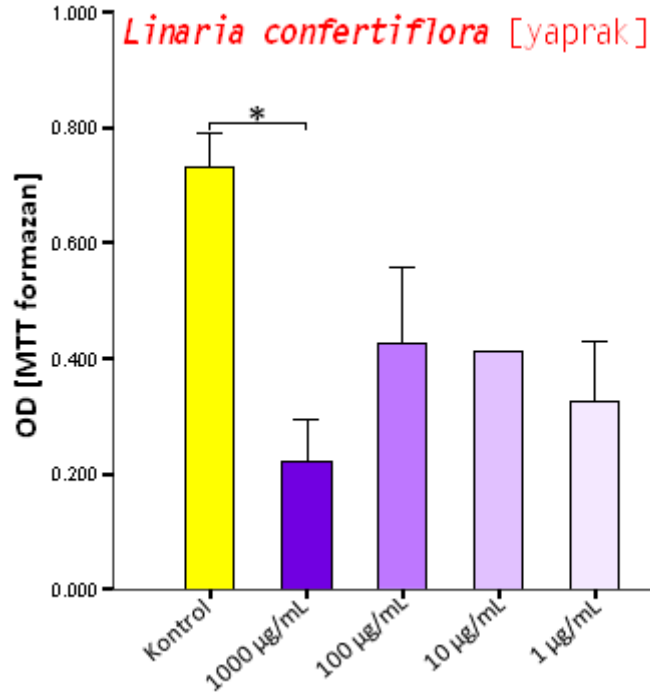


Şekil 4.19. *L. confertiflora* yaprak ekstralarının kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

*L. confertiflora* yaprak ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle belirli zaman aralıklarında (24, 48 ve 72 saat) inkübasyon sonunda oluşan görüntüler ve ortama MTT eklendikten 4 saat sonra hücrelerin ürettiği MTT formazana ait görüntüler görülmektedir.

*L. confertiflora* yaprak ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında K562 hücreleriyle 72 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri Şekil 4.20.' de görülmektedir. Kontrol kuyucuklarına ait ortalama OD değeri  $0.728 \pm 0.057$  olarak saptanmıştır.

*L. confertiflora* yaprak ekstrelerinin 1000 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.215 \pm 0.073$ , [ $p < 0.039$ ], 100 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.424 \pm 0.131$ , [ $p < 0.635$ ], 10 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.408 \pm 0.000$ , [ $p < 0.681$ ], 1 µg/ml dozda eklenen kuyucukların ortalama OD değeri  $0.323 \pm 0.102$  [ $p < 0.491$ ], (ANOVA  $p < 0.045$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.20. *L. confertiflora* yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerindeki doza bağımlı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için kontrol ve test kuyucuklarında oluşan MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması. \*  $p < 0.05$ .

Elde edilen verilere göre, *Linaria confertiflora* yaprak ekstresi kontrolle karşılaştırıldığında 1000 µg/ml dozunda çok yüksek sitotoksik etki göstermiştir. 100 µg/ml, 10 µg/ml ve 1 µg/ml dozlarında da belirgin sitotoksikite tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10. *L. confertiflora* yaprak ekstrelerinin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Ekstre dozları (µg/ml)				ANOVA
	1000 µg/ml	100 µg/m	10 µg/ml	1 µg/ml	
% sitotoksikite	70.5	41.8	43.9	55.6	0.045

## 4.2. Tartışma

Günümüzde antikanser araştırmalarında kullanılmak üzere kanserli hastalardan ve dokulardan izole edilmiş onlarca hücre serisi bulunmaktadır. Çalışmamız için seçtiğimiz K562 hücre serisi kronik miyeloid lösemnin blastik kriz evresinden kaynaklanan hücre dizileridir (Lozzio ve Lozzio, 1975). Glutasyon sistemi, oksidatif stres, eritroid farklılaşma ve anti-kanser tedavilerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Koeffler ve ark., 1980, Nakajima ve ark., 1993).

Elektron mikroskopunda bakıldığında K562 hücreleri kolay bağıntılı, düzgün şekilli, kısa mikrovillüslü, farklılaşmış lösemik hücrelerine benzer şekilde görülebilir (Klein ve ark., 1976). Giemsa ile hazırlanmış preparatlarda K562 hücreleri yaklaşık 20 µM çapında iki ya da daha fazla parçalı nükleuslu farklılaşmamış blast hücreleri olarak tanımlanabilir (Klein ve ark., 1976, Koeffler ve ark., 1980).

K562 hücrelerine karşı antineoplastik özelliklerin incelenmesinde olumlu sonuçlar aldığımız bitki ekstraktlarının farklı kanser hücrelerine etkileri sınırlı olabilir. Bu nedenle farklı sitotoksik maddelerin farklı hücrelerdeki etkilerinin tam olarak aydınlatılması oldukça önemlidir.

Çalışmalarda ölçüm performansı, tekrarlanabilirlik başarısı ve karşılaştırma yapmak için hücre populasyon miktarlarının anlamlı bir şekilde belirlenmesine ihtiyaç vardır. Bu nedenle hücre canlılığı ve proliferasyonlarını inceleyebilmek için bazı metodlar geliştirilmiştir.

