T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CENTAUREA CİNSİ BİTKİLERİN KÖK KISMI SU EKSTRAKTLARININ HELA, HT-29 VE MCF-7 KANSER HÜCRE HATLARI ÜZERİNDE ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİ

NAGEHAN ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. FULYA DİLEK GÖKALP

EDİRNE – 2021

NAGEHAN ÖZTÜRK ' ün hazırladığı "***CENTAUREA* CİNSİ BİTKİLERİN KÖK KISMI SU EKSTRAKTLARININ HELA, HT-29 VE MCF-7 KANSER HÜCRE HATLARI ÜZERİNDE ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİ**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir **Yüksek lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad): İmza

Prof.Dr.Fulya Dilek GÖKALP (Danışman) ……

Prof.Dr.Utku GÜNER ……

Doç.Dr.Pınar GÖÇ RASGELE ……

Tez Savunma Tarihi: 03/09/2021

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof.Dr.Fulya Dilek GÖKALP

Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

03/09/2021

Nagehan ÖZTÜRK

Yüksek Lisans Tezi

“*Centaurea* Cinsi Bitkilerin Kök Kısmı Su Ekstraktlarının HeLa, HT-29 ve MCF-7 Kanser Hücre Hatları Üzerinde Antiproliferatif Etkileri”

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Asteraceae familyasına ait *Centaurea* cinsinin yüzyıllardır halk arasında ilaç olarak kullanılan, geniş yayılım alanına sahip birçok türü bulunmaktadır. *Centaurea* cinsinin çeşitli türleri biyolojik aktivitelere sahip olup, antimikrobial, antifungal, antiinflamatuar, antikanser etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, Trakya bölgesi endemik türlerinden *Centaurea diffusa, Centaurea iberica, Centaurea solstitialis*’in toprak altı kısmı su ektratlarının HeLA (Serviks glandular kanser hücre hattı), HT29 (Kolon adenokarsinom hücre hattı) ve MCF-7 (Meme adenokarsinom hücre hattı) üzerindeki antiproliferatif etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, *Centaurea sp.* türlerinin 10, 20, 30, 60, 100, 120 µg/ml konsantrasyonlardaki kök kısmı su ekstraktları HeLa, HT-29, MCF-7 kanser hücre hatları üzerindeki 24 ve 48 saat süre ile antiproliferatif etkinlikleri gerçek zamanlı hücre analiz sistemi (RTCA) ile elekrik empedansları ölçülerek tespit edilmiştir. Her bir bitki ekstraktının kanser hücre hatları üzerindeki 24 ve 48 saatlik IC_{50} değerleri, doz-cevap eğrileri iCelligence programı üzerinden hesaplanmıştır.

24 saatlik veriler, HeLa üzerinde en yüksek antiproliferatif etkinliği 2.88 µg/ml IC_{50} değerleri değeri ile *C. diffusa* kök ekstaktının gösterdiği, bunu sırasıyla *C.solstitialis* (20.13 µg/ml) ve *C. iberica*’nın (25.19 µg/ml) izlediği; HT-29 üzerinde en yüksek antiproliferatif etkinliği *C. diffusa’*nın kök ekstresinin gösterdiği (22.5 µg/ml), bunu sırasıyla *C. iberica* (97.8 µg/ml) ve *C. solstitialis*’in (124 µg/ml) izlediği; MCF-7 üzerinde en yüksek antiproliferatif etkinliği *C. diffusa* kök ekstresinin gösterdiği (2.15

µg/ml), bunu sırasıyla *C. solstitialis* (168 µg/ml) ve *C. iberica* kök ekstresinin (304 µg/ml) izlediği saptanmıştır.

48 saatlik hesaplanabilen değerlere bakıldığında, *C. iberica* kök ekstrakstının MCF-7 hücre hattı üzerinde IC_{50} değerleri değeri 177 µg/ml dışında, diğer ekstraktların hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkinlikleri IC_{50} değerleri değerleri 1-10 µg/ml arasında tespit edilmiştir.

Sonuçlar *C. diffusa, C. iberica, C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktlarının HeLa, HT-29, MCF-7 kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etkili olduğu saptanmıştır. Elde edilen veriler *Centaurea* cinsi bitkilerin antikanser araştırmalarında önemli kaynak olarak kullanılabileceğini, farklı çözücüler ile elde edilecek ekstraktların, metabolitlerin muhtemel etkinliklerinin olabileceğini öngörmektedir.

Yıl : 2021

Sayfa Sayısı : 84

Anahtar Kelimeler : *Centaurea*, ekstrakt, HeLA, HT29, MCF-7, kanser hücre hattı antiproliferatif, IC_{50}

Master Thesis

Antiproliferative effects of underground water exctracts of some *Centaurea* species on HeLa, HT-29 and MCF-7 cancer cell lines

Trakya University, Institute of Natural Sciences

Department of Biology

ABSTRACT

Centaurea is a genus belonging to the Asteraceae familya and has many species with a wide distribution area that have been used as a medicine among the people for centuries. Various species of *Centaurea* genus have biological activity and are known to have antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory and anticancer effects. In this study it was aimed to investigate antiproliferative activities of water extracts of underground parts of *Centaurea diffusa, Centaurea iberica, Centaurea solstitialis* from Thrace Region endemic species, on HeLa (cervix glandular cancer cell line), HT-29 (colon adenocarcinoma cell line), MCF-7 (breast adenocarcinoma cell line).

For this purpose, the antiproliferative activities of *Centaurea sp.* species at 10, 20, 30, 60, 100, 120 µg/ml concentrations on HeLa, HT-29, MCF-7 cancer cell lines for 24 and 48 hours were analyzed by real time cell analyse system (RTCA) measuring the electrical impedances of the system. The 24- and 48-hour dose-response curves and IC_{50} values of each plant extract on the cancer cell line were calculated using the iCelligence program.

24-hour data showed that *C. diffusa* root extract has the highest antiproliferative activity on HeLa with an IC_{50} value of 2.88 µg/ml, followed by *C. solstitialis* (20.13 µg/ml) and *C. iberica* (25.19 µg), respectively. The root extract of *C. diffusa* showed the highest antiproliferative activity on HT-29 (22.5 µg/ml), followed by *C. iberica* (97.8

µg/ml) and *C. solstitialis* (124 µg/ml); *C. diffusa* root extract showed the highest antiproliferative activity on MCF-7(2.15 µg/ml), followed by *C. solstitialis* (168 µg/ml) and *C. iberica* root extract (304 µg/ml), respectively.

Considering the values that can be calculated in 48 hours, the IC_{50} value of *C. iberica* root extract on the MCF-7 cell line was found to be 177 µg/ml, while the IC_{50} values of the antiproliferative activities of the other extracts on the cell lines were found to be between 1-10 µg/ml.

As a result, *C. diffusa, C. iberica, C. solstitialis* underground water extracts were found to have antiproliferative effects on HeLa, HT-29, MCF-7 cancer cell lines. The data obtained suggest that *Centaurea* genus plants can be used as an important source in anticancer research, and that extracts and metabolites obtained with different solvents may have possible activities.

Year : 2021

Number of Pages : 84

Keywords : *Centaurea*, extract, HeLA, HT29, MCF-7,cancer cell line, antiproliferative, IC_{50}

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ve tez çalışmamın her aşamasında engin bilgi deneyimleriyle bana yol gösteren, her türlü araştırma olanağını ve desteğini sağlayan tezimin düzeltilmeside yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fulya Dilek GÖKALP'e, tez çalışmamda kullanılan bitki materyallerinin toplanmasını sağlayan Sayın Prof. Dr. Çiler KARTAL'a, laboratuvar çalışmalarımı yaptığım Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Sitogenetik Laboratuvarı çalışanlarına ve bugünlere gelmemde maddi ve manevi olarak her türlü desteğini hep hissetiğim canım ailem annem Ümmühan APAYDIN ve Sümeyye ÖZTÜRK'e ve her konuda her zaman yanımda olan bu süreç içerisinde kaybettiğim sevgili nişanlım Necati SOYDEMİR'e ve arkadaşlarıma sonsuz şükranlarımı sunar ve teşekkür ederim.

Bu tez, Tez Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: TUBAP 2018/277) tarafından desteklenmiştir. Trakya Üniversitesi Rektörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET İV

ABSTRACT Vİ

TEŞEKKÜR Vİİİ

SİMGELER DİZİNİ **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**

ÇİZELGELER DİZİNİ Xİİİ

1. GİRİŞ 1

1.1. *Centeurea* Türlerinin Fitoterapik Kullanım Alanları 2

2. GENEL BİLGİLER 7

2.1. Araştırmada Kullanılan *Centeurea* Cinsi Bitki Türleri 7
2.1.1. *Centeurea diffusa* 7
2.1.2. *Centeurea iberica* 8
2.1.3. *Centeurea solstitialis* 9

2.2 Hücre Kültürü 9
2.2.1. Hücre Kültürünün Sınıflandırılması 11
2.2.1.1. Primer Hücre Kültürü 11
2.2.1.2. Sekonder hücre kültürü 12
2.2.1.3. Sürekli hücre kültürü 12
2.2.1.3.2. HeLa kanser hücre serisi 12
2.2.1.3.2. HT-29 Kanser hücre serisi 13
2.2.1.3.3. MCF-7 kanser hücre serisi 14

3. *CENTEUREA* CİNSİ BİTKİLERİN KANSER DOKU HATLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ 15

4. METERYAL VE YÖNTEM 31

4.1. Bitki Meteryalinin Toplanması 31

4.2. Ekstraksiyon Ve İzolasyon 32

4.3. *C. diffusa, C. iberica, C. solstitialis* Toprak Altı Ekstrelerinin Kanser Hücre Hatları Üzerine Muamelesi 32

4.4. Gerçek Zamanlı Hücre Analizi 33

5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI 35

5.1. *Centeura diffussa* Antiproliferatif Etkinliği 37
5.1.1. *Centeurea diffusa* Su Ekstraktının HeLa Kanser Hücre Hattı Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği 37
5.1.2. *Centeurea diffusa* Su Ekstraktının HT-29 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği 39
5.1.3. *Centeura diffusa* Su Ekstraktının MCF-7 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği 40

5.2. *Centeurea iberica* Antiproliferatif Etkinliği 42
5.2.1. *Centeurea iberica* Su Ekstraktının HeLa Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği 42
5.2.2. *Centeurea iberica* Su Ekstraktının HT-29 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği 43
5.2.3. *Centeurea iberica* Su Ekstraktının MCF-7Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği 45

5.3. *Centeurea soltitialis* Antiproliferatif Etkinliği 48
5.3.1. *Centeurea soltitialis* Su Ekstraktının HeLa Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Etkinliği 48
5.3.2. *Centeurea soltitialis* Su Ekstratının HT-29 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Etkinliği 50
5.3.3. *Centeurea soltitialis* Su Ekstratının MCF-7 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Etkinliği 52

6. TARTIŞMA 55

7. KAYNAKLAR 59

8. ÖZGEÇMİŞ 66

SİMGELER DİZİNİ

AT-2	Non-metastatik prostat kanser hücre hattı
BCL-2	Anti-apopitotik gen
Caco-2	İnsan kolorektal adenokarsinom hücre hattı
CHO	Çin hamsteri (*Cricetulus griseus*) ovaryum sağlıklı hücre hattı
DNA	Deoksirobonükleik asit
EGF	Epidermal büyüme faktörü
HeLa	İnsan serviks karsinomu
Hep-2	İnsan larenks epidermoid karsinomu
HER-2	İnsan epidermal büyüme faktör reseptörü 2
HL-60	İnsan lösemi hücre hattı
HT-29	İnsan kolon kanseri hücre hattı
IC_{50}	Bir maddenin belirli bir biyolojik veya biyokimyasal fonksiyonu inhibe etme gücünün ölçüsü, ortamdaki hücrelerin %50'sinin bölünmesini inhibe eden konsantrasyon
KB	İnsan nazofarenks karsinomu
L929	Fare (*Mus musculus*) adipoz sağlıklı fibroblast hücre hattı
MatLy-Lu	Metastatik prostat kanser hücre hattı
MCF-7	İnsan meme kanser epitel hücre hattı
MDA-MB-231	Meme kanser hücre hattı

MTT	Kolorimetrik metodlarda, 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür gibi tetrazolyum tuzları kullanılarak, hücrelerin spesifik boyanması esasına dayalı, renk değişikliği gösteren, metabolik aktivitenin ölçümünü gösteren hücre proliferasyon testi
Siklin D1	Hücre döngüsünün düzeninde görevli bir gen
Vero	Normal Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücre hattı
WNT7B	Kromozom 22 üzerinde bulunan genlerden biri (22q13.3 gen adresi)
WST-1	Hücre proliferasyonu reaktifi
XTT	Kolorimetrik metodlarda, 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid gibi tetrazolyum tuzları kullanılarak, hücrelerin spesifik boyanması esasına dayalı, renk değişikliği gösteren, metabolik aktivitenin ölçümünü gösteren hücre proliferasyon testi

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.Türkiye'de yetişen bazı *Centaurea* türlerinin halk arasında kullanım amaçları…….3

Çizelge 2.1. Hücre ve doku kültüründeki önemli gelişmelerin tarihçesi…..……..10

Çizelge 3.1. *Centaurea arenaria* ekstraktlarının antiproliferatif etkileri ve verimleri…23

Çizelge 3.2. *Centaurea arenaria* ekstraktlarının antiproliferatif etkileri ve verimleri…24

Çizelge 3.3. *Centaurea aegyptiaca* ekstresinin sitotoksik aktivitesi ……..……....25

Çizelge 3.4. *C.bruguierana* ssp. *belangerana'* nın tüm meyve bitkisinden elde edilen toplam ekstrakt ve çözücü fraksiyonlarının sitotoksik aktivitesi (IC_{50} değerleri, µg/ml)……..26

Çizelge 3.5. *C.kilaea'* nın çeşitli ekstraktlarının kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkinliği (IC_{50} µg/ml) …..……...27

Çizelge 3.6. *C.kilaea'* nın çeşitli ekstraktlarının kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkinliği (IC_{50} µg/ml) …..……...29

Çizelge 5.1. Her bir ekstrakt ve test edilen kanser hücre serisi için hesaplanan 24 ve ve 48 saatlik IC_{50} değerleri ……...……...…….……...37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. *Centaurea diffusa* …… 7

Şekil 2.2. *Centaurea iberica*……..8

Şekil 2.3. *Centaurea solstitialis*..…….……..…....9

Şekil 2.4.HeLa hücrelerinin mültifoton florasan görüntüsü…….…….…….13

Şekil 2.5. Kolon kanseri hücreleri (HT-29) ……...……...…….…14

Şekil 2.6. MCF-7 hücreleri ışık filtresi görüntüleri…..…….…….....14

Şekil 4.1.Örneklerin toplandığı lokaliteler harita üzerinde gösterilmiştir ……..33

Şekil 5.1. *C. diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde muamele sonrası 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi …….39

Şekil 5.2. *C. diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri …….…….....…….....40

Şekil 5.3. *C. diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi……...……..41

Şekil 5.4. *C. diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...41

Şekil 5.5. *C. diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi…….....42

Şekil 5.6. *C. diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...42

Şekil 5.7. *C. diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...…43

Şekil 5.8. *C. iberica* kök ekstraktı toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi……...…….44

Şekil 5.9. *C. iberica* kök ekstraktı toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri…….….....44

Şekil 5.10. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatifetkisi…….45

Şekil 5.11. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...45

Şekil 5.12. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...46

Şekil 5.13. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi……...…….47

Şekil 5.14. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...47

Şekil 5.15. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri…….…….…….48

Şekil 5.16. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi……49

Şekil 5.17. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...……..……..……50

Şekil 5.18. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri …….50

Şekil 5.19. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi ……...……....51

Şekil 5.20. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri…….……..52

Şekil 5.21. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri…….……..……53

Şekil 5.22. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi…….....54

Şekil 5.23. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri……...…54

Şekil 5.24. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi…„……..55

BÖLÜM 1

1. GİRİŞ

Bitkiler, insanın yaşamını sürdürebilmesi için oksijen gereksinimini karşılamanın yanında beslenme ve tıbbi tedavide de aktif olarak işlev göstermektedir. Tüm dünya insanları yıllar boyu bitkilerin kullanımı ile ilgili birçok deneyime sahip oldular. Bitkiler ihtiyaçlar karşısında doğmuş birçok alanda kullanımı ile karşımıza çıkmaktadır. Bu alanlar, bazen tedavi için ilaç yapımı bazen gıdalarda katkı maddesi ve boyar madde bazen sanat gibi alanlardır. Halk ilaçları her açıdan birçok araştırmacının ilgi alanı olmuş ve önemli sonuçlar elde edilmiştir (Arıkan, 1992; Bağcı ve Dığrak, 1994). Tüm dünyadaki bu çalışmalar, etnobotanik anabilimdalının ortaya çıkmasını sağlamıştır. İlk kez Fransız bilim adamı Henri Leclerc (1870-1955) tarafından "tıbbı bitkilerle terapi "anlamına gelen "fitoterapi" kelimesi kullanılmıştır (Akçalı, 2010) .

Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin miktarı, eski çağlardan bu yana sürekli olarak artış göstermektedir. 19. y.y.da tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin miktarı yaklaşık 13000 civarına ulaşmıştır. 20. y.y.da Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı bir çalışmaya göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin sayısının yaklaşık 20000 civarına ulaştığı belirtilmiştir. Tıbbi bitkilerin özellikle gelişmekte olan ülkelerde birçok hastalığın tedavisinde kullanımı yaygındır. Bu ülkelerdeki ekonomik şartların getirdiği zorlukların ve tıbbi tedavilerdeki yetersizliklerin insanları bu alana yönlendirdiği düşünülmektedir (Alkofahi vd., 1990; Dimayuga & Garcia, 1991; Kalaycıoğlu & Öner, 1994).

Dünya Sağlık Örgütünün yaptığı çalışmalarında gelişmekte olan ülkelerde insanların yaklaşık %80'nin tedavide geleneksel ilaçları tercih ettiğini ortaya koyulmuştur. İlaçlarda kullanılan birçok etken maddenin bitkilerden elde ediliyor olması bitkilerin ilaç endüstrisinde ve sağlık sektöründeki önemini arttırmaktadır. 1984'de yapılan bir araştırma Amerika ve Kanada'da ilaçların yaklaşık %25'nin doğal bitki ürünleri olduğunu göstermiştir. Doğal bitki ürünlerinin tercih edilme sebebi bitkisel ilaçların daha ucuz ve kolay temin edilmesidir. Ayrıca sentetik ilaçların yan etkilerinin fazla oluşu da doğal bitkilere yönelimi arttırmaktadır (Baytop, 1999).

Türkiye'nin ekolojisindeki büyük farklılıklara bağlı olarak tıbbi ve aromatik bitkiler Türkiye'de oldukça fazladır. Fitocoğrafik olarak Anadolu'nun konumu ve tür endemizminin yüksek oluşu da bu bitki çeşitliliğinin sağlanmasında katkıda bulunmuştur. Ülkemizde doğal olarak yaklaşık 9000 kadar bitki türü yayılış göstermektedir ve endemik bitki oranı %34'tür. Avrupa ülkeleriyle karşılaştırıldığında Türkiye'de çeşitliliğin çok daha yüksek seviyede olduğu görülmektedir. Avrupa'da yaklaşık endemik tür sayısı 2800'dür (Kaya & Aksakal, 2005).

Türkiye florasının en büyük familyası, 1186 türle temsil edilen Asteraceae (Compositae) familyasıdır. Bu familyaya ait *Centaurea* cinsi dünya üzerinde yaklaşık 500 türle, Türkiye'de ise yaklaşık 179 türle temsil edilir ve bunun yaklaşık 111 tanesi endemiktir. *Centaurea* bu sayı ile *Astragalus* ve *Verbascum*'tan sonra en fazla endemik tür içeren üçüncü cinstir (Davis & Tan, 1988; Uzunhisarcıklı, Teksen & Dogan, 2005). Bitkinin toprak üstü kısımları peygamber çiçeği, zerdali dikeni, çoban kaldıran, timur dikeni ve boğa dikeni gibi isimlerle anılmaktadır. *Centaurea* cinsine ait birçok tür uzun zamandan beri fitoterapide kullanılmıştır ve hala çok sayıda tür Anadolu'da halk hekimliğinde kullanılmaya devam etmektedir (Baytop, 1999).

1.1 *Centeurea* Türlerinin Fitoterapik Kullanım Alanları

Centaurea bitkisinin tedavi için toprak üstü ve toprak altı kısımlarının farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstraktları (özütleri) elde edilmektedir. *Centaurea* gerek modern tıp gerekse geleneksel tıpta kullanılan bitki türüdür.

Batı ve Güneybatı Anadolu'da *C. cyanus* türünün kurutulmuş çiçekleri halk arasında %5'lik infüzyonları halinde ishal kesici, kuvvet verici, iştah açıcı ve göğüs

yumuşatıcı olarak kullanımı yaygındır. Doğu Anadolu'da yetişen *C. behen* Ak behmen ve Zerdali dikeni olarak bilinmektedir. Bu bitkinin çiçekleri üst gastrointestinal hastalıklarda ve amenagog olarak kullanılmaktadır. Kuzeybatı Anadolu'da yetişen ve çoban kaldıran, Timur dikeni olarak bilinen *C. Calcitrapa*'nın antipiretik olarak kullanımına sıklıkla rastlanır. Çayır peygamberi ismiyle bilinen ve Kuzeydoğu Anadolu'da yaygın olarak yetişen *C. jacea* antipretik, adet söktürücü, konstipasyon yapıcı ve iştah açıcı olarak kullanılan bir *Centaurea* türüdür. Isparta Eğirdir yöresinde geleneksel tedavide kullanılan bitkilerin saptanmasına yönelik yapılan bir araştırmada, *C. İberica*'nın mide ağrılarına ve böcek ve yılan sokmalarına karşı kullanıldığı saptanmıştır (Ugurlu & Secmen, 2008).

Çizelge 1.1'de Türkiye'de yetişen bazı *Centaurea* türlerinin halk arasında kullanım amaçları gösterilmiştir.

Tür ***Centaurea sp.***	**Yöresel İsim** **(Bölge)**	**Kullanılışı**	**Uygulama Şekli**
C. balsamita	Kılıç otu (Kars)	Çıban patlatıcı	-
C. virgata	Şaladir (Van)	Mide ağrısına karşı yara iyi edici	Dahilen dekoksiyonu, haricen külleri tereyağı ile karıştırılarak merhem halinde
C. pulchella	Boğa dikeni (Niğde) Gümüş süpürge (Aksaray)	Çıban patlatıcı	Haricen, toz halinde
C. jacea	Çayır, peygamber dikeni, peygamber çiçeği	Ateş düşürücü, adet söktürücü, kabız ve iştah açıcı	-

C. lycopifolia	Kumacı otu (Kahramanmaraş)	Öksürük kesici Kan dindirici	Dahilen, taze halde dövülerek çıkan özsuyu alınır ve şekerle karıştırılıp içilir. Haricen, toz halinde
C. drabifolia	Basur otu (Afyon)	Hemoroid tedavisinde	Dahilen, infüzyon, çay veya sigara şeklinde
C. glastifolia	Kotankıran	İştah açıcı	-
C. pterocaula	Çoruşbozan (Erzurum)	Yara iyi edici	Haricen toz halinde
C. behen	Ak behmen, zerdali dikeni	Midevi, adet söktürücü	-
C. solstitialis subsp. solstitialis	Güllü diken, zerdali dikeni, sıtmaotu, çakırdikeni (Afyon) Çakırdikeni, oğlak dikeni, sarıdiken, eşek dikeni (Bartın) Çakırdikeni (Çankırı) Oğlak dikeni, sarıdiken (Konya)	Çocuklarda dudaklardaki uçuklara karşı Sıtma tedavisi Peptik ülser semptomlarında Soğuk algınlığı ve sıtma tedavisinde	Haricen kavrulup toz edilerek Dahilen yutularak veya sigara gibi içilerek Taze iken hap şeklinde Dekoksiyon veya infüzyonu 2-3 kez içilir.

C. iberica	Çakırdikeni (Erzincan) Çakırdikeni (Isparta) Alabaş (Kastamonu) Deligöz dikeni Çobankaldıran Timurdikeni (Kastamonu)	Ateş düşürücü Yara iyi edici Mide ağrısına karşı Yılan ve akrep sokmasına karşı	Dahilen %2-6lık infüzyon Haricen toz halinde, dahilen infüzyon, ezilerek sürme
C. calcitarapa	Çobankaldıran, Timurdikeni	Ateş düşürücü	Dahilen %2-6lık infüzyon
C. cyanus	Peygamber çiçeği, gökbaş (Muğla)	İshal kesici, kuvvet verici, iştah açıcı, göğüs yumuşatıcı, saç kepeklenmesine karşı	Dahilen %5lik infüzyon Haricen infüsyonu ile baş yıkanır.

Centaurea bitkisi tedavi amaçlı dünya çapında kullanımı yaygın bir bitkidir. Çin'de *C. uniflora* ateş düşürücü, zehirlenmelere karşı ve antiaterosklerotik olarak kullanılırken, İspanya'nın bazı bölgelerinde *C. aspera, C. melitensis* gibi pek çok *Centaurea* türü halk arasında hipoglisemik ajan olarak, ayrıca sindirimi kolaylaştırıcı ve diüretik amaçlarla kullanılmaktadır (Chucla, Lamela, Gato & Cadavit, 1988; Wei vd.,1997). İspanya'nın Barros bölgesinde *C. ornata* bitkisinden antiromatizmal amaçlı, bu bitkinin toprak üstü kısımları Portekiz'de hipoglisemik ajan olarak, toprak altı kısımlarından hazırlanan ekstreler ise antispazmodik amaçla kullanımı yaygındır (Bastos vd., 1994). *C. pallescens* Mısır'da sindirimi kolaylaştırıcı ve diüretik olarak kullanılmaktadır. *Centaurea* türlerinden biri olan *C. sinaica* sitostatik, diüretik, antipiretik, fitotoksik ve antineoplastik özellikleri ile bilinmektedir (Al-Easa, Kamel & Rızık, 1992; Ali vd., 1987).

BÖLÜM 2

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Araştırmada Kullanılan *Centeurea* Cinsi Bitki Türleri

2.1.1 *Centeurea diffusa*

Asteraceae familyasına ait, Zerdali dikeni, Akdüğme olarak da bilinen, cins adı Yunanca *Sentor* (Yunan mitolojisinde tıbbı keşfeden Sentor Chiron'a atıf olarak Yunanca "Sentor"), tür adı ise latince "yaygın" anlamına gelmektedir. Tek veya iki yıllık, endemik olmayan dünyada geniş yayılım gösteren, Türkiye'de en fazla Marmara Bölgesinde bulunan bitki türüdür. Genellikle 10-60 cm yüksekliğe kadar büyüyen, dallanmış gövdesi, kazık kökü bulunan, beyaz-pembe çiçeklenme gösteren istilacı bir türdür.



Şekil 2.1. *Centaurea diffusa* (Kaynak: https://kocaelibitkileri.com/centaurea-diffusa/)

2.1.2 *Centaurea iberica*

Asteraceae familyasına ait, Deligöz dikeni olarak da bilinen, tür ismini İber yarımadasından almış olan, Balkanlar üzerinde geniş yayılım alanlı, Türkiye'de Edirne, Çanakkale, İstanbul, Bolu, Kastamonu, Ankara, Ordu, Erzurum gibi geniş yayılım gösteren bir türdür. *Centaurea iberica* 0-2300 metre rakıma kadar yayılım göstermektedir. Tek, iki veya çok yıllık, boyu 20-80 cm'yi bulabilen bir türdür. (http://www.vanherbaryum.yyu.edu.tr/flora/azortandir/centaureaib/index.htm)



Şekil 2.2. *Centaurea iberica* (https://kocaelibitkileri.com/centaurea-iberica/)

2.1.3 *Centaurea solstitialis*

Centaurea solstitialis, tek yıllık, zerdali dikeni, çalı süpürgesi, gelin dili olarak da bilinen, tür adı solstitialis, latincede yaz gündönümü manasına gelen Asteraceae familyası üyesidir.Yaklaşık 60 cm boyunda, yazın çiçeklenen, sarı veya pembe çiçekleri bulunan, ülkemizde genellikle Akdeniz havzasında yayılım gösteren, uzun köklere sahip bitki türüdür. (https://kocaelibitkileri.com/centaurea-solstitialis/, http://ibuflora.ibu.edu.tr/tur/centaurea-solstitialis)



Şekil 2.3. *Centaurea solstitialis* (https://kocaelibitkileri.com/centaurea-solstitialis/)

2.2 Hücre Kültürü

Hücre kültürü, canlı bir organizmadaki bir veya birkaç hücre grubunun dokuda bulunduğu yerden çeşitli yöntemlerle alınarak in vitro olarak yaşatılması ve üreme yeteneği olanların çoğaltılması işlemidir. Hücre ve doku kültürü çalışmaları, 1885'ten bu yana önemli tarihsel bir gelişim göstermiştir (Moyler, 1993).

Çizelge 2.1. Hücre ve doku kültüründeki önemli gelişmelerin tarihçesi (Moyler, 1993)

Yıl	**Hücre ve doku küştüründeki önemli gelişme**
1885	Wilhelm Roux bir tavuk embriyosu nöral plağının bir kısmını ayırmış ve ılık bir tuzlu su çözeltisinde dokuyu birkaç gün yaşatmıştır.
1907	Ross Harrison, kurbağa embriyoları ile yaptığı deneyde normal fonksiyonun in vitro ortamda da sürdüğünü göstermiştir ve tekrarlanan bir teknik oluşturduğu için, bu deney doku kültürünün gerçek başlangıcı olarak kabul edilmiştir.
1910	Peyton Rous, tavuk sarkomlarının hücreden yoksul tümör fiItratları ile hayvandan hayvana bulaştırılabildiğini ortaya koymuştur. Bu buluşuyla kanserin bir virüs (Rous sarcoma virus) yoluyla bulaşabileceğini göstermiştir.
1913	Carrel aseptik koşullar altında düzenli olarak beslenmeleriyle hücrelerin kültür ortamında uzun süre hayatta kalıp çoğalabildiklerini göstermiştir.
1948	Earle ve ark. L hücre hattından saflaştırdıkları hücrelerin kültüre alındıklarında koloniler oluşturduklarını göstemişlerdir.
1952	Gey ve ark. günümüzde oldukça bilinen HeLa hücre hattını, bir insan servikal karsinomasından türeyen hücrelerin sürekli serisi şeklinde gözlemlemişlerdir.
1954	Levi-Montalcini ve ark. sinir büyüme faktörü'nün (EGF) doku kültüründe akson büyümesini teşvik ettiğini göstermişlerdir.
1955	Earle, doku kültürü metodlarını ve kullanılan medyumları tanımlamıştır. Kontaminasyon olasılığı azalmıştır.
1958	Harris, aynı türlerin farklı tiplerini içeren hücre hibridizasyonunu indüklemeyi başarmıştır.
1961	Hayflick ve Moorhead normal diploid insan hücrelerinin sınırlı ömrünü tanımlamıştır.
1965	Ham belirli memeli hücrelerinin klonal büyümesinin desteklenmesi için serumsuz medyumu tanımlamıştır.

1968	Augusti-Tocco ve Sato bir fare nöroblastomasını doku kültürü ve izole klonlara adapte etmişlerdir.
1975	Köhler ve Milstein hibrit hücre kültüründe ilk defa monoklonal antikor üretmeyi başarmışlardır.
1986	Martin ve Evans fareden pluripotent embryonik kök hücrelerini saflaştırarak kültürünü yapmışlardır.
1998	Thomson ve Gearhart ile yardımcıları, insan embryonik kök hücrelerini izole etmeyi başarmışlardır.

Hücre kültürlerinin tercih edilmelerinin bazı sebepleri şunlardır:

a) bireysel faktörlerden etkilenmemeleri
b) tekrarlanabilme özellikleri
c) çalışma şartlarında standardizasyonun sağlanabilmesi
d) hızlı sonuç alınması
e) deneylerde hayvanların öldürülmemesi gibi etik nedenler

Hücre kültüründe amaç, hücreleri yaşatmak, çoğaltmak ve gerektiğinde tekrar kullanabilmek için dondurarak saklamaktır. Hücre ve doku kültüründe başarı oranı, steril ve hızlı bir şekilde çalışmayla doğrudan bağlantılıdır (Moyler, 1993).

2.2.1 Hücre Kültürünün Sınıflandırılması

Hücre kültürleri, primer hücre kültürleri, sekonder veya diploid hücre kültürleri, sürekli veya heteroploid hücre kültürleri olarak üçe ayrılmaktadır (Moyler, 1993)

2.2.1.1 Primer Hücre Kültürü

Doğrudan dokudan elde edilen hücre kültürleridir. Primer kültürler, elde edildikleri dokunun özelliklerini taşırlar. Yapıları genellikle heterojendir, hücre hatları gibi tek tip hücreler değillerdir.