Tundis ve arkadaşları (2005) linear hücre yoğunluğunda total protein içeriğine duyarlı indeks sayesinde dolaylı olarak hücre sayısını tahmin etmek için Ulusal Kanser Enstitüsünde *in vitro* antikanser taramaları için protein boyama Sulforhodamin B(SRB) yöntemini geliştirmişlerdir. *Linaria reflexa*' dan izole edilen birleşiklerin Caco-2 ve COR-L23 hücrelerine karşı sitotoksitesinin belirlenmesinde Sulforhodamin B(SRB) testi kullanılmıştır.

Shahverdi ve arkadaşları (2007) tarafından *Cousinia shulabadensis* bitkisinin etonolik ekstresi Wehi-164 hücrelerine karşı antiinvaziv etkisi belirlenmiştir. Bu çalışmada hücre proliferasyonunu Crystal Violet kolorimetrik yöntemiyle değerlendirmişlerdir. Her deneyden sonra hücreler soğuk PBS ile yıkanmış ve %5 formaldehit solüsyonuyla fikse edilmiştir. Fikse edilen hücreler %1 kristal viole ile boyanmış ve boyanan hücreler de %33,3 asetik asit solüsyonuyla çözündürülüp oluşan mor rengin yoğunluğu 580 nm’ de okunmuştur.

Khoobchandani ve arkadaşları (2009) Tripan Blue ve MTT yöntemi kullanılarak *Chenopodium album* hücre gelişimine etkisini incelemişlerdir. Tripan Blue testinde ölü hücreler boya alırken canlı hücreler boyanmaz. Uygulanan her iki yöntemin de yüzdelik inhibisyonu gerçek değerleriyle ortaya koyduğu belirtilmiştir.

Li ve arkadaşları (2009) CellTiter-Glo Luminescent hücre canlılık yöntemini kullanarak *Eugenia jambolana* meyvesinin meme kanseri hücreleri üzerine proliferasyonunu ölçmüşlerdir. Canlı hücrelerdeki ATP varlığında bu yöntemde kullanılan belirtecin lüminesans ürettiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda canlı hücrelerin oranını tespit etmek için kolorimetrik bir yöntem olan MTT testi uygulanmıştır. MTT test yöntemi, biyoyumluluk testleri içerisinde, hızlı sonuç alınması ve çok hassas olmasının yanı sıra materyallerin çok düşük düzeydeki toksisitelerini dahi değerlendirilebilmesine olanak sağlaması nedeniyle en güvenilir testlerden biri olarak kabul edilmektedir (Wataha ve ark., 1992, Bean ve ark., 1995).

Bu reaksiyon fragil bir mitokondrial enzim olan süksinat dehidrogenaz enziminin aktivitesine bağlıdır. Tetrazolium halkasının parçalanması sonucu soluk sarı renkli MTT boyası koyu mavi-mor formazan ürününe dönüşmektedir. Sonuç olarak, canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mor renkte boyanmakta, ölü ya da mitokondri fonksiyonu bozulmuş hücreler boyanmamaktadır. Bu yöntem hücrelerin MTT boyasıyla inkübasyonu, presipite reaksiyon ürününün çözünür hale



getirilmesi ve reaksiyon ürününün kolorimetrik olarak ölçümü basamaklarından oluşmaktadır (Yaka ve ark., 2006).

Önceden bildirildiği gibi *Cousinia shulabadensis* türünün ekstresi ile yapılan çalışmada pozitif kontrol olarak diklofenak sodyum 10, 20, 40 ve 80 µg/ml dozlarında fibrosarkoma (Wehi 164) hücre serisi üzerine invazif etkileri test edilmiş ve DFS' nin IC-50 değeri 23 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Shahverdi ve ark., 2007).

Çalışmamızda K562 eritrolösemik kanser hücre serisine karşı kullanılan DFS' nin 1000, 100, 10 ve 1 µg/ml dozlarında uygulanmış ve IC-50 değeri yaklaşık 100 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Bitkiler, antineoplastik özelliği bilinen birçok ilacın ham maddesini oluşturmaktadırlar. *Taxus baccata* ve *Taxus brewifolia*' dan elde edilen taxol türevleri (paklitaksel ve dokotaksel), *Podophyllum peltatum*' dan etoposid, *Camptotheca acuminata*' dan camptothecin, *Catharanthus roseus*' tan (*Vinca rosae*, *V. minor*) vinblastin ve vincristin bitkilerden elde edilen antineoplastik ajanların en iyi bilinenleridir (Mantle ve ark., 2000).

Chakraborty ve arkadaşları (2004) *Tiliacora racemosa* kökünden izole edilen total alkaloidlerin HL-60, K562, MCF-7, HeLa kanser hücre serilerine maksimum sitotoksik etki yaparken, *Semecarbus anacardium*' un fındık yağı sadece K562 kanser hücrelerine etki ettiğini tespit etmişlerdir. Mikroskopik incelemelerde bu ajanlarla muamele edilen hücreler karakteristik olarak büzülme gibi apoptozis şekli sergilemişlerdir. Apoptosisden dolayı meydana gelen kromatin kısalması florasan boya ile belirlenmiştir ve buradaki apoptozisin sitotoksik parametrelerle paralellik gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızda *Centaurea obtusifolia* kök ekstresinin pozitif kontrol olarak kullandığımız DFS'den daha etkin görülmesi kök ekstresinin önemini göstermektedir. İstatiksel analizlere göre "p" değeri 0.001' dir ve ileri derecede anlamlı bulunmuştur. Ölçtüğümüz sitotoksik değerlerin hücrelerde nasıl bir foksiyon bozukluğuna sebep olduğu henüz bilinmemektedir. Bunun belirlenmesi için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Shan ve arkadaşları (2005) *Cynanchum auriculatum* (Royle ex Wight) türünün kökünden elde edilen etanolik ekstrenin K562 hücrelerine karşı yüksek antitümör aktivite gösterdiği belirtmektedirler. Çalışmamızda *Linaria confertiflora* etanolik kök ekstresinin K562 hücrelerine karşı %51 düzeyinde sitotoksikite gösterdiği tespit edilmiştir. İstatiksel verilere göre bulunan 0.028 “p” değeri anlamlıdır. Kökten elde edilen etanolik ekstralar sitotoksik ajan olmaya aday gösterilebilir.

Turan ve arkadaşları (2006) toksik bir bitki olan *Nerium oleander* yaprak, gövde ve kök ekstralarının lösemi hücre serileri üzerine sitotoksik etkilerini ve bu etkide p-glikoprotein rolünü incelemişlerdir. Yaprak, kök ekstralarının gövdeden daha yüksek sitotoksik olduğu, p-glikoprotein seviyesinin düştüğü belirlenmiştir. Sitotoksik etkinin p-glikoprotein inhibe olmasıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir. Çalışmamızda *Linaria confertiflora* yaprak, gövde ve kök ekstralarında kontrole göre %50 den fazla sitotoksik etki görülmüştür. Gövdede de etkinlik bulunması bitkilerin bütün kısımlarının değerlendirilmesi adına önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Jingyong ve arkadaşları (2007) Çin halk hekimliğinde geleneksel olarak kullanılan *Spiranthes australis* (R. Brown) Lindl bitkisinin kökünden spektroskopik metodlarla elimine ettikleri dihidroflavanoidi A549, BEL-7402, SGC-7901, MCF-7, HT-29, K562 ve A498 kanser hücre serileri üzerinde denemişlerdir. Yeni bir antikanser dehidroflavanoid olan ürünün bütün hücre serilerine özellikle K562 eritrolösemik kanser hücrelerine karşı doz bağımlı inhibitör etki gösterdiği belirtilmektedir. Çalışmamızla bu çalışmanın ortak yönü kök ekstresinin aynı hücre serisi üzerinde sitotoksik etkisinin araştırılmasıdır. *Centaurea obtusifolia* kök ekstresi, en yüksek dozda en yüksek sitotoksikite gösterirken *Linaria confertiflora* kök ekstresi en düşük dozda en yüksek etkiyi göstermiştir. İki bitkinin farklı bileşenlere sahip olduğu, saflaştırma yöntemiyle elde edilecek bileşiklerin yeni araştırmalarda test edilerek orijinal sonuçlara ulaşılacağı düşünülebilir.

Kumarappan ve arkadaşları (2007) *Ichnocarpus frutescens* türünün yapraklarının polifenolik ekstresi U-937 ve K562 hücre serilerinde *in vitro* antitümör aktivitesi değerlendirilmiştir. Sonuçta proliferasyonu engellediği tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, *Centaurea obtusifolia* ve *Linaria confertiflora*'nin genç yapraklarında %50' nin üzerinde sitotoksik etki görülmüştür. Bitkilerin özellikle genç yaprak kısımlarının araştırmalara konu olabilecek özellikleri içermesi açısından önemlidir.

Yuanhu ve arkadaşları (2007) *Datura metel* çiçeğinin metanolik ekstresinden on etken madde izole etmişlerdir. Birinci bileşik  $\Delta^2$ , 5 $\beta$ , 6 $\beta$ -epoxy, OH-12 $\beta$ , üçüncü bileşik  $\Delta^{2,4}$  OH-6 $\beta$ , OH-12 $\beta$ , dördüncü bileşik  $\Delta^{2,5}$ , OH-12 $\beta$ , altıncı bileşik OH-3 $\alpha$ , 5 $\beta$ , 6 $\beta$ -epoxy bu ürünler A-549 (akciğer), BGC-823 (gastrik) ve K562 (lösemi) kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite göstermişlerdir. Çalışmamızda, *Centaurea obtusifolia* çiçek etanolik ekstresinin 100 ug/ml dozunda referans drogun tüm dozlarından daha yüksek sitotoksitite tespit edilmiştir. Ancak son 100-150 bireyle var olmaya devam eden Şanlıurfa endemiği *Centaurea obtusifolia* çiçeğinin bileşiklerinin belirlenmesi için daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiğini öngörmekteyiz.

Preethi ve arkadaşları (2010) *Calendula officinalis* çiçek ekstresinin B16F-10 melanoma kanser hücrelerinin akciğerdeki metastaza etkisi *in vivo* olarak araştırılmıştır. Bu ekstrenin metastaza neden olan çeşitli genleri ekspresse ederek üretilen enzimlerin kanserli hücreleri inhibe ettiğini belirtmektedirler. *In vitro* olan çalışmamızda yüksek sitotoksitite tespit ettiğimiz *Centaurea obtusifolia* çiçek ekstresinin sağlıklı doku ve hücreler üzerine etkili olup olmayacağı *in vitro* ve *in vivo* araştırmalarla da desteklenmelidir.