Primer hücre kültürleri, küçük doku parçalarının petri yüzeylerine ekilmesiyle eksplant kültürler halinde ya da enzim uygulanmasıyla tek hücre süspansiyonu halinde yapılabilmektedirler. Bu hücre kültürleri, kontaminasyon riski olan kültürlerdir, bu yüzden manipulasyonlarda steriliteye özen gösterilmesi şarttır. EMF (Embriyonik Mouse

Fibroblast) hücre kültürü, tavşan böbrek hücresi, göbek kordonu endotel hücreleri, primer hepatosit ve primer düz kas hücreleri bu tipe örnek olarak gösterilebilir (Moyler, 1993).

2.2.1.2 Sekonder hücre kültürü

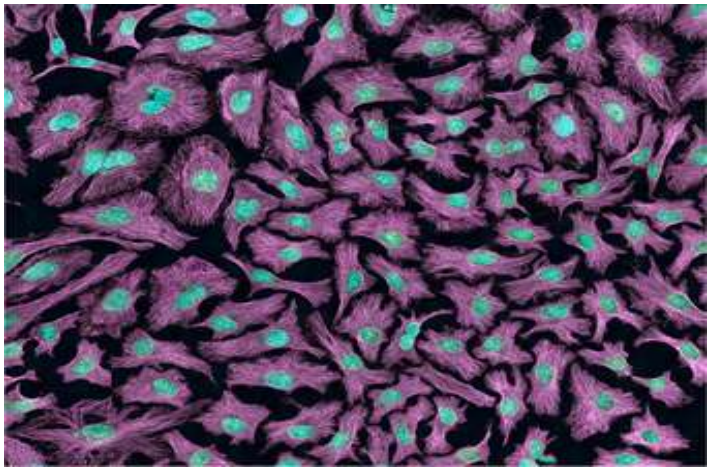
Sekonder hücre kültürlerinin subkültürleri sonsuz olarak yapılabilmektedir. Bu kültürler, karyotipleri alındıkları dokulardan farklı olarak geliştirilmiş kültürlerdir. Standardize edilerek ve kodlanarak kullanıma sunulmuştur. Normal kromozom sayısına sahip diploid hücrelerden elde edilmektedirler. Toplamda en çok 50 kez pasajları yapılabilir. Bu nedenle de sınırlı hücre kültürü olarak da isimlendirilmektedirler. Bu kültürlere HeLa, KB, L929, CHO, HL-60, MatLy-Lu (metastatik) ve AT-2 (non-metastatik) prostat karsinomu gibi hücre kültürleri örnek olarak verilebilir (Moyler, 1993).

2.2.1.3 Sürekli hücre kültürü

Teorik olarak sonsuz pasajları yapılabilir. Genellikle malign tümörlerden elde edilmektedirler. Laboratuvar koşullarında değişime uğrarlar ve bu kültürlerin kromozom sayıları sabit değildir. Bu kültürlere örnek olarak insan larenks epidermoid karsinomu (Hep-2), insan nazofarenks karsinomu (KB) ve insan serviks karsinomu (HeLa) verilebilir (Moyler, 1993).

2.2.1.3.2 HeLa kanser hücre serisi

Henrietta Lacks, bugün dünyadaki hemen her laboratuarda kullanılan ve kanserden bulaşıcı hastalıklara kadar pek çok hastalık araştırmalarında kullanılan HeLa hücrelerinin anasıdır. HeLa hücrelerinin öyküsü 1951 senesinde, doğum sonrası Henrietta'nın banyoda kendi kendini muayene ederken rahim ağzında bir kitle fark etmesi ile başlar. Kültüre edilen biyopsi metaryali sonsuz üreme yeteneğindedir ve bu kanser hücre serisine HeLa ismi verilir. HeLa hücreleri muhtelif laboratuvarlarda enfeksiyon hastalıklarından, radyasyonun ve muhtelif toksik maddelerin insan hücrelerine olan etkisine, kanser tedavisinde genom haritası çıkarılmaya kadar pek çok çalışmada kullanılarak tıptaki çalışmalara ışık tutmaya devam eder. Herpes virüsündeen lösemiye, hemofili hastalığından Parkinson'a dek pek çok hastalığa yönelik ilaç, HeLa hücreleri kullanılarak geliştirilir (Wald, 2008; Truog, Kesselheim & Joffe, 2012; Ünsal & Büken, 2018).



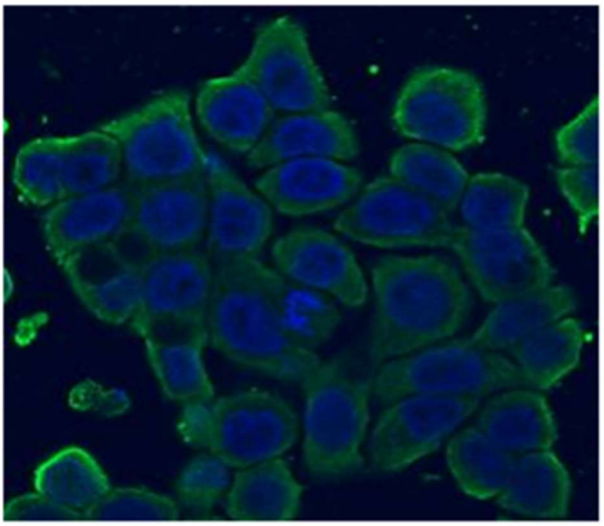
Şekil 2.4. HeLa hücrelerinin mültifoton floras an görüntüsü. Hücre iskeletleri pembe, DNA ise yeşil-mavi boyalı

2.2.1.3.2 HT-29 Kanser hücre serisi

İnsan kolon kanseri hücre hatlarından biri olan HT-29, 1964 yılında kolorektal adenokarsinoması olan 44 yaşındaki beyaz bir kadının primer tümöründen J. Fogh tarafından oluşturulmuştur**.**

HT-29, epitelyum morfolojisi ile insan kolorektal adenokarsinoma hücre dizisi olarak tanımlanır. Kolorektal kanser için ksenograft tümör modeli olmaya ilaveten, HT-29 hücre dizisi, bağırsak hücreleri tarafından emilim, transport ve sekresyonu çalışmak için in vitro model olarak da kullanılmaktadır.

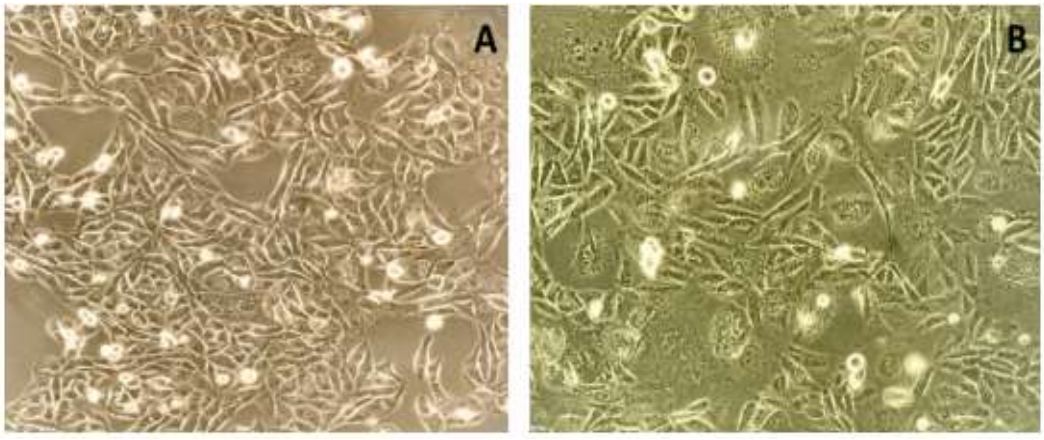
Standart kültür koşulları altında, HT-29 hücreleri polarize olmamış, farklılaşmamış çoklu tabaka olarak büyürler. Kültür koşullarının değiştirilmesi veya hücrelerin çeşitli indükleyici ile muamelesi, farklılaşmış ve polarize olmuş morfolojiyle sonuçlanır (Yılmaz, 2014).



Şekil 2.5 Kolon kanseri hücreleri (HT-29)(Yılmaz 2014)

2.2.1.3.3 MCF-7 kanser hücre serisi

Bir meme kanseri hücre soyu olan MCF-7 hücreleri ilk kez, 69 yaşında invaziv duktal karsinomalı beyaz ırktan Avrupalı bir kadının (Frances Mallon) plevral efüzyonundan 1970 yılında izole edilmiştir. MCF-7 hücre hattı Herbert Soule ve arkadaşları tarafından 1973 yılında Detroit'te bulunmuştur. MCF-7 hattı, Michigan Kanser Vakfı-7'nin (Michigan Cancer Foundation-7) kısaltmasıdır (Saraçlıgil, 2015).



Şekil 2.6 MCF-7 kanser hücre hatları ışık mikroskobu görüntüleri (20X) A-MCF-7 hücre hattı B-MDA-MB-231 hücre hattı Floresan İşaretleme Prosedürü (Kaynak: Demircan & Mater ,2019)

BÖLÜM 3

3. CENTEUREA CİNSİ BİTKİLERİN KANSER DOKU HATLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Astari vd. 2014 yılında, *Centaurea cadmea Boiss.* (Asteraceae)'e ait kök ve topraküstü kısımlarından kloroform ekstratlarını, insan servikal karsinoma hücre hattı (HeLa), insan akciğer adenokarsinoma hücre hattı (A549) ve insan osteokarsinoma hücre hattı (U-20S) üzerindeki sitotoksik aktivitelerini WST-1 reaktifi kullanılarak, hücre proliferasyon testi ile analiz etmişlerdir. Sonuçta, *C. cadmea* toprak üstü kısımları kloroform ekstresinin tüm hücre hatlarında aktif olduğu gözlenmiştir (IC_{50}: 14.24-43.10 µg/mL) (Astari vd., 2014).

Tarançı, 2014 yılında yaptığı çalışmada endemik *Tanacetum albipannosum Hub*.-Mor. & Grierson ve *Achillea* sp. *nova* ve yaygın *Centaurea depressa Bieb.* türlerini kullanmıştır. Bu türlerden su ve metanol ekstraktları elde edilmiş, 100, 250 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarıda kolorektal adenokarsinoma hücre hatları HT-29 ve Caco-2, servikal kanser hücre hattı HeLa üzerine antiproliferatif etkisi araştırılmış, *C. depressa* bitkisinin her iki ekstraktında artan konsantrasyonuna bağlı olarak kanser hücreleri üzerine antiproliferasyonda artış olduğu görülmüştür. En iyi etki 500 µg/ml konsantrasyonda belirlenmiştir. Bitkinin su ekstraktı HT-29 hücre hattı üzerine, metanol ekstraktı ise HeLa hücre hattı üzerine en yüksek antiproliferatif etkiyi göstermiştir. Su ekstraktı (500 µg/ml) HT-29 hücre hattı üzerine % 77 (hücre ölüm oranı) ve metanol ekstraktı (500 µg/ml) HeLa hücre hattı üzerine aynı hücre ölüm oranı (% 77) ile antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite tayininde araştırmacı, *C. depressa* 'nın sadece 500

µg/ml konsantrasyondaki su ekstraktının HT-29 hücre hattı üzerine antioksidan etki gösterdiğini bildirmiştir. HT-29 hücre hattı için kullanılan kontrol grubunda antioksidan kapasite 0.28 mM trolox'tur. Buna göre bitkinin su ekstraktının HT-29 hücre hattı üzerinde gösterdiği total antioksidan kapasitesi 0.41 mM trolox olarak hesaplanmıştır ($p<0,05$). HeLa ve Caco-2 hücre hatları üzerine bitkinin su ve metanol ekstraktlarının hiçbir konsantrasyonu total antioksidan aktivite göstermediği bildirilmiştir. *C. depressa* türünün su ve metanol ekstraktı arasında karşılaştırma yapıldığında bitkinin su ekstraktının kanser hücreleri üzerinde gösterdiği apoptotik etki metanol ekstraktınkinden yüksek olduğu saptanmıştır (Tarançı, 2014).

Barrero vd. 1997'de *C. malacitana, C. melitensis, C. aspera* subsp. *aspera, C. aspera* subsp. *scorpiurifolia, C. aspera* subsp. *stenophylla* türlerinden izole edilen 9 seskiterpen laktonun P-388 (fare lösemi hücre hattı), A-549 ve HT-29 kanser hücre hatlarının %50'sinin hücre ölümüne veya üremenin durmasına neden olduğunu, IC_{50} değerlerinin 10 ile 0.2 µg/ml arasında değişen bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu gözlemişlerdir (Barrero vd. 1997).

Moghaddam, 2014 yılında yaptığı çalışmada, Ankara yöresinden toplanan *Centaurea virgata Lam., Cichorium intybus L., Euporbia macroclada Boiss., Melilotus officinalis (L.) Pall. ve Zygophyllum fabago L.* bitki türlerininin, farklı kısımlarından elde edilen metanol ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal, antikanserojen aktivitelerinin yanısıra, toplam fenolik bileşik ve flavonoid içeriklerini belirleyerek, bitki ekstraktlarının, HL-60 lösemi hücre modeli ve MCF-7 meme kanser hücre hatlarına XTT yöntemi ile hücre canlılıklarına olan etkileri incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, *C. intybus'*un çiçeğinden ve *E. macroclada'*nın yaprağından hazırlanan methanol ekstraktlarının HL-60 hücrelerin büyümesini %69 ve %65 oranında azalttığı gözlemlenmiştir. IC_{50} değerleri ise 0.002 ve 0.027 µg/ml olarak belirlenmiştir. Fakat elde edilen bitki ekstraktlarının hiç birisi MCF-7 hücre büyümesinin üzerinde sitotoksik etki göstermemiştir (Moghaddam vd., 2019; Moghaddam, Eryılmaz, Altanlar & Yıldırım, 2014).

Ghafari vd. 2015'te İran'ın kuzey bölgelerinden toplanan 16 farklı tıbbi bitkinin methanol ekstraklarını MCF-7, WEHI-164, HepG-2 ve MDBK hücre hatları üzerindeki sitotoksik aktivitesini hücre büyüme inhibisyonunu MTT testi ile araştırmış, test edilen

farklı bitki ekstraktları içerisinde *Centaurea bruguierana'*nın en etkili olduğunu; methanol ekstresinin belirtilen hücre dizileri üzerindeki IC_{50} değerleri 47.30 – 87.40 µg/mL olduğu, MCF-7 için bu değerin 47.30 µg/ml olduğu, bu bitkinin kloroform fraksiyonunun sitotoksik etkisi IC_{50} değerlerinin 17.00 – 23.03 µg/ml, MCF-7 için bu değerin 23.03 µg/ml olduğu saptanmıştır (Ghafari, Naghibi, Esmaeili, Sahranavard & Mosseddegh, 2015).

Uzun vd. 2017 yılında yaptıkları çalışmada, Türkiye'den Asteraceae türlerinin methanol ekstrelerini [*Achillea setacea, Achillea sieheana, Achillea cucullata, Inula fragilis, Inula oculus-christi, Centaurea foliosa, Centaurea ertugriliana, Calendula suffruticosa, Erigeron acer*] HeLa hücre hattı üzerinde farklı konsantrasyonlarda (200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12.5 µg/ml, 6.25 µg/ml) uygulamışlardır. 48 saatlik uygulama sürecinin ardından yapılan MTT testi ile *Centaurea ertugriliana'*nın methanol ekstresinin en aktif ekstrakt olup HeLa hücre hattında 32.35 µg/ml IC_{50} değeri ile önemli bir sitotoksik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Uzun, İkiz, Daşkın, Gürbüz & Yalçın, 2017).

Kayacan vd. 2018 yılında yaptığı çalışmada Türkiye'ye endemik bir bitki türü olan *Centaurea nerimaniae'*nin methanol ekstraktından HeLa ve MDA-MB-231 hücreleri üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkilerini incelemiştir. Bitki ekstraktından hazırlanan 8 farklı konsantrasyonun hücre indeksi üzerine etkileri ve etken dozların belirlenmesi araştırılmıştır. *C. nerimaniae* bitki ekstraktının HeLa hücre hattı üzerine IC_{50} değeri 48 saat için 1.42 mg/ml ve MDA-MB-231 hattı üzerinde IC_{50} değeri 72 saat için 3.67 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Hücre hatları üzerinde sitotoksik etkisinin olduğu, apoptotik hücre ölümünü uyardığını, *C. nerimaniae* ekstresinin güçlü bir antiproliferatif etkiye sahip olduğunu ve kaspaz-3 yoluyla apoptozu indüklediğini, MDA-MB-231 kanser hücrelerinin, HeLa hücrelerinden daha dirençli olduğunu saptamışlardır (Kayacan vd., 2018).