Xu ve arkadaşları (2010) iki yeni amid alkaloidleri 3-izoprofil-tetrahidrapirrol [1,2-a] pirimidin-2,4(1H,3H)-dion ve 1-asetil-2,3,6-triizoprofil-tetrahidropirimidin-4(1H)-on olan *Aconitum taipeicum* kökünden izole edilmiştir. Bu bileşiklerin HL-60 hücrelerine karşı Adriyamisin ilacından daha belirgin hücre gelişimini inhibe ettiği görülmüş, K562 hücrelerine karşı da antitümör aktiviteleri olduğu görülmüştür. Çalışmamızda da *Centaurea obtusifolia* nın kök ve çiçek ekstresi farklı dozlarda DFS' den daha yüksek sitotoksik etki göstermiştir. Bu yönüyle iki çalışmada kullanılan bitkilerin, antineoplastik ajan elde edilebilir materyal oldukları düşünülebilir.

Skandrani ve arkadaşları (2010) *Moricandia arvensis*'nin yaprak etil asetat, kloroform ve petrolyum eter ekstreleri kullanılarak *in vitro* antiproliferatif, apoptotik ve antioksidan aktiviteleri incelenmiş, K562 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir. Çalışmamızda da, *Linaria confertiflora* yaprak etanolik ekstresi DFS ve diğer ekstrelerinden daha fazla (%70 civarında) sitotoksikite tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız bitkilerden farklı solventler kullanılarak ekstreler elde edilip, bu ekstrelerin sitotoksik etkilerinin araştırılmasının önemli olacağını düşünmekteyiz.

Predes ve arkadaşları (2011) çeşitli çözücülerle hazırlanmış *Arctium lappa* kök ekstresinin K562, MCF- 7 ve 786-0 kanser hücre serilerine karşı antioksidan ve *in vitro* antiproliferatif aktivitesi değerlendirilmiştir. Diklorometanolik ekstrenin bu hücrelere karşı antiproliferatif etkisi olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda *Linaria confertiflora* kök ekstresinin 100 µg/ml dozunda proliferasyon görülürken, 1 µg/ml dozunda %51' in üzerinde sitotoksikite tespit edilmiştir. Düşük dozda daha etkili sonuç alınması nedeniyle kökün ham madde temininde önemli olabileceğini öngörmekteyiz.

Shoeb ve arkadaşları da (2006) *Centaurea montana* bitkisinin tohumunda bulunan alkaloidlerin *in vitro* şartlarda kolon kanseri hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiğini kaydetmişlerdir.

Çalışmamızdaki lokalize endemik *Centaurea obtusifolia* türünün özellikle çiçek ve kök kısımlarında umut verici düzeyde antineoplastik etki tespit edilmiştir.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonucunda *Linaria confertiflora*'nın gövde, kök ve yaprak ekstralarının 1 µg/ml dozunda %50' nin üzerinde sitotoksik etkinliğe rastlanırken *Centaurea obtusifolia*'nin sadece genç yaprak ekstresinin 1 µg/ml dozunda rastlanmıştır. Bu bulgular bize her iki bitkinin de üzerinde daha ileri araştırmalar yapılmasına değer birer kemoterapötik ajan adayı olduğunu işaret etmektedir.

Bu çalışmanın daha da ileriye götürülmesinin önemli ve yararlı olabileceğini düşünmekteyiz. Tasarlanacak çalışmalarda şu hususların dikkate alınmasını önermekteyiz;

- Ekstraksiyon işlemleri için değişik solventlerin kullanılmasının bitkilerin sahip olduğu diğer çeşitli fraksiyonları ekstreye katabileceği,
- Bitki ekstralarının HPLC sistemiyle daha hassas bir şekilde fraksiyonlanarak kullanılmasının daha kesin ve net sonuçlara ulaşmayı sağlayacağı,
- Çalışmada sadece kanserli hücrelerin kullanılmasının yerine, ekstraların sağlıklı hücreler üzerinde de denenmesinin gerekli olduğunu, daha da ileri olarak sağlıklı hücreler yerine kanserli hastaların dokularından saflaştırılmış kanserli hücreler üzerinde de denenmesinin gerekli olduğunu,
- Ekstrelerin aynı zamanda *in vivo* şartlarda deney hayvanları üzerinde denenerek canlı sistemle teması sonucu ekstralarda aktivite kaybı oluşup oluşmayacağını test edilmesi gerektiğini,
- Ekstrelerin aynı zamanda kendi aralarında ya da etkinliği bilinen kemoterapötik droglarla kombine edilip denenmesinin önemli olabileceğini,
- Yöremizde bulunan *Centaurea obtusifolia* ve *Linaria confertiflora* türlerinden başka birçok endemik bitki üzerinde bu araştırmaların gerçekleştirilerek, hem yöremizin zenginliğini gözler önüne sermeyi hem de bu kapasiteyi ülkemiz için katma değere dönüştürmenin ülke ekonomisi ve insan sağlığı açısından önemli olabileceğini dikkatlere sunmak isteriz.

## KAYNAKLAR

- AKYOL, H., 2004. Kemoterapinin Temel İlkeleri. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, 18-22 Mayıs, İzmir, s. 159-163.
- AL-EASA, H.S., KAMEL, A. and RIZIK, A.F., 1992. Flavonoids from *Centaurea sinaica*, Fitoterapia, 63(5); 468-469.
- ALİ, Y.E., OMAR, A.A., SARG, T.M. and SLATKİN, D.J., 1987. Chemical Constituents of *Centaurea pallescens*. Planta Med., 53(5); 503-504.
- ANONİM, 2011. GAP Yöresindeki Endemik ve Tıbbi Bitkiler. Türkiye Çevre Vakfı Yayınları, Ankara, 207s.
- AZIRAK, S., 2007. Thymol ve Carvacrol' un *In Vivo* Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 122s.
- BAĞCI, Y., 2000. Aladağlar (Yahyalı, Kayseri) ve Çevresinin Etnobotanik Özellikleri. Ot Sistematik Botanik Dergisi, 7(1); 89-94.
- BARRERO, A. F., HERRADOR, M. M., ARTEAGA, P., CABRERA, E., RODRIGUEZ-GARCIA, I., GARCIA-MORENO, M. and GRAVALOS, D.G., 1997. Cytotoxic Activity of Flavonoids from *Carthamus arborescens*, *Ononis natrix ssp. ramosissima* and *Centaurea malacitana*. Fitoterapia, 68(3); 281-283.
- BASTOS, M. M. S. M., KIJJOA, A., and PINTO, M. M. M., 1994. Constituents of *Centaurea ornata ssp. Ornata*. Fitoterapia, 65(2); 191.
- BAYLAV, N., 1953. Fatih Sultan Mehmed devrinde (Te'lif, Terceme ve İstinsah Edilen) Tıp Eserleri ile İlaçlar. Türkiye Tıbbi Müstahzarat Lab. Derneği Yayınları, İstanbul,1; 21.
- BAYTOP, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:3255, Sanal Matbaacılık, İstanbul, 420s.
- BAYTOP, T., 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 316s.
- BEAN, T. A., ZHUANG, W. C., TONG, P. Y., EICK, J. D., CHAPPELOW, C. C., and YOURTEE, D. M., 1995. Comparison of Tetrazolium Colorimetric and <sup>51</sup>Cr Release Assays for Cytotoxicity Determination of Dental Biomaterials. Dent Mater, 11;327-331.

- BENDER, R. A., CASTLE, M. C., MARGILETH D. A., and OLIVERIO, V. T., 1977. The Pharmacokinetics of [3H]-Vincristine in Man. Clin Pharmacol Ther. 22:430-435.
- BİLGİR, O., BOLAMAN, Z., ve AYYILDIZ, O., 1995. Sitotoksik İlaçlar. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 15;134-143.
- CARLES, J., NOGUE, M., DOMENECH, M., et al., 2000 Carboplatin-Gemcitabine Treatment of Patients With Transitional Cell Carcinoma of The Bladder and Impaired Renal Function. Oncology 59(1); 24-27.
- CHAKRABORTY, S., ROY, M., TARAPHDAR, A. K., and BHATTACHARYA, R. K., 2004. Cytotoxic Effect of Root Extract of *Tiliacora racemosa* and Oil of *Semecarpus anacardium* Nut in Human Tumour Cells. Phytother. Res., 18, 595–600.
- CHANG, A. Y., HUI, L., ASBURY, R., et al., 1999. Ifosfamide, Carboplatin and Etoposide (ICE) in Metastatic and Refractory Breast Cancer. Cancer Chemother Pharmacol., 44;26-28.
- CHUCLA, M.T., LAMELA, M., GATO, A. ve CADAVID, I., 1988. *Centaurea corcubionensis*: A Study of its Hypoglycemic Activity in Rats. Planta Med., 107-109p.
- CİNGİ, İ., ve EROL, K., 1996. Kemoterapötikler. Farmakoloji Ders Kitabı, AÖF Yayınları, Eskişehir, 121-163s.
- ÇAKILCIOĞLU, U. 2006. Harput'un (Elazığ) Bazı Nadir ve Endemik Bitkileri, 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran, Kuşadası, Aydın, 105s.
- DAVIS, P. H., 1978. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol.6, University Press, Edinburgh, 654-72p.
- DAVIS, P. H., 1975. Flora of Turkey and East Aegean Islands. University Press, Edinburgh, Britain, Vol.5, 528p.
- DEMİRTAŞ, İ., 2003. Antineoplastik (Sitotoksik) İlaçlarla Güvenli Çalışma Rehberi. Hemşirelik Hizmetleri Daire Başkanlığı Yayınları, Ankara, 18s.
- DOBRESCU, D., CRISTEA, A. and SUSANU, M., 1985. Experimental pharmacodynamic study of *Linaria vulgaris* used in folk medicine for the treatment of eczemas. Farmacia Bucharest, 33; 215-20.
- EROL, M. K., ve TUZLACI, E., 1997. Eğirdir (Isparta) Yöresinin Geleneksel Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkileri, "XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı

Bildiri Kitabı, Ed. Coşkun, M, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:75, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 466-475s.

ERTEKİN, S., 2002. Sürdürülebilir Kırsal ve Kentsel Kalkınma Derneği, Karacadağ Bitki Çeşitliliği Raporu, Diyarbakır, 119s.

FARRAG, N. M., ABD EL AZİZ, E. M., EL-DOMIATY, M. M. and EL SHAFEA, A. M., 1993. Phytochemical Investigation of *Centaurea araneosa* Growing in Egypt, Zag. J. Pharm. Sci., 2(1); 29-45.

GLASBY, J. S., 1991. Dictionary of Plants Containing Secondary Metabolites. Taylor and Francis Ltd., Burgess Science Press, London, 193s.

GROEGER, D. and JOHNE, S., 1965. Occurrence of peganine in *Linaria* species, Planta Med., 13(2); 182-8.

GÜRKAN, E., SARIOĞLU, İ. ve ÖKSÜZ, S., 1998. Cytotoxicity Assay of Some Plants from *Asteraceae*. Fitoterapia, 69(1); 81-82.