Artun 2015 yılında yürütmüş olduğu çalışmada 8'i Türkiye'ye endemik olan 14 bitki türünün yaprak ve toprak üstü kısımları methanol ekstrelerinin in vitro biyolojik aktivite (in vitro antikanser, antioksidan ve antibakteriyel) taramasını yapmıştır (Artun, 2015) *Centaurea* cinsine ait *Centaurea nerimaniae* ve *Centaurea antiochia* Boiss. var. *praealta* (Boiss.&Bal) Wagenitz (Endemik) türlerinin toprak üstü kısımları

kullanılmıştır. Ekstrelerin, HeLa ve Vero'ya karşı in vitro antikanser ve sitotoksik aktiviteleri MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Doza bağımlı çalışmalar sonucu HeLa ve Vero hücre hatları için tespit edilen ve hücre canlılığının 50'sinin ölümüne neden olan IC_{50} değerleri göz önüne alınmıştır. Buna göre 4 bitki ekstesi ile başarılı sonuç elde edilmiştir. Bunlar sırasıyla *Cotinus coggygria* Scop., *Rosa damascena* Miller, *Colchicum sanguicolle* K.M. Perss ve *Centaurea antiochia* Boiss. var. *praealta* (Boiss.&Bal) Wagenitz'dir. Sonuç olarak elde edilen parametreler doğrultusunda 2'si endemik 4 bitki methanol ekstresinin ümit verici antikanser aktivite potansiyeline sahip olduğu bu çalışmada ortaya konulmuş, *Centaurea nerimaniae*'nin antioksidan aktivitesi bulunduğu bildirilmiştir (Artun, 2015).

Oyardı 2015 yılında yaptığı çalışmada, *Centaurea iberica* sulu ekstresinin denenen tüm bakterilere (*E. coli, P. aeruginosa, K. pneumoniae, A. baumannii, S. aureus, B. subtilis, E. faecalis, S. epidermidis*) ve *C. parapsilosis* (MĠK: 32 µg/ml) dışındaki tüm mantarlara (*C. krusei, C. tropicalis, C. albicans*) karşı MĠK 64 µg/ml'de antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. *Centaurea iberica* H_2O ekstresini de içeren 32 tane esktre kullanmıştır. Sitotoksisite çalışması sonucunda denenen tüm bitkisel ekstrelerin insan serviks kanser hücre hattı olan HeLa hücrelerine karşı MTT testi ile sitotoksik aktivite göstermediği saptanmıştır (Oyardı, 2015).

Yırtıcı, 2012 yılında yapmış olduğu çalışmada *Centaurea fenzlii* bitkisinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında sitotoksik, apoptotik ve nekrotik etkisini MTT ile araştırmıştır. Bitki sırasıyla n-hekzan, diklorometan ve methanol ile ekstre edilmiştir. Örneklerin sitotoksik etkileri ve IC_{50} değerleri belirlenmiştir. Diklorometan ekstresinin sitotoksik etkisi diğer ekstrelere oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Diklorometan ekstresinin etil asetat fraksiyonunun MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik açıdan en etkili ekstre olduğu saptanmıştır. (Yirtici, 2012). MCF-7 hücre hattı için diklorometan ekstresinin IC_{50} değeri 122.521 µg/ml olarak bulunmuştur. MCF-7 hücre dizileri için diklorometan, etilasetat fraksiyonu için IC_{50} değeri 33.121 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Yırtıcı, Göger, Sarımahmutoğlu & Ergene, 2017).

Forgo vd. 2012 yılında yaptıkları araştırmada *Centaurea jacea L.* bitkisinin antiproliferatif biyoaktivitesini araştırmak amacı ile kloroform ile damıtma yapılarak 14 bileşik oluşturulmuştur. Bu bileşikler HeLa, MCF-7 ve A431 hücreleri üzerindeki tümör

hücresi büyümesini önleyici aktiviteler için değerlendirilmiştir. En yüksek aktivite centaureidin içinde görülmüştür. Centaureidin'in HeLa için IC_{50} değeri 0.08±0.004 µM, MCF-7 için IC_{50} değeri 0.13±0.03 µM ve A431 için IC_{50} değeri 0.35±0.05 µM olarak bulunmuştur. Farklı tip sekonder metabolitlerin (flavonoid ve seskuterpenler) ekstrelerin antitumor etkisinden sorumlu olduğu, en yüksek aktiviteyi centaureidin ekstresinin gösterdiğini ilave olarak diğer etkili ekstrelerin cirsiliol, isokaempferide, apigenin, hispidulin, cnicin and 4′-acetylcnicin olduğunu bildirmişlerdir (Forgo vd., 2012).

Tarançı tarafından 2014'de *Centaurea depressa* bitkisinin özellikle antigenotoksik etkisi ve buna bağlı olarak farklı kanser hücre hatlarına gösterdikleri antiproliferatif ve antikanserojenik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada *C. depressa* bitki türünün Caco-2, HT-29 ve HeLa kanser hücre hatları üzerine sitotoksik aktivitesi esas alınarak antiproliferatif etkisi, Trypan Blue Assay yöntemi ile belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak insan gingivial fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. Genotoksik etki ise Comet yöntemi ile belirlenmiştir. *C. depressa* methanol ekstraktının 500 mg/ml konsantrasyonun HeLa hücre hattı üzerinde %79 oranında; su ekstraktının 500 mg/ml konsantrasyonun Caco-2 ve HT-29 hücre hattı üzerinde sırasıyla %69, %76 oranında antiproliferatif etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak *C. depressa'* nın üç kanser hücre hattı üzerine de antiproliferatif etki gösterdiği belirlenmiş olup; su ekstraktının özellikle HT-29 kanser hücresi üzerine hem antigenotoksik hem de antiproliferatif etki göstermesi nedeni ile bu bitki ekstraktı hem genetik hasarı önleyici bir ajan hem de bir antikanserojen olarak önerilebileceği çalışma sonunda belirtilmiştir (Tarançı, 2014).

Yağlıoğlu vd. 2014, *Centaurea carduiformis*'ten elde edilen ekstratların antiproliferatif biyoaktivitesini yaptıkları araştırmada incelemişlerdir. 3 kanser hattına (Vero, HeLa ve C6) uygulama yapmışlardır. Bitkinin kökü en efektif antiproliferatif etkiyi göstermiştir. IC_{50} sonuçları, kloroformun Vero (250 µg/ml) ve HeLa (735 µg/ml) hücre hatlarına karşı en yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Yaglioglu, Demirtaş & Goren, 2014).

Alper & Güneş 2009 insan kanser hücre hatları üzerinde *Centaurea solstitialis* ekstraktının antikanser ve anti-inflamatuar etkileri üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu araştırmada, Muğla ilinden toplanan *Centaurea solstitialis'*in çiçekli kısımlarından elde edilen etanol ekstreleri kullanmışlardır. Ekstrenin Daudi (Burkitt lemfoma, CCL-213),

A549 (akciğer karsinom), HeLa (serviks adenokarsinom), and BEAS-2B (normal bronşial epitelyum) hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisi MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-dipeniltetrazolyum bromür) testi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktı kullanılan tüm kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etki gösterirken, ekstrakta karşı en duyarlı hücrelerin 63.18 µg/ml ve 69.27 µg/ml olan IC_{50} değerleri ile sırasıyla HeLa ve Daudi hücreleri olduğu, Beas-2B ve A549 için IC_{50} değerleri sırası ile 75.25 µg/ml ve 252.5µg/ml olarak tespit edilmiştir. HeLa ve A549 hücrelerinde apoptotik hücre ölümü kaydedilmiştir. Bu bulgular kanser tedavisinde *Centaurea solstitialis'*in önemli bir kaynak olabileceğini göstermiştir (Alper & Gunes, 2019).

Güvensen vd. 2019'da, *Centaurea babylonica (L.)* kullanarak yaptıkları çalışmada, ilgili bitkinin insan karsinomu ve servikal kanser hücre hatları üzerindeki antimikrobiyal ve antiproliferatif etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada, *Centaurea babylonica (L.)*' nın dallarından ve yapraklarından toplam yedi farklı ham ekstre (aseton, kloroform, heksan, etil asetat, methanol, etanol ve su) hazırlanmıştır. Yedi ekstrenin antiproliferatif aktivitesinin taranması ve aseton ekstresinin A549, PC-3, MCF-7 ve HeLa hücre hatları üzerindeki doza ve zamana bağlı etkilerinin belirlenmesi için MTT analizi uygulanmıştır. Antiproliferatif aktivitenin ilk taraması için ekstraktlar yüksek konsantrasyonda (0.5 mg/ml) kullanılmıştır. Su ekstraktı MCF-7 ve A549 hücrelerine karşı sırasıyla %58 ve %42 oranında antiproliferatif etkinlik sergilemiştir. Ayrıca, PC-3 ve HeLa hücrelerine karşı %22 ve %15 anti-tümör aktiviteleri gözlemlenmiştir. Su ekstraktının aksine, *Centaurea babylonica (L.)'*nın altı ekstraktının tamamı, test edilen tüm kanser hücresi hatlarına karşı %72 – 90 arasında sitotoksik aktivite ve kontrol grubuna kıyasla önemli bir antiproliferatif aktivite (*** $p < 0.001$) göstermiştir. Farklı konsantrasyonlarda aseton ekstraktı ile 24, 48 ve 72 saatlik deneyden sonra A549, HeLa, PC-3 ve MCF-7 hücre hatlarının zaman ve doz duyarlılığı belirlenmiştir. Sonuçlar, MCF-7 hücre hattının, 48 saatlik işlemden sonra 3 µg/ml'deki ekstrakt ile %50 hücre ölümü gösteren en hassas hücre tipi olduğunu göstermiştir. PC-3 hücreleri, 6 µg/ml aseton ekstraktı ile muameleden sonar %78 hücre ölümü sergilemiştir. Ek olarak, HeLa hücrelerinin doz tepki eğrisi, 48 ve 72 saatlik tedaviden sonra PC-3 hücrelerininkine benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte, ekstrakt ile 6 µg/ml'de %50 hücre ölümü elde edilmiştir. Diğer hücre hatları ile karşılaştırıldığında, A549 hücreleri aseton ekstraktına daha az duyarlı çıkmıştır çünkü yaklaşık 30 µg/ml'de %50 hücre ölümü görülmüştür. Bu

veriler aseton ekstraktının kanser hücre hatları üzerindeki çoğalmaya karşı etkilerinin zamana ve doza bağımlı olduğunu göstermiştir. MCF-7, HeLa ve PC-3 hücreleri için IC_{50} ile aseton ekstraktı için 3-6 µg/ml aralığında antiproliferatif etkiler de gözlemlenmiştir (Guvensen, Keskin, Güneş, Oktay & Yıldırım, 2019).

Demirtaş & Şahin'in 2013'te yaptıkları çalışmada, Vero hücreleri (Afrika yeşil maymun böbreği), C6 hücreleri (Sıçan beyni tümör hücreleri) ve HeLa hücreleri üzerindeki *Centaurea carduiformis DC.* subsp. *carduiformis* var. *carduiformis'*in *(CCS ve CCR)* saplarından ve köklerinden heksan ekstraktının antiproliferatif etkinliğini in vitro olarak araştırmışlardır. Ekstraktın antiproliferatif etkinliği, BrDU Hücre Proliferasyonu ELISA kullanılarak 500 μg/ml ve 1000 μg/ml'de test edilmiştir. Heksan ekstraktı, absorbans değerlerine sahip Vero, HeLa ve C6 kanser hücre hatlarının proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği görülmüştür. CCS ve CCR'nin çoğalmaya karşı etkinliği, HeLa hücreleri üzerinde 48 saat boyunca 500 μg/ml ve 1000 μg/ml'de test edilmiştir. CCR, HeLa hücrelerinin proliferasyonunu 1000 μg/ml ve 500 μg/ml'de 0.17 olarak ve CCS ise HeLa hücrelerinin proliferasyonunu 1000 μg/ml'de 0.20 ve 500 μg/ml'de 0.28 olarak doza bağlı bir şekilde inhibe etmiştir (Demirtas & Sahin 2013).

Sen, Turan & Bitis, 2017 yılında endemik *Centaurea kilaea'*daki anti-proliferatif bileşiklerin biyoaktivite kılavuzluğunda izolasyonu üzerine çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada, *C. kilaea* ile kloroform ekstraktından bileşikler hazırlanıp kullanılmıştır. Ayrıca bu bileşikler, bir L-929 (fare fibroblast hücre hattı) ve üç insan kanser hücre hattına (Hela; serviks adenokarsinomu, MCF-7; meme adenokarsinomu ve PC-3; prostat adenokarsinomu) karşı sitotoksik aktivite açısından MTT analiziyle değerlendirilmiştir. İzole edilen bileşiklerin hiçbiri L-929 ve Hela hücre hatlarına (IC_{50} > 50 μg/ml) karşı sitotoksik aktivite göstermemiştir. Sistin, 3.25 μg/ml IC_{50} değeriyle MCF-7 hücrelerine karşı kayda değer bir anti-proliferatif aktivite uygularken, dehidromelitensin ve pektolinarigenin sırasıyla 28.95 ve 35.53 μg/ml IC_{50} değerleriyle orta ve zayıf aktivite göstermiştir. Cirsimaritin, 4.30 μg/ml IC_{50} değeriyle PC-3 hücrelerine karşı güçlü bir anti-tümör aktivitesi sergilemiştir (Sen, Turan & Bitis, 2017).

Erenler vd. 2016'da yaptıkları çalışmada, *Centaurea solstitialis L.* ssp. *solstitialis* (CSS) bitkisini kullanmışlardır. Bu çalışmada, bitkinin kök, sap ve çiçek kısımları ayrı ayrı methanol ile ekstrakte edilmiştir. Her bir ekstraktın C6 hücreleri (Sıçan beyni tümör

hücreleri) ve HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkileri in vitro olarak araştırılmıştır. Sapın methanol ekstraktı en yüksek düzeyde antiproliferatif aktiviteyi sergilemiştir. BrDU (kolorimetrik) hücre proliferasyonu ELISA deneyi kullanılarak çiçek sapının, *CCS* ve dimetil sülfoksitin (DMSO) kök ekstraktlarının C6 ve HeLa'ya karşı antiproliferatif aktivitelerini belirlemek için biyo-deney kılavuzlu izolasyon gerçekleştirilmiştir. Ekstraktların ve DMSO'nun aktiviteleri iki farklı konsantrasyonda (500 ve 1000 μg/ml) gerçekleştirilmiştir. Sap ekstraktı 1000 μg/ml'de C6'ya karşı çiçek ve kök ekstraktlarıyla aynı antiproliferatif aktiviteyi sergilemiştir. HeLa'ya karşı 500 μg/ml'de antiproliferatif aktivite değerlendirilirken sap ekstratının çiçek ve kök ekstraktlarından daha yüksek etki düzeyine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle aktif bileşiklerin izolasyonu için sap ekstraktı tercih edilmiştir. Sapın methanol ekstraktı 97°C'de 2 saat su içinde kaynatılmıştır ve daha sonra sırayla heksan ve etil asetat ekstrakte edilmiştir. Solstitialin A (Bileşik-1) ve 15-dikloro-15-hidroksiklorojanerin (Bileşik-2), etil asetat ekstraktından kolon kromatografisiyle izole edilmiştir ve spektroskopik tekniklerle tanımlanmıştır. Bileşik-1, *CSS'*den ve Bileşik-2, *Saussurea lipschitz* ve *Rhaponticum pulchrum'*dan izole edilmiştir. Sap ekstraktından izole edilen Bileşik-1 ve 2'nin antiproliferatif aktiviteleri, standart olarak 5-florourasil ve sisplatinin kullanıldığı BrdU hücre çoğalması ELISA deneyi kullanılarak C6 ve HeLa için belirlenmiştir. Bileşiklerin ve standartların aktiviteleri farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 20, 30, 40, 50, 75 ve 100 μg/ml) gerçekleştirilmiştir. Bileşik-1 ve 2, C6 ve HeLa hücreleri üzerinde çok yüksek antiproliferatif aktivite sergilemiştir. Bileşik-1'in IC_{50} ve IC_{75} değerleri, C6 hücresine karşı sırasıyla 10.78 ve 53.65 ve HeLa'ya karşı 48.78 ve 68.52 olarak elde edilmiştir (Erenler, Sen, Yaglıoglu & Demirtaş, 2016).

Csapi vd. 2010'da *Centaurea arenaria* bitkisinden hazırlanan n-heksan, kloroform ve sulu methanol ekstraktlarının antiproliferatif etkilerini, MTT testini kullanarak HeLa, MCF7 ve A431 hücrelerine karşı araştırmışlardır. Kloroform ekstraktı, yüksek tümör hücresi proliferasyon inhibitör aktivitesi (10 μg/ml konsantrasyonda %85'ten yüksek) göstermiştir ve bu nedenle biyo-deney kılavuzlu çok aşamalı bir ayırma prosedürüne tabi tutulmuştur. UV, MS ve NMR spektroskopi yoluyla tanımlanan flavonoidler (eupatilin, eupatorin, 3'-metileupatorin, apigenin ve izokaempferid), lignanlar (arctigenin, arctiin ve matairesinol), seskiterpen sikin, serotonin konjugatları (moskhamin ve cis-moskhamin), β-amyrin ve β-sitosterin-β-D-glikopiranosid, bu türden

ilk kez elde edilmiştir. İzole edilen bileşikler HeLa, MCF7 ve A431 hücreleri üzerindeki tümör hücresi büyümesini önleyici aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Özellikle apigenin, eupatorin, arctigenin, arctiin, matairesinol ve cnicin bu hücre hatlarına karşı belirgin antitümör etki göstermiştir (Csapi vd., 2010).

Çizelge 3.1. *Centaurea arenaria* ekstraktlarının antiproliferatif etkileri ve verimleri

Bileşik	**HeLa**		**MCF-7**		**A431**	
	µM	**µg/ml**	**µM**	**µg/ml**	**µM**	**µg/ml**
Eupatilin (1)	aktif değil		aktif değil		24.16	8.31
Eupatorin (2)	29.79	9.89	aktif değil		52.50	17.43
3'-methyleupatorin (3)	aktif değil		aktif değil		aktif değil	
Apigenin (4)	10.64	2.87	13,88	3,75	12,34	3,33
Isokaempferid (5)	15.05	4.52	negatif		negatif	
Cnicin (6)	34.50	13.04	16.84	6.37	17.86	6.75
Arctigenin (7)	0.73	0.27	3.47	1.29	4.47	16.6
Arctiin (8)	1.80	0.96	aktif değil		19.53	10.43
Matairesinol (9)	751	2.69	36.23	12.97	19.92	7.13
(±)-Syringaresinol (10)	aktif değil		aktif değil		aktif değil	
Moschamine (11)	aktif değil		aktif değil		58.54	20.61
Cis-moschamine (12)	aktif değil		aktif değil		aktif değil	

β-amirin (13)	aktif değil		aktif değil		aktif değil	
β-sitosterin-glukosid (14)	aktif değil		aktif değil		aktif değil	
Doksorubisin	0.15	0.089	0.28	0.158	0.15	0.086
Sisplatin	12.43	3.73	9.63	2.89	2.84	0.852

Çizelge 3.2. *Centaurea arenaria* ekstraktlarının antiproliferatif etkileri ve verimleri

Ekstrakt	**Verim**	**10 µg/ml'de hücre proliferasyonunun inhibisyonu**		
	(%)	**HeLa**	**MCF-7**	**A-431**
N-hekzan	0.24	24.97	8.33	-4.82
Kloroform	1.64	94.08	86.29	98.85
Sulu methanol	1.00	33.24	25.89	8.69

Bakr vd. 2016'da *Centaurea aegyptiaca* bitkisini kullanarak yaptıkları çalışmalarında insana ait olan dört kanser hücre hattına (Hep-G2, MCF-7, HCT-116 ve HeLa) karşı sitotoksik aktivitenin değerlendirilmesi MTT analizi kullanılarak yapılmıştır. Toplam 61 bileşik negatif ve pozitif modlarda geçici olarak ayırt edilmiştir (21 fenolik asit ve bunların türevleri, 31 flavonol ve 9 flavon). *Centaurea aegyptiaca*, Hep-G2, MCF-7, HCT-116 ve HeLa hücre hatlarına karşı sırayla IC_{50} değeri olarak 12.1, 30.9, 11.7 ve 19.5 µg/ml değerleriyle olağanüstü sonuçlar göstermiştir. 300 gr bitki materyali ayrıntılı olarak methanol ile ekstre edilmiştir. Birleştirilen metanolik özler (BMÖ) süzülmüş, vakum altında 50 °C'de konsantre edilmiş, kurutulmuş ve LC-HRESI-MS-MS analizi için ve sitotoksik ve antiviral aktiviteleri değerlendirmek için bırakılmıştır. BMÖ, insan tümör hücresi hatlarına karşı üç kez MTT testi yöntemi kullanılarak test edilmiştir: HepG-2, MCF-7, HCT-116 ve HeLa. Tedavi edilmeyen hücreler negatif kontrolü temsil ederken,

doksorubisin pozitif kontrol olmuştur. Daha yüksek etki, 0.46 – 0.23 µg/ml aralığındaki standart sitotoksik bir madde olarak doksorubisin ile karşılaştırıldığında IC_{50} değeri 20 µg/ml'den az olan HCT-116, sonrasında HepG-2 ve ardından HeLa hücreleri ile gözlenmiştir (Bakr, Mohamed & Ayoub, 2016).

Çizelge 3.3. *Centaurea aegyptiaca* ekstresinin sitotoksik aktivitesi

Hücre Hattı	**HepG-2**		**MCF-7**		**HCT-116**		**HeLa**	
	BMÖ	Doks.	BMÖ	Doks.	BMÖ	Doks.	BMÖ	Doks.
IC_{50} (µg/mL)	12.1 ± 3.89	0.467 ± 0.2	30.9 ± 2.62	0.426 ± 0.35	11.7 ± 1.44	0.23 ± 0.17	19.5 ± 2.73	0.456 ± 0.35

Birleştirilen metanolik özler (BMÖ), Doks. (Doksorubisin)

Zater vd. 2016'da *Centaurea diluta* Ait. subsp. *algeriensis* (Coss. & Dur.) Maire′nin yapraklarından ve çiçeklerinden elde edilen MeOH-H20 ekstraktının CHCI3 çözünür kısmının sitotoksik etkileri, MTT analizi kullanarak 3 insan kanser hücresi hattı üzerinde (A549, MCF7 ve U373) araştırılmıştır. Ayrıca izole edilen 5 farklı bileşiğin 6 farklı tümör hücre hatları (A549, MCF7, U373, HS683, PC3 ve B16-F10) üzerindeki sitotoksik etkileri (IC_{50}) incelenmiştir. Ham ekstraktın A549, MCF7 ve U373 üzerinde sırasıyla 27, 25 ve 21 µg/ml IC_{50} değerleri ile hücre canlılığını azalttığı görülmüştür. Beş ikincil metabolit: iki fenolik bileşik (vanilin 1, paridol 3), bir lignan [(-) - arctigenin 2] ve iki flavonoid aglikon (eupatilin 4 ve jaceosidin 5) daha sonra bu ham ekstrakttan izole edilmiştir. Bunun sonucunda (-) - arctigenin 2 (B16-F10 ve Hs683'te sırasıyla IC_{50} değerleri: 28 ve 33 µM), eupatilin 4 (B16-F10 ve PC3'te sırasıyla IC_{50} değerleri: 33 ve 47 µM) ve jaceosidin 5 (PC3 ve B16-F10'da sırasıyla IC_{50} değerleri: 32 ve 40 µM) orta derecede sitotoksik etkiler gözlenmiştir (Zater vd., 2016).

Ostad vd. 2016 yılında metanolik ekstrakt ve *Centaurea bruguierana* ssp. *belangerana'*nın (Asteraceae) tüm meyve örneklerinin farklı fraksiyonlarını, aktif fraksiyonları tanımlamak için MTT sitotoksisite deneyi kullanarak çeşitli hücre hatlarına

karşı sitotoksisite açısından incelemişlerdir. Bitkinin kloroform ve etil asetat fraksiyonları, Caco-2 (kolon adenokarsinomu) ve T47D (meme duktal karsinom) hücre hatlarına karşı önemli sitotoksisite göstermiştir. Yaptıkları çalışmada kloroform fraksiyonu, Caco-2 hücre hattına karşı en güçlü in vitro sitotoksik aktiviteyi sergilemiştir. Ayrıca, sadece kloroform fraksiyonu NIH-3T3 (İsviçre embriyo fibroblast) hücre hatlarına karşı orta derecede aktiflik göstermiştir. Petrol eter ekstresinin HT-29 hücre hattı üzerindeki IC_{50} değeri 506.12±34.2 µg/ml, kloroform ekstresinin IC_{50} değeri 327±23 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada *Centaurea bruguierana'*nın kloroform fraksiyonu, test edilen tüm hücre hatlarına karşı diğer fraksiyonlara kıyasla daha iyi sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Ostad vd., 2016).

Çizelge 3.4. *C.bruguierana* ssp. *belangerana'*nın tüm meyve bitkisinden elde edilen toplam ekstrakt ve çözücü fraksiyonlarının sitotoksik aktivitesi (IC_{50} değerleri, µg/ml)

Bileşik	**Hücre Hatları**			
	HT-29	**Caco-2**	**T47D**	**NIH-3T3**
Toplam metanolik ekstrakt	> 1000	> 1000	320.81±2.54	174.21±1.23
Petrol eter fraksiyonu	506.12±34.2	144.23±23.1	52.89±34.26	> 1200
Kloroform fraksiyonu	327±23	< 10	29.54±2.33	87.13±2.11
Etil asetat fraksiyonu	> 1000	63.73±12.36	83.67±0.84	152.4±11.2
n-Butanol fraksiyonu	> 1000	> 1000	280.3±4.13	469.02±84.5
Kalan metanolik fraksiyon	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
Metotreksat	0.23±0.02	0.32±0.04	0.16±0.09	0.24±0.013

Sen vd. 2015'de *Centaurea kilaea Boiss*. bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen heptan (CKH), kloroform (CKC) ve alt fraksiyonları (CKCSI, CKCSII, CKCSIII) ile metanol ekstresinin (CKM) farklı kanserli hücre hatları üzerinde aktiviteleri araştırılmış. Antiproliferatif aktivite üç insan kanser hücre hattı üzerinde (Hela, MCF-7 ve PC-3) MTT deneyi aracılığıyla ölçülmüştür. CKC, 53.07 ve 68.64 µg/ml IC_{50} değerleriyle sırasıyla Hela ve MCF-7 hücre dizilerine karşı en yüksek antiproliferatif aktiviteyi sergilemiştir. CKC ve CKM ise PC-3 hücre hattı üzerinde en yüksek antitümoral aktivite göstermişlerdir (sırasıyla IC_{50}: 73.92 ve 70.11 µg/ml). Aynı zamanda aktif kloroform ekstresinin alt fraksiyonunun (CKCSII), 60.75 ve 60.70 µg/ml IC_{50} değeriyle sırasıyla Hela ve MCF-7 hücre dizilerine karşı orta derecede antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Sen vd., 2015).

Çizelge 3.5. *C.kilaea'*nın çeşitli ekstraktlarının kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkinliği (IC_{50} µg/ml)

Bileşik	**Hücre Hatları**		
	MCF-7	**HeLa**	**PC-3**
CKH	90.82±1.70	103.8±1.51	90.25±2.08
CKC	68.64±1.37	53.07±0.70	73.92±2.12
CKM	91.53±1.11	102.1±3.01	70.11±1.65
CKCSI	90.17±3.15	98.28±1.48	100.9±3.86
CKCSII	60.70±2.07	60.75±1.40	96.08±1.64
CKCSIII	89.81±3.89	83.51±0.80	86.62±0.67

Özcan vd. 2016'da çalışmalarında *Colchicum sanguicolle*, *Crateagus microphylla* ve *Centaurea antiochia* kullanmışlardır. Çalışmalarında, bu bitki ekstrelerinin HeLa ve C 4-I hücreleri üzerindeki antitümör etkisini araştırmışlardır. Üç bitki tipinden beş farklı doz (0.001, 0.01, 0.05, 0.25 ve 0.5 mg/ml) hazırlanmış ve 24, 48 ve 72 saat boyunca serviks kanseri türevi hücre hatlarına uygulanmıştır. Büyüme hızı mitokondriyal dehidrojenaz enzim yöntemi ile değerlendirilmiştir. *Colchicum sanguicolle* ekstreleri en etkili antitümör aktivitesini göstermiştir. *Colchicum sanguicolle* ekstresi için HeLa hücreleri IC_{50} değeri 48 saatte 0.01 mg/ml iken C 4-I hücreleri için 48 saatte 0.001 mg/ml olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, C 4-I hücrelerinin *Colchicum sanguicolle* ekstrelerine daha duyarlı olduğunu göstermiştir (Ozcan, Acet & Çorbacı, 2016).

Üç *Centaurea* türünün (*C. calcitrapa* subsp. *calcitrapa, C. ptosimopappa* ve *C. spicata*) antioksidan aktiviteleri ve sitotoksisitesi üzerine yapılan çalışmada antioksidan aktivite DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil-hidrat) ve süperoksit anyon temizleme ve anti-lipid peroksidasyon deneyleriyle, HeLa ve Vero hücreleri üzerindeki sitotoksik etki ise MTT analizi ile araştırılmıştır. En yüksek sitotoksik aktivite, IC_{50} değerleri <100 µg/ml olan her iki hücre hattında da metanolik *C. calcitrapa* subsp. *calcitrapa* ekstraktında gözlenmiştir (Erol-Dayi, Pekmez, Bona, Aras-Perk & Arda, 2011).

Özet olarak *Centaurea* cinsi bitkilerin kanser doku hatları üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalardan alınan veriler Çizelge 3.6.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. *Centaurea* 'nın çeşitli ekstraktlarının kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkinliği (IC_{50} µg/ml)

Centaurea **Cinsi**	**Kullanılan Ekstrat**	**HeLa için IC_{50}**	**MCF-7 için IC_{50}**	**Araştırmacı**
Centaurea cadmea Boiss.	Kloroform	14.24		Astari vd., 2014
Centaurea cadmea Boiss.	Methanol	Sitotoksik etki göstermemiştir.		Astari vd., 2014

Centaurea virgata Lam.	Methanol		Sitotoksik etki göstermemiştir.	Moghaddam vd., 2014
Centaurea bruguierana	Methanol		47.30	Ghafari vd., 2015
Centaurea bruguierana	Klorofom		23.03	Ghafari vd., 2015
Centaurea ertugriliana	Methanol	32.35		Uzun vd., 2017
Centaurea nerimaniae	Methanol	1.42		Kayacan, 2015
Centaurea nerimaniae Ş. Kültür	Methanol	253±0.764		Artun, 2015
Centaurea antiochia Boiss. var. *praealta* (Boiss. &Bal) Wagenitz	Methanol	427±3.06		Artun, 2015
Centaurea iberica	Su	Sitotoksik etki göstermemiştir.		Oyardı, 2015
Centaurea fenzlii Reichardt	Diklorometan		122.521	Yırtıcı vd., 2012
Centaurea fenzlii Reichardt	Etil asetat		33.121	Yırtıcı vd., 2012

Centaurea jacea L.	Kloroform	0.08±0.004	0.13±0.03	Forgo vd., 2012
Centaurea carduiformis DC	Kloroform	735		Yağlıoğlu vd., 2014
Centaurea solstitialis	Etanol	63.18		Alper & Güneş 2019
Centaurea babylonica (L.)	Aseton	3-6	3-6	Güvensen vd., 2019
Centaurea kilaea	Kloroform	Sitotoksik etki göstermemiştir.	3.25	Şen vd., 2017
Centaurea solstitialis L. ssp. *solstitialis*	Methanol	48.78		Erenler vd., 2016
Centaurea arenaria	Kloroform	0.27	1.29	Csapi vd., 2010
Centaurea aegyptiaca	Methanol	19.5 ± 2.73	30.9 ± 2.62	Bakr vd., 2016
Centaurea diluta Ait. subsp. algeriensis (Coss. & Dur.)	Kloroform		25	Zater vd., 2016
Centaurea kilaea Boiss.	Klorofom	53.07	68.64	Şen vd., 2015

BÖLÜM 4

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Bitki Materyalinin Toplanması

Centaurea diffusa, Centaurea iberica, Centaurea solstitialis türleri Nisan – Temmuz 2016 ayları arasında Milli Parklardan izin alınarak Edirne Merkezden toplanmış ve Prof.Dr. Çiler Kartal tarafından bitki teşhisi yapılmıştır. Deneylerde kullanılan bitkisel materyaller (*Centaurea diffusa, Centaurea iberica, Centaurea solstitialis*) 2016 yılının Temmuz ayında *C. diffusa* Edirne ili Havsa yolu üzerinden, *C. iberica* ve *C. solstitialis* Trakya Üniversitesi Balkan Yerleşkesinden toplanmıştır (Şekil 4.1). Temin edilen örneklerin kökleri ayrılarak oda koşullarında gölgede kurutulmuştur. Küçük parçalara ayrıldıktan sonra kuru ortamda karton kutularda muhafaza edilmiştir. Kurutulan bitkilerin toprak altı kısımları laboratuvar tipi parçalayıcı ile küçük parçalar haline getirilmiştir.