GÜRÜN, M. S., 2004. Bitkisel Tıp. ANKEM Dergisi, 18(2);133-136.

HARBORNE, J. B. and VALDES, B., 1971. Identification of scutellarein 4'-methyl ether in *Linaria aeruginea*. Phytochemistry, 10(11); 2850-1.

HARBORNE, J. B., 1966. Comparative biochemistry of flavonoids. I. Distribution of chalcone and aurone pigments in plants. Phytochemistry, 5(1); 111-115.

JINYONG, P., QIWEI, X. U., YOUWEI, X. U., YAN, Q. I., XU, H., and LINA, X. U., 2007. A New Anticancer Dihydroflavanoid from the Root of *Spiranthes Australis* (R. Brown) Lindl. Natural Product Research, Vol. 21, No. 7, 641–645.

KAIJ-A-KAMB, M., AMOROS, M. ve GIRRE, L., 1992. Chemical and Biological Activity of the Genus *Centaurea*. Pharm. Acta. Helv., 67(7); 178-188.

KAMANZI, K., RAYNAUD, J. ve VOIRIN, B., 1983. The C-Glycosyl Flavonoids from Flowers of *Centaurea malitensis*. Plant. Med. Phytother., 17(1); 47-51.

KAYAALP, S. O., 2000. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt I, Dokuzuncu Baskı, Hacettepe TAS, Ankara, 397s.

KHOOBCHANDANI, M., OJESWI, B. K., SHARMA, B., and SRIVASTAVA, M. M., 2009. *Chenopodium album* Prevents Progression of Cell Growth and Enhances Cell Toxicity in Human Breast Cancer Cell Lines. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2(3); 160-165.

KIM, M. B., PARK, J. S. and LIM, S. B., 2010. Antioxidant Activity and Cell



Toxicity of Pressurised Liquid Extracts from 20 Selected Plant Species in Jeju. Korea, Food Chemistry, 122; 546–552.

- KITAGAWA, L., TANI, T., AKITA, K. ve YOSIOKA, I., 1973. Constituents of *Linaria japonica*. I. Sttucture of linarioside, a new chlorinated iridoid glucoside and identification of two related glucosides. Chem. Pharm. Bull., 21(9); 1978-87.
- KLEIN, E., BEN-BASSAT, H., NEUMANN, H., RALPH, P., ZEUTHEN, J., POLLIACK, A., and VÁNKY, F., 1976. Properties of the K562 Cell Line, Derived from a Patient with Chronic Myeloid Leukemia. Int J Cancer., 18(4); 421-31.
- KOEFFLER, H. P., GOLD, D. W. W., 1980. Human Myeloid Leukemia Cell Lines. Blood Dergisi, 56(3);344-50.
- KUMARAPPAN, C. T., SUBHASH, C., and MANDAL, 2007. Antitümör Activity of Polyphenolic Extract of *Ichnocarpus Frutescens*. Experimental Oncology Dergisi, 29(2); 94–101.
- LESURTEL, M., GRAF, R., ALEIL, B., WALTHER, D., TIAN, Y., JOCHUM, W., GACHET, C., BADER, M., and CLAVIEN, P., 2006. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration, Science, 312 (5770); 104–7.
- LI, L., ADAMS, L. S., CHEN, S., KILLIAN, C., AHMED, A., and SEERAM, N. P., 2009. *Eugenia jambolana* Lam. Berry Extract Inhibits Growth and Induces Apoptosis of Human Breast Cancer But Not Non-Tumorigenic Breast Cells. Journal Agricultural Food Chemistry, 57, 826–831.
- LOZZIO, C. B., and LOZZIO, B. B., 1975. Human Chronic Myolegenous Leukemia Cell Line with Positive Philadelphia Chromosome. Blood Dergisi, 45(3); 321-33.
- MANTLE, D., LENNARD, T. W. and PICKERING, A. T., 2000. Therapeutic Applications of Medicinal Plants in the Treatment of Breast Cancer : A Review of Their Pharmacology, Efficacy and Tolerability. Adverse Drug React Toxicol Rev, 19: 233- 240.
- MCGAHON, A. J., MARTIN, S. J., BISSONNETTE, R. P., MAHBAUBI, A., SHI, Y., MOGIL, R. J., NISHIOKA, W. K., GREEN, D. R., 1995. The end of the (cell) Line: Methods for the Study of Apoptosis *in vitro*. In “Methods in Cell Biology, Vol 46, Cell Death”, LM Schwartz and BA Osborne (eds.), Academic Press, San Diego, 150-181s.
- NAKAJIMA, O., HASHIMOTO, Y., and IWASAKI, S., 1993. Enhancement by Retinoid of Hemin İnduced Differantiation of Human Leukemia K562 Cell Line. FEBS, 330; 81-84s.