Şekil 4.1. Örneklerin toplandığı lokaliteler harita üzerinde nokta ile gösterilmiştir.

4.2. Ekstraksiyon ve İzolasyon

Bitkilerin toprak altı kısımları oda şartlarında kurutularak saklanan örneklerin kök kısımları alınarak laboratuar tipi blender ile parçalandı. *C. diffusa, C. iberica* ve *C. solstitialis* türleri 17'şer gr tartılıp üzerine 250 ml kaynar distile su ile 20 dakika dekoksiyonu yapılmıştır. 30 dakika süresince manyetik karıştırıcıda demlendirilip Whatman filtre kağıdı ile süzülmüştür. Ekstraktlar beherlere 20'şer ml olarak paylaştırılıp -18 °C'de dondurulmuştur. Donan ekstraktlar TÜTAGEM'de Virtis SP Scientific marka liyafilizatörde 1 gün boyunca liyofilize edilmiştir. Ekstraktlarda su tamamen uçunca, beherlerin ağzı sıkıca kapatılıp -18 °C'de saklanmıştır.

4.3. *C. diffusa, C. iberica, C. solstitialis* Toprak Altı Ekstrelerinin Kanser Hücre Hatları Üzerine Muamelesi

Centeurea sp. türlerinin kök ekstraktlarının HeLa, HT-29, MCF-7 kanser hücre hatları üzerinde 24 ve 48 saat sure ile antiproliferatif etkisi iCelligence cihazı ile elektirik empedansları ölçülerek tespit edilmiştir. *C. diffusa, C. iberica, C. solsititialis* toprak altı kısımları su ekstarktları kuyucuklara 10, 20, 30, 60, 100, 120 µg/ml olacak şekilde eşit

hacimlerde eklenmiştir. Kontrol kuyucuğunda ekstrakt bulunmamakta, sadece kanser hücre serisi bulunmaktadır. Medyum kontrol kuyucuğu sadece besi yeri içermektedir.

Kuyucuklara önce kanser hücre serileri besi yeri içinde ilave edilmiştir. Kanser hücre hatları kültür ortamında bölünme ivmesi kazandıktan hemen sonra kuyucuklara ekstraktların farklı konsantrasyonlarından ilave edilmiştir. Ekstraktların hücre hatları üzerine muamelesinden itibaren 48 saat boyunca birer saat aralıklar ile empedans değerleri ölçülmüştür. Empedans değerlerinden hücre indeksi değerlerinin hesaplanması iCelligence programı ile yapılmıştır.

4.4. Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

Gerçek zamanlı hücre analiz (RTCA) testi e-kuyucuklara ekilen doku hücrelerinin bölünme oranlarının elektrik impedanslarının ölçülmesi ile eş zamanlı olarak yapıldığı bir test sistemidir. Öncelikle E-kuyucukların arkaplan ölçümleri yapıldı. Bunun için 100 µl hücre kültür medyumu 6 kuyucuklu plakalara konuldu ve e-plakaların ölçümü yapıldı. RTCA software package 1.2 kuyucukların kalibrasyonu için kullanıldı.

Hücreler, Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12 Ham (SIGMA), %5 Fetal Bovine Serum (Gibco 16000036), 100 IU/ml Penisilin (Gibco), 10 mg/ml Streptomisin (Gibco) L-Glutamine (Gibco) içeren 100 mm doku kültür kaplarında kültüre edildi. Hücre adezyonu %80-90'a ulaştığında hücreler PBS ile yıkandı, tripsin/EDTA ile kaplardan alındı. Tripan mavisi ile hemasitometrede sayımı yapıldı ve kültür ortamında süspanse edildi. Hücreler tripsin ile muamele edildi ve muamele için 400000 hücre/ml stok solüsyon şeklinde hazırlandı. E-plakların kuyucuklarına hücre içermeyen proliferasyon besiyerinden 100 µl eklenerek inkübatörde 15 dakika bekletilerek elektrotların kalibrasyonu sağlanmıştır. 6 kuyulu E-kuyucuklara 100 µl hücre süspansiyonu ilave edilerek 200 µl hacimde hazırlanmıştır. Kör kuyucuğuna hücre içermeyen proliferasyon besiyerinden ilave yapılmıştır. E-kuyucuklar RTCA yazılım paketinde çalışılmadan önce 30 dk çökmeleri beklendi. Hücre artışı logaritmik faza geçtiği sürede kuyucuklara ekstrelerin farklı konsantrasyonları eşit hacimde (50 µl) eklenerek empedans değerleri ölçülmüştür.

Ekilen hücreler inkübatörde yayılmaya (çoğalmaya) başladıklarında, impedans (elektrik akımına karşı gösterdikleri direnç) değerleri hücre indeksi (CI) değerlerine

çevrildi. CI değeri hücre durumunu gösteren ölçülen elektrik impedansındaki relativ değişimdir ve direkt olarak miktar, şekil ve hücrelerin yapışma güçleri ile orantılıdır. Optimum sayıdaki hücre e-plakalara ekildikten 15 saat sonra hücreler, bitki ekstraktlarının 10, 20, 30, 60, 100, 120 µg/ml konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. 15. saatten sonraki 24 ve 48 saat boyunca, proliferasyon inhibisyonu ölçümleri, saat başı impedans değerleri ölçülerek alınmıştır. Elektriksel impedans değerleri iCelligence sisteminin RTCA yazılımı ile ölçülerek, IC_{50} değerleri RTCA yazılımı kullanılarak belirlenmiştir. Deneyler üç kez tekrar edilmiştir (Bulut vd., 2019).

BÖLÜM 5

5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Centaurea diffusa, Centaurea iberica, Centaurea solstitialis toprak altı kısmı, su ekstraktlarının HeLa, HT-29, MCF-7 kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etkisi iCelligence cihazı ile empedans değerleri ölçülerek hesaplanmıştır. Doku kültürüne alınan hücre hatları statik büyüme fazına geçtikten sonra ekstrakt muamelesi yapılarak saat başı empedans değerleri elde edilmiştir. Muameleden itibaren 48 saat boyunca elde edilen empedans değerlerinden hesaplanan hücre indekslerinin zamana bağlı 48 saatlik değerleri grafikler üzerinde gösterilmiştir *(Centaurea diffusa* (Şekil 5.1.), (Şekil 5.3.), (Şekil 5.5.); *Centaurea iberica* (Şekil 5.8.) , (Şekil 5.10.) , (Şekil 5.13.); *Centaurea solstitialis* (Şekil 5.16.), (Şekil 5.19.), (Şekil 5.22.)). Her bir bitki ekstraktının kanser hücre serisi üzerinde 24 ve 48 saatlik doz cevap eğrileri, iCelligence programı üzerinden hesaplanarak gösterilmiştir *(Centaurea diffusa* (Şekil 5.2.), (Şekil 5.4.), (Şekil 5.6.), (Şekil 5.7.); *Centaurea iberica* (Şekil 5.9.), (Şekil 5.11.), (Şekil 5.12.), (Şekil 5.14.), (Şekil 5.15.); *Centaurea solstitialis* (Şekil 5.17.), (Şekil 5.18.), (Şekil 5.20.), (Şekil 5.21.), (Şekil 5.23.), (Şekil 5.24.)). Her bir ekstrakt ve hücre serisi için 24 ve 48 saatlik IC_{50} değerleri Çizelge 5.1'de gösterilmiştir.

Sonuçlar bitki kök ekstraktlarının kanser hücre hatları üzerinde antirpoliferatif etkili olduğunu göstermektedir. Tüm ekstraktların ilk 24 saatlik muamelede etki gösterdiği saptandı. İkinci 24 saatte proliferasyon, çok düştüğü ve hücre sayısı azaldığından dolayı 48. saat sonundaki bazı ekstraktların kanser hücre hatları üzerinde

IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır. Muamele sonrası 48 saatlik proliferasyon grafikleri, bölünme indeksinin ilk 24 saatte hızla düştüğünü göstermektedir.

Bitki ekstraktları ve elde edilen bölünme indeksleri karşılaştırıldığında *Centaurea diffusa*' nın HeLa ve MCF-7 hücre hatlarında etkinliğinin çok yüksek ve hızlı olduğu saptanmıştır. *Centaurea iberica* ve *Centaurea solstitialis* HeLa hücre hattı üzerindeki etkinliği daha yüksek bulunmuştur. 48 saatlik veriler karşılaştırıldığında *Centaurea iberica* MCF-7 IC_{50} değeri 177 µg/ml dışında diğer ekstrakt ve hücre hatlarında IC_{50} değerleri 1-10 µg/ml aralığında saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar uzun süreli muamelenin hücre indeksini kontrole göre düşürdüğünü, antiproliferatif etkinliklerinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Çizelge 5.1. Her bir ekstrakt ve test edilen kanser hücre serisi için hesaplanan 24 ve ve 48 saatlik IC_{50} değerleri verilmiştir. (-) 48 saat IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır.

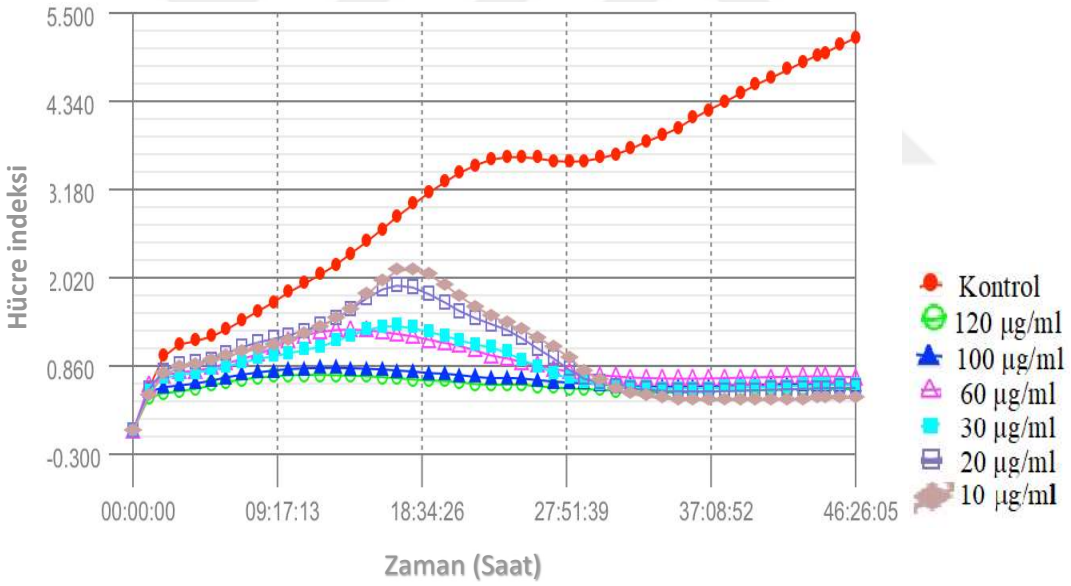
Bitki kök ekstraktı	**Kanser hücre hattı**	**24 saat LC_{50} değeri**	**48 saat LC_{50} değeri**
Centaurea diffusa	HeLa	2.88 µg/ml	-
	HT-29	22.5 µg/ml	-
	MCF-7	2.15 µg/ml	1.07 µg/ml
Centaurea iberica	HeLa	25.19 µg/ml	-
	HT-29	97.8 µg/ml	9.44 µg/ml
	MCF-7	304 µg/ml	177 µg/ml
Centaurea solstitialis	HeLa	20.13 µg/ml	2.06 µg/ml
	HT-29	124 µg/ml	8.68 µg/ml
	MCF-7	168 µg/ml	1.07 µg/ml

5.1. *Centeura diffussa* Antiproliferatif Etkinliği

5.1.1. *Centeurea diffusa* Su Ekstraktının HeLa Kanser Hücre Hattı Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği

Centaurea diffusa toprak altı su ekstraktının HeLa kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saat zamana bağlı hücre indeksi değerleri

Şekil 5.1.'de gösterilmiştir. Şekil 5.2.'de 24 saatlik doz cevap eğrisi verilmiştir. 24 saatlik IC_{50} değeri 2.88 µg/ml olarak hesaplanmıştır. 48 saatlik IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. Bunun sebebi ilk 24 saatte etkinliğini yüksek oranda göstermiş olması, 28. saatten sonra bölünme indeksinin en düşük seviyede 48. saat sonuna kadar süreklilik göstermiş olması nedeniyle olabilir. Doza bağlı hücre indeksi sayısında değişim meydana gelmediği için 48 saatlik IC_{50} değeri hesaplanamamaktadır. İkinci 24 saatlik muamele süresinde doza bağlı azalma gözlenmemiş, kök ekstraktı etkinliğini birinci 24 saat içinde gösterdiği gözlenmektedir. İkinci 24 saatte hücre indeksi ortalama 0.58 olup, kontrol grubuna göre yaklaşık 10 kat düşük proliferative aktivitesi bulunmaktadır. *C. diffusa* ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde hızlı etki göstererek, proliferasyonu ilk 24 saatte anlamlı olarak düşürdüğü, bu anlamlı düşüşün 27. saatten sonra süreklilik gösterdiği tespit edilmiştir.



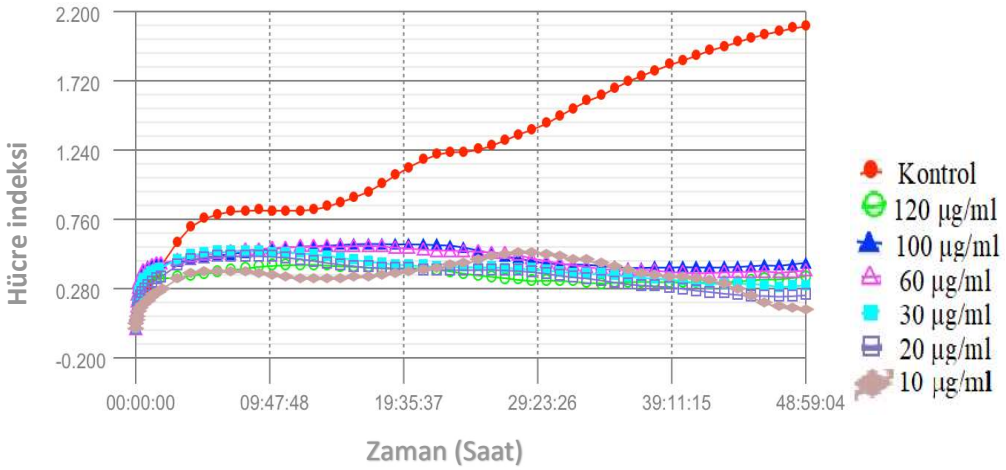
Şekil 5. 1. *C.diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde muamele sonrası 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi (Dikey eksen hücre indeksini, yatay eksen muameleden sonraki süreyi göstermektedir.)



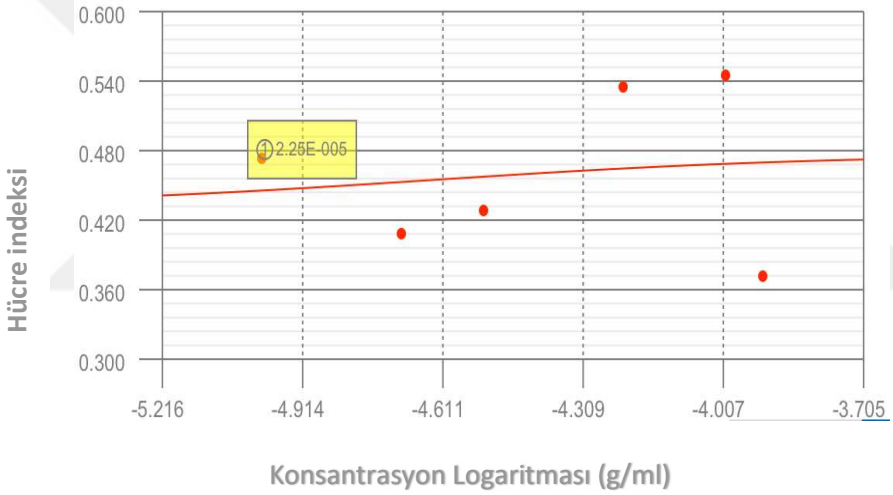
Şekil 5.2. *C.diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=2.8830E-006g/ml; R^2=0.9910; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

5.1.2. *Centeurea diffusa* Su Ekstraktının HT-29 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği

Centaurea diffusa toprak altı su ekstraktının HT-29 kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.3.'de gösterilmiştir. Şekil 5.4.' te 24 saatlik doz cevap eğrisi verilmiştir. *C. disffusa'*nın HT-29 hücre serisi üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 saat için 22.5 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.4.). Tüm dozlarda muameleden hemen sonra düşüş gözlenmiş, doza bağlı antipoliferatif etkinlik saptanamamıştır (Şekil 5.4.). 48 saat IC_{50} konsantrasyonu ilk 24 saatte gözlenen hızlı düşüş neticesinde hesaplanamamıştır. *C. diffusa'*nın HT-29 üzerindeki etkisi, *C. diffusa*'nın HeLa hücre serisi üzerindeki etkisine benzerlik göstermektedir. *C. disffusa'* ekstraktı HT-29 üzerinde ilk 24 saatte etkinliği yüksek oranda göstermiş olup, ikinci 24 saatte en düşük bölünme indeksi süreklilik göstermiştir. İkinci 24 saatte hücre indeksi ortalama 0,38 değerine düştüğü gözlenmektedir. *C. diffusa* ekstraktı HT-29 hücre hattında hızlı etki göstererek, proliferasyonu hızla düşürdüğü ve bu etkinliğin süreklilik gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 5. 3. *C.diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi

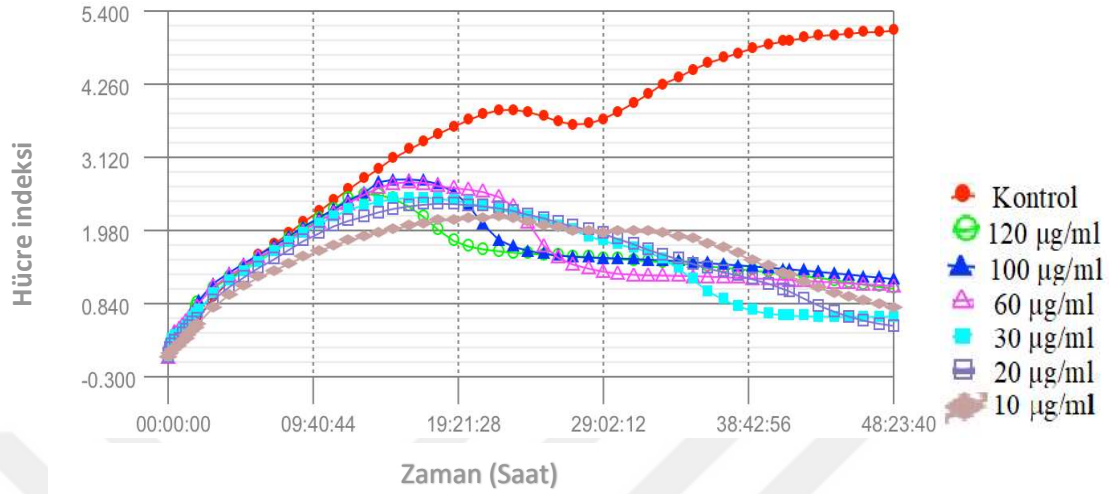


Şekil 5. 4. *C.diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=2.24650E-005g/ml; R^2=0.0189; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

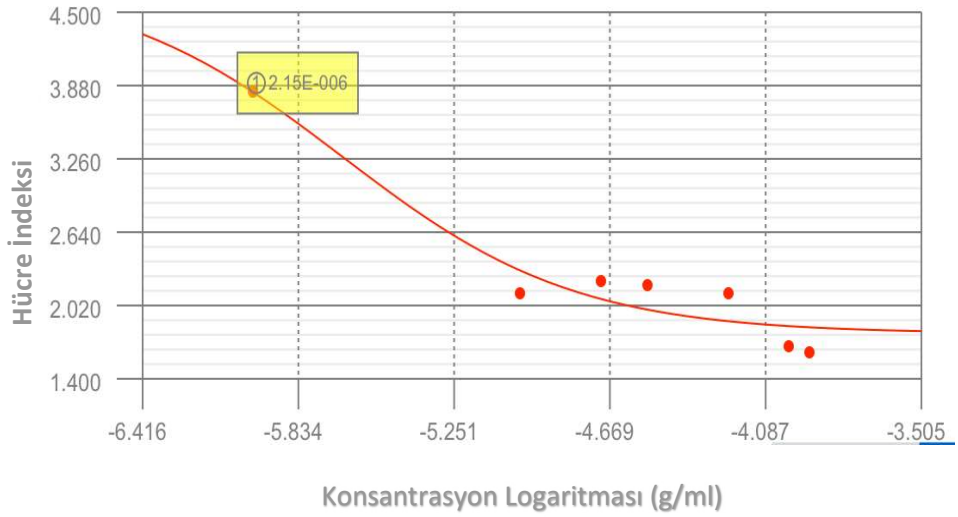
5.1.3. *Centeura diffusa* Su Ekstraktının MCF-7 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği

Centaurea diffusa toprak altı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.5.'de gösterilmiştir. Şekil 5.6.'te 24 saatlik, Şekil 5.7.'da 48 saatlik doz cevap eğrisi verilmiştir. *C. disffusa*'nın MCF-7 hücre serisi üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 ve 48 saat için sırasıyla 2.15 µg/ml ve 1.068 µg/ml olarak tespit

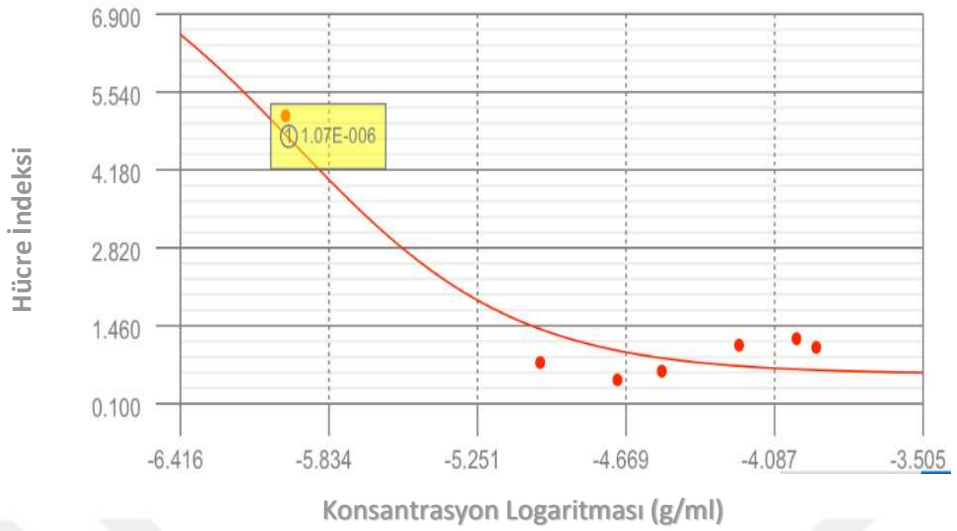
edilmiştir. Kontrole göre tüm doz gruplarında hücre indeksinde anlamlı azalma saptanmıştır. Bu azalma 48 saat boyunca devam ettiği gözlenmektedir



Şekil 5. 5. *C.diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi



Şekil 5. 6. *C.diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=2.1528E-006g/ml; R^2=0.9280; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

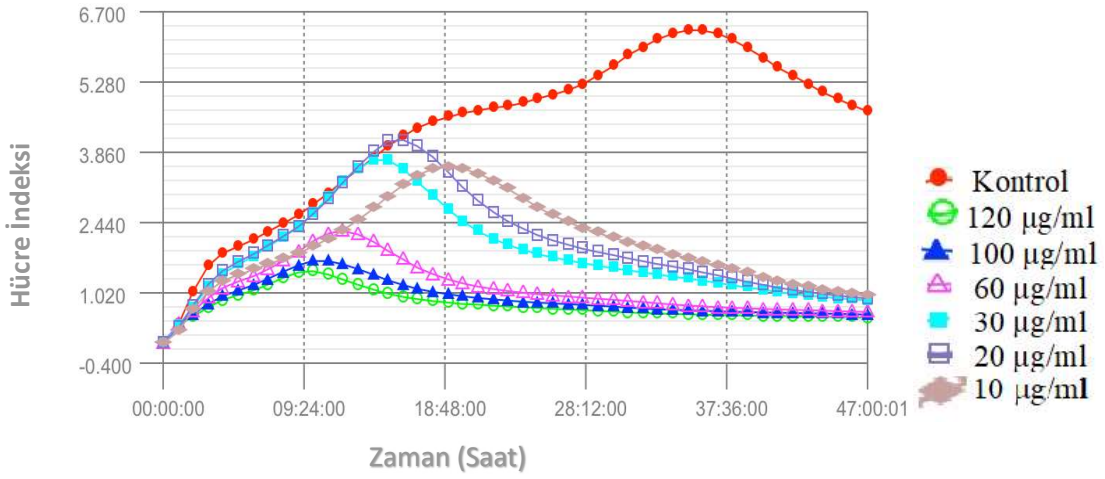


Şekil 5. 7. *C.diffusa* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=1.0680E-006g/ml; R^2=0.9122; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

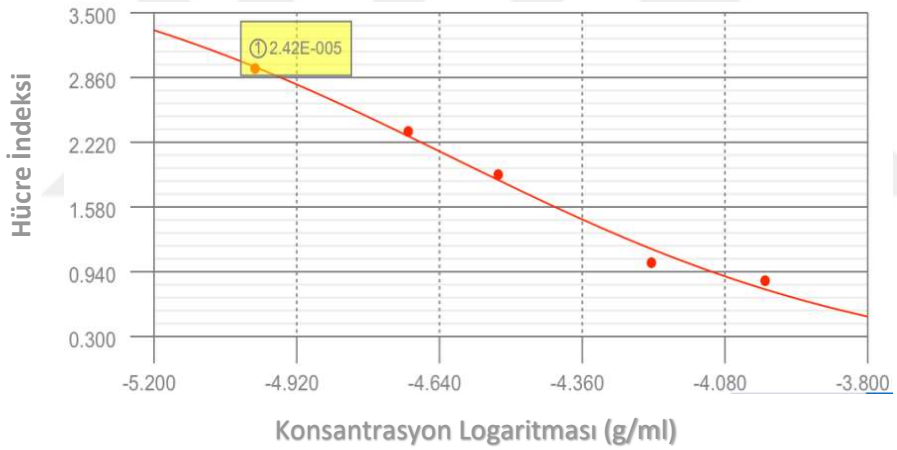
5.2.*Centeurea iberica* Antiproliferatif Etkinliği

5.2.1. *Centeurea iberica* Su Ekstraktının HeLa Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği

Centaurea iberica toprak altı su ekstraktının HeLa kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.8.'de gösterilmiştir. Şekil 5.9.'de 24 saatlik doz cevap eğrisi verilmiştir. *C. iberica'*nın HeLa hücre serisi üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 saat için 24.19 µg/ml olarak tespit edilmiştir. 40. Saatten sonra bölünme indeksinin tüm dozlarda sabit kalıp süreklilik göstermiş olması, aynı zamanda kontrol grubunda da proliferasyon azalmasının gözlenmesi sebebi ile 48 saat IC_{50} konsantrasyonu belirlenememiştir.



Şekil 5. 8. *C.iberica* kök ekstraktı toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi

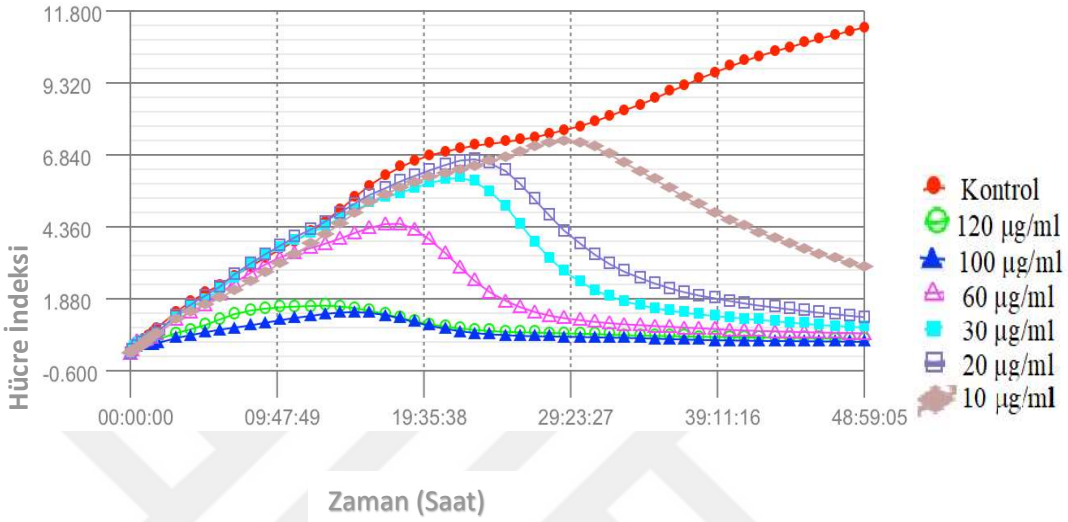


Şekil 5. 9. *C.iberica* kök ekstraktı toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri
(IC_{50}=2.4194E-005g/ml; R^2=0.9905; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

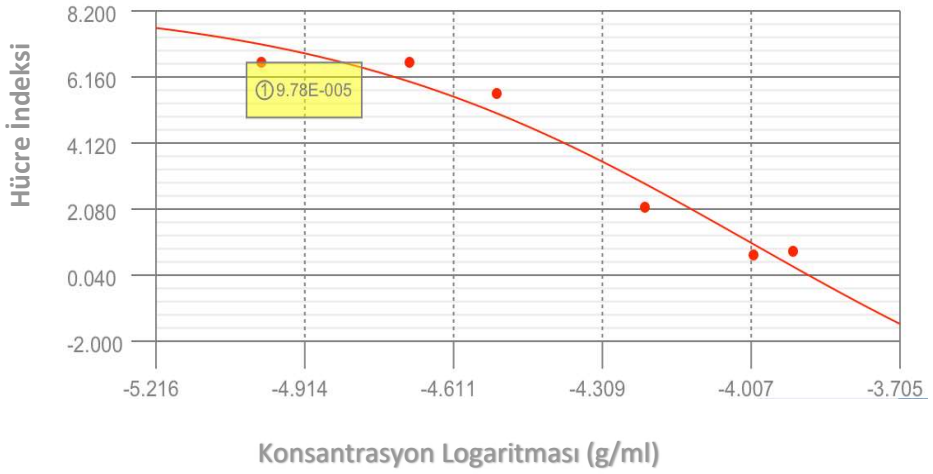
5.2.2. *Centeurea iberica* Su Ektraktının HT-29 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği

Centaurea iberica toprak altı su ekstraktının HT-29 kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.10.'te gösterilmiştir. Şekil 5.11.'de 24 saatlik, Şekil 5.12.'te 48 saatlik

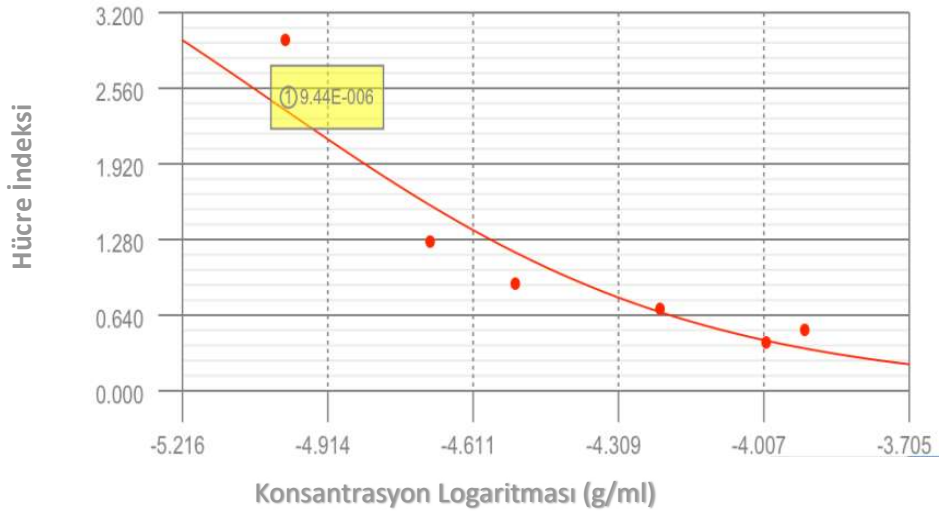
doz cevap eğrileri verilmiştir. *C. iberica*'nın HT-29 hücre serisi üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 ve 48 saat için sırasıyla 97,8 µg/ml 9,44 µg/ml olarak tespit edilmiştir.