- NEGRETE, R., BACKHOUSE, N., AVENDANO, S. and SAN MARTIN, A., 1984. Dehydrocostus Lactone and 8 $\beta$ -hydroxydehydrocostus Lactone in *Centaurea chilensis* Hook and Arn., Plant. Med. Phytother., 18(4); 226-232.
- NEGRETE, R., BACKHOUSE, N., CAJIGAL, I., DELPORTE, C., CASSELS, B.K., BREITMAIER, E. and ECKHARDT, G., 1993. Two New Antiinflammatory Elemanolides from *Centaurea chilensis*. *J. Ethnopharmacol.*, 40(3); 149-153.
- ORALLO, F., LAMELA, M., CAMINA, M., URIATRE, E. and CALLEJA, M., 1998. Preliminary Study of the Potential Vasodilator Effects on Rat Aorta of Centaurein and Centaureidin, Two Flavonoids from *Centaurea corcubionensis*. *Planta Med.*, 64(2); 116-119.
- PREDES, F. S., RUIZ, A. L., CARVALHO, J., FOGLIO, M., and DOLDER, H., 2011. Antioxidative and *In Vitro* Antiproliferative Activity of *Arctium lappa* Root Extracts Predes et al. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11:25.
- PREETHI, K. C., SIVEEN, S. Y., KUTTAN, R., and KUTTAN, G., 2010. Inhibition of Metastasis of B16F-10 Melanoma Cells in C57BL/6 Mice by an Extract of *Calendula Officinalis* L. Flowers. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 11. s1773-1779.
- SALMON, S. E., SARTORELLI A. C., 1995. Edited by Katzung BG. *Basic&Clinical Pharmacology*, In: *Cancer Chemotherapy*. 6th edition, Lebanon, 831s.
- SCINTO, L. F., and DAFFNER, K. R., 2000. Early diagnosis of Alzheimer's disease. *Humana pres*, 31p.
- SEPULVEDA, S., DELHVI, S., KOCH, B. ve ZILLIKEN, F., 1994, "Constituents of *Centaurea chilensis*" , *Fitoterapia*, 65(1): 88-89.
- SHAHVERDI, A. R., KHORAMIZADEH, M. R., GHAHRAMAN, M. H., GOLYAEI, A., ATTAR, F. and GHAHRAMAN, A., 2007. Chemopreventive Effect of *Cousinia Shulabadensis* Attar & Ghahraman Ethanol Extract. *Afr. J. Trad. Cam*, 4: 12-16.
- SHAN, L., ZHANG, W., ZHANG, C., LIU, R., SU, J., and ZHOU, Y., 2005. Antitumor Activity of Crude Extract ve Fractions from Root Tuber of *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight. *Phytother. Res.* 19; 259–261.
- SHI, T. Z., and YAN, J. L., 1994. Therapeutic Effect of Carboplatin and Etoposide Combinative Therapy on 123 Lung Cancer Cases. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 16(5): 384-386.
- SHOEB, M., MACMANUS, S. M., JASPARS, M., TREVIDU, J., NAHAR, L., KONG-THOO-LIND, P. and SARKERE, S. D., 2006. Montamine, a Unique

Dimeric Indole Alkaloid, from the Seeds of *Centaurea montana* (Asteraceae), and its *in vitro* Cytotoxic Activity Against the CaCo<sub>2</sub> Colon Cancer Cells, *Tetrahedron*, 62: 11172–11177.

SINGH, M. and PRAKASH, L., 1987. A new flavone glycoside and other chemical constituents from *Kickxia ramosissima* Wall. (Syn. *Linaria ramosissima* Wall.) (Scrophulariaceae). *Pharmazie*, 42(7); 490-1.

SKANDRANI, I., BOUBAKER, J., BHOURI, W., LIMEM, I., KILANI, S., SGHAIER, M. B., NEFFATI, A., BOUHLEL, I., GHEDIRA, K., and CHEKIR-GHEDIRA, L., 2010. Leaf extracts from *Moricandia arvensis* promote antiproliferation of human cancer cells, induce apoptosis, and enhance antioxidant activity *Drug Chem Toxicol*, Vol. 33, No. 1, 20-27.

STICHER, O., 1971. Isolation of antirrinocide from *Linaria vulgaris*. *Phytochemistry*, 10(8), 1974-5.

TRIFUNOVIC, S., VAJS, V., JURANIC, Z., ZIZAK, Z., TESEVIC, V., MACURA, S. and MILOSAVLJEVIC, S., 2006. Cytotoxic Constituents of *Achillea clavennae* from Montenegro. *Phytochemistry*, 67:887–893.

TUNDIS, R., DEGUIN, B., LOIZZO, M. R., BONESI, M., STATTI, G. A., TILLEQUINB, F. and MENICHINI, F., 2005. Potential Antitumor Agents: Flavones and Their Derivatives from *Linaria reflexa* Desf. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15:4757–4760.

TURAN, M., SÖKMEN, A., KARADAYI, K., POLAT, Z. A., ve ŞEN, M., 2010. Sivas yöresine özgü bazı bitki özütlerinin anti neoplastik etkileri *Cumhuriyet Tıp Derg.* 32: 9-18.

TURAN, N., AKGÜN-DAR, K., KURUCA, S, E., KİLİÇASLAN-AYNA, T., SEYHAN, V. G., ATASEVER, B., MERİÇLİ, F., ve CARİN, M., 2006. Cytotoxic Effects of Leaf, Stem and Root Extracts of *Nerium oleander* on Leukemia Cell Lines and Role of the p-glycoprotein in This Effect. *J Exp Ther Oncol.*, 6(1):31-8.

ÜNVER, S, A., 1938. Türk Tıp Tarihinde Kanser ve Tedavisine Dair. İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi Mecmuası, 1(5); 673-8.

VAZQUEZ, F.M., SUAREZ, M.A. and PEREZ, A., 1997. Medicinal Plants Used in the Barros Area, Badajoz Province (Spain). *J. Ethnopharmacol.*, 55: 81-85.

WAGENITZ, G., 1975, *Centaurea L.* in “Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Ed. Davis, P.H V, Edinburgh University Press, Edinburgh, 465-586p.

- WATAHA, J. C., CRAIG, R. G., and HANKS, C. T., 1992. Precision of and New Methods for Testing *In Vitro* Alloy Cytotoxicity. *Dent Mater*, 8; 65–70.
- WEI, H.X., GAO, W.Y., TIAN, Y.K., GUAN, Y.K. HUANG, M.H. and CHENG, D.L., 1997 New Eudesmane Sesquiterpene and Thiophene Derivatives from the Roots of *Rhaponticum uniflorum*, *Pharmazie*, 52(3): 245-247.
- XU, Y., GUO, Z. J., and WU, N., 2010. Two new amide alkaloids with anti-leukaemia activities from *Aconitum taibeicum*. *Fitoterapia*, 81(8); 1091-3.
- YAKA, E., YÜKSEL, ERİLMEZ, M., KESKİNOĞLU, P., ÇAVDAR, Y., GENÇ, Ş., GENÇ, K., İYİLİKÇİ, L., ve YENER, G. G., 2006. Alzheimer Hastalığında Beyin Omurilik Sıvısında (Bos) Biyolojik Belirteçler ve Bos'un Pc12 Hücre Hattı Canlılığı Üzerine İn Vitro Etkisinin Değerlendirilmesi. *Turkish Journal of Geriatrics*; 9 (1); 1-7.
- YUANHU, P., XIAOCHUAN, W., and XIANMING, H. U., 2007. Cytotoxic Withanolides from the Flowers of *Datura metel*. *J. Nat. Prod.*, 70, 1127-1132.

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Elazığ' da doğdu. İlköğretim ve liseyi Elazığ' da tamamladı. Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde 2005' te başladığı lisans eğitimini 2009 yılında tamamladı. Aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı' nda yüksek lisans eğitimine başladı ve halen devam etmektedir.

### İletişim Bilgileri:

ayferozcelik@yahoo.com.tr

GSM: 0 538 623 69 01

## ÖZET

Günümüzde kanser tedavisinde birçok bitkisel kaynaklı kemoterapötik ajanın başarıyla kullanılmasının yanında henüz ideal sayılabilecek kemoterapötik bir ajan bulunmamaktadır. Yeni kematerapötik ajan araştırmalarına katkıda bulunmak amacıyla planladığımız çalışmamızda *Centaurea obtusifolia* ve *Linaria confertiflora* bitki ekstralarının antineoplastik etkileri araştırılmıştır. Bitki örneklerinin çiçek, gövde, kök ve yapraklarının etanolik ekstraları hazırlandıktan sonra sitotoksik etkileri bir eritrolösemik kanser hücre serisi olan K562 hücreleri üzerinde denenmiştir. Sitotoksitenin belirlenmesinde kolorimetrik MTT yöntemi kullanılmıştır. Bitkilerin; çiçek, gövde, kök ve yaprak ekstralarının 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml' lik dozları ve kontrol olarakta aynı dozlarda diklofenak sodyum kullanılmıştır. K562 kanser hücre serileri üzerinde en yüksek sitotoksik etkinlik *Linaria confertiflora*' nın yaprak ekstralarının 1000 µg / ml dozunda (%70) saptanmıştır. Aynı şekilde *Centaurea obtusifolia*' nın çiçek ekstrasının 100 µg/ml ve kök ekstrasının 1000 µg/ml dozlarında (% 68) sitotoksik etkinlik saptanmıştır. Uygulanan en düşük doz olan 1 µg/ml dozu için en yüksek sitotoksik etki *Centaurea obtusifolia*' nın genç yaprak ekstrasında (% 56) ve *Linaria confertiflora*' nın gövde ekstrasında (% 55) saptanmıştır. Bu sonuçlar çalışmamızda kullanılan bu bitkilerin çeşitli kısımlarından elde edilen ekstraların kanser hücreleri üzerinde önemli ölçüde sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kemoterapotik ajan adayı olabilecek Şanlıurfa yöresine endemik olan bu bitkiler üzerinde daha detaylı *in vivo* çalışmaların gerçekleştirilmesinin yararlı olacağına inanmaktayız.

## SUMMARY

Although, many plant derived chemotherapeutic agents are recently being successfully used in cancer treatment, we couldn't find an ideal chemotherapeutic agent yet. In this study for we investigate antineoplastic effects of *Centaurea obtusifolia* and *Linaria confertiflora* plants extracts to contribute new chemotherapeutic agent researchs. Ethanolic extracts of the plants were prepared from flower, body, root and leaves separately and cytotoxic effects of these extracts were tested on K562 erythroleukemic cell lines. Cytotoxicity was determined by using colorimetric MTT assay. Flower, body, root and leaf extracts of these plants were used in doses of 1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml and Diclofenac sodium was used with same doses for positive control. Maximum cytotoxic effects on K562 cancer cell line were obtained from 1000 µg / ml of leaf extracts of *Linaria confertiflora* (70 %). *Centaurea obtusifolia*' s 100 µg/ml flower extracts and 1000 µg/ml root extracts showed maximum cytotoxic effects (68 %). Maximum cytotoxic effects for minimum dose (1 µg/ml) of plant extracts were found in *Centaurea obtusifolia*' s upper leaves extracts (56 %) and in *Linaria confertiflora*' s body extract (55 %). Our results showed that some of our plant extracts have significant cytotoxic effects on cancer cells. We believe that some detailed *in vivo* studies on endemic plants for in Sanliurfa region which can be candidate for chemotherapeutic agent will be useful.