Şekil 5. 10. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi



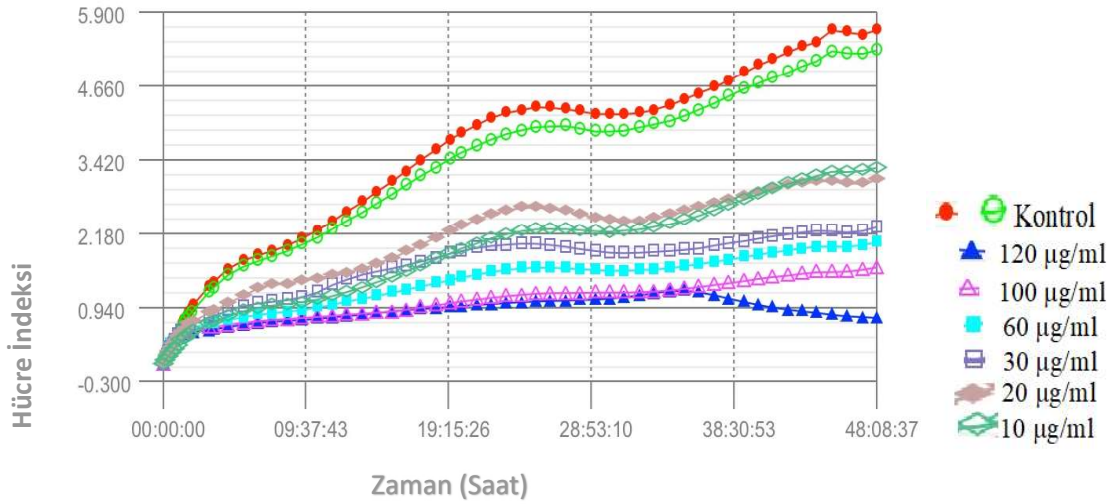
Şekil 5. 11. *C .iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=9.7760E-005g/ml; R^2=0.9557; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))



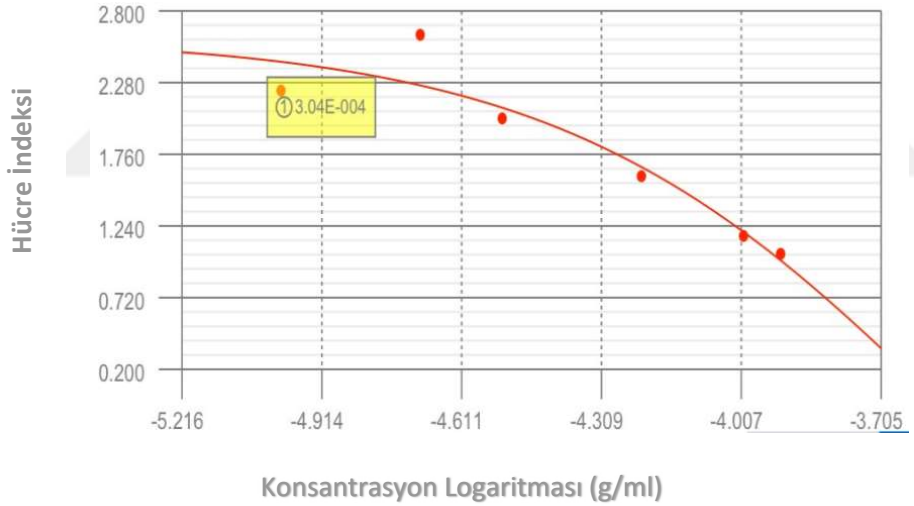
Şekil 5. 12. *C.iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=9.4356E-006g/ml; R^2=0.8802; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

5.2.3. *Centeurea iberica* Su Ekstraktının MCF-7 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Antiproliferatif Etkinliği

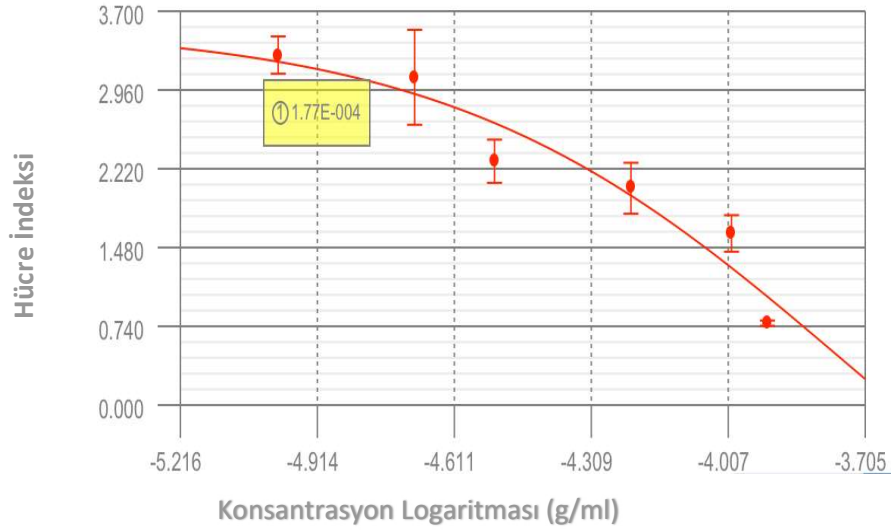
Centaurea iberica toprak altı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.13.'te gösterilmiştir. Şekil 5.14.'de 24 saatlik, Şekil 5.15.'te 48 saatlik doz cevap eğrileri verilmiştir. *C. iberica*'nın MCF-7 hücre serisi üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 ve 48 saat için sırasıyla 304 µg/ml ve 177 µg/ml olarak tespit edilmiştir.



Şekil 5. 13. *C.iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi



Şekil 5. 14. *C.iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=3.0405E-004g/ml; R^2=0.9025; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

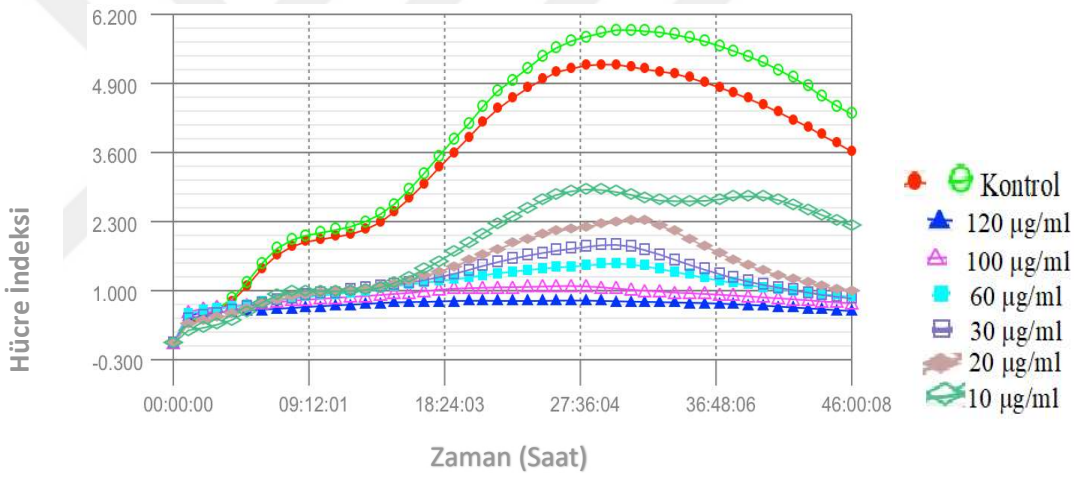


Şekil 5. 15. *C. iberica* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50}değeri (IC_{50}=1.7725E-004g/ml; R^2=0.9251; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

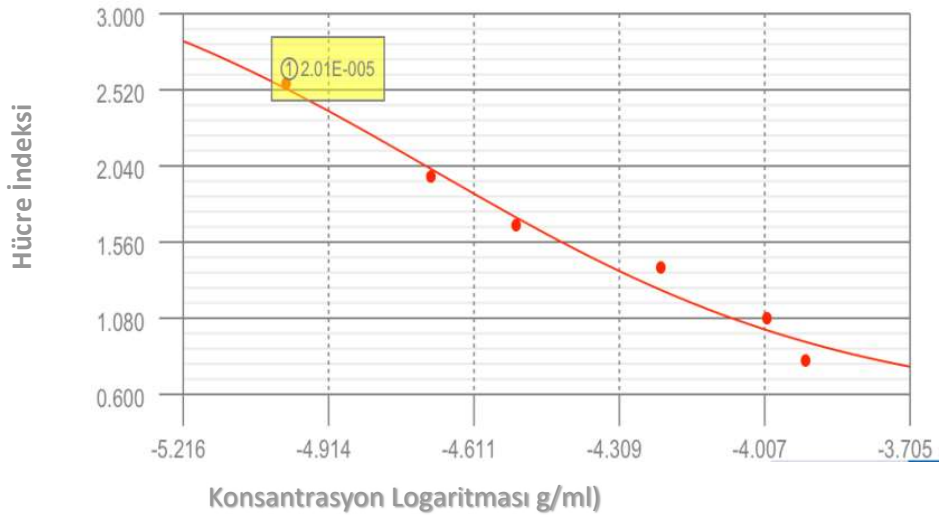
5.3.Centeurea soltitialis Antiproliferatif Etkinliği

5.3.1. *Centeurea soltitialis* Su Ekstraktının HeLa Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Etkinliği

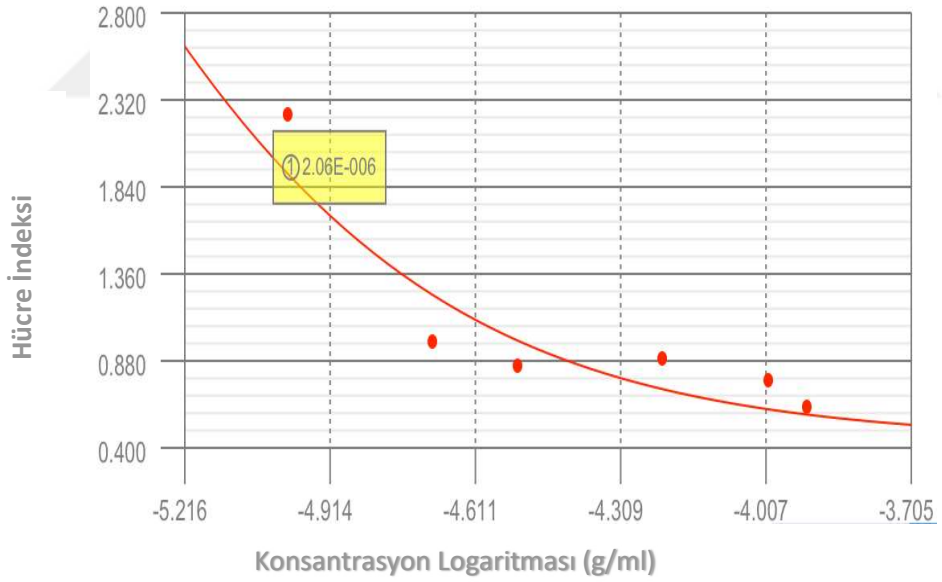
Centaurea solstitialis toprak altı su ekstraktının HeLa kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.16.'te gösterilmiştir. Şekil 5.17.'de 24 saatlik, Şekil 5.18.'te 48 saatlik doz cevap eğrileri verilmiştir. *C. solstitialis'* in HeLa hücre serisi üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 ve 48 saat için sırasıyla 20.13 µg/ml ve 2.056 µg/ml olarak tespit edilmiştir.



Şekil 5.16. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi



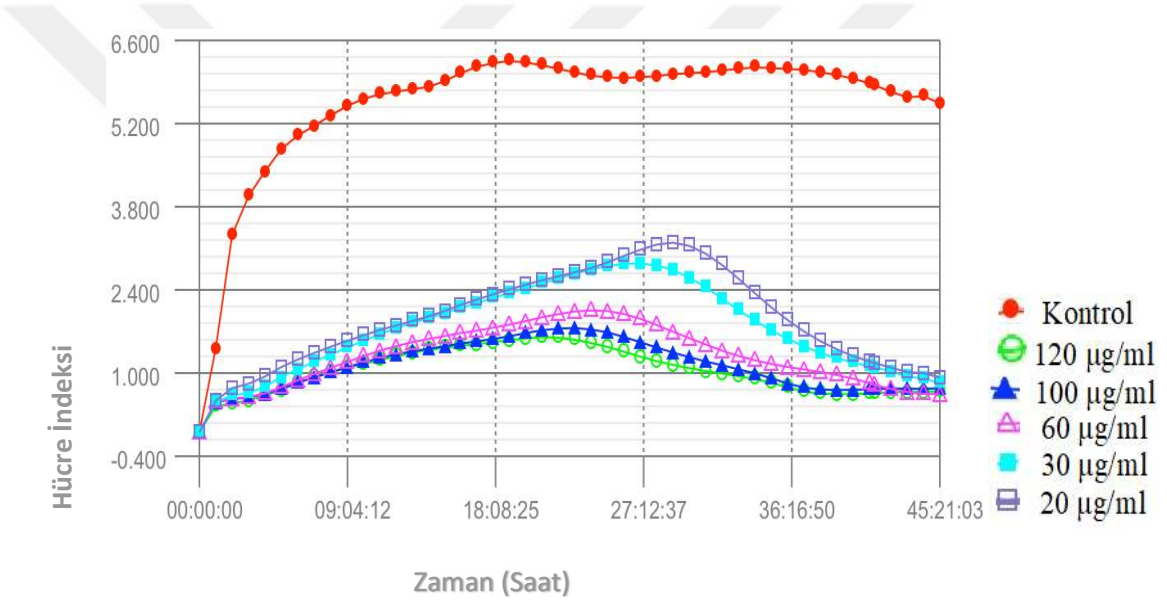
Şekil 5. 17. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=2.0138E-005g/ml; R^2=0.9785; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))



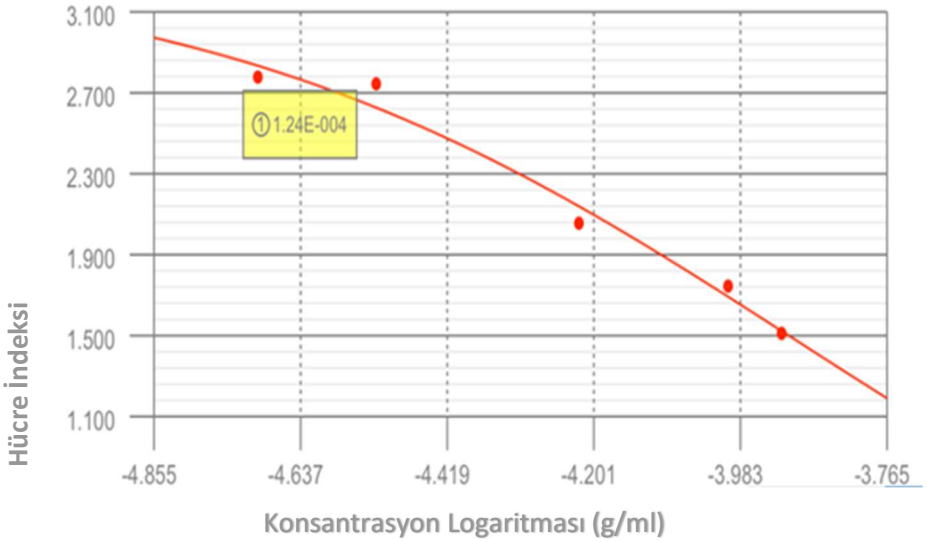
Şekil 5. 18. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HeLa kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=2.0569E-006g/ml; R^2=0.8616; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

5.3.2. *Centeurea soltitialis* Su Ekstratının HT-29 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Etkinliği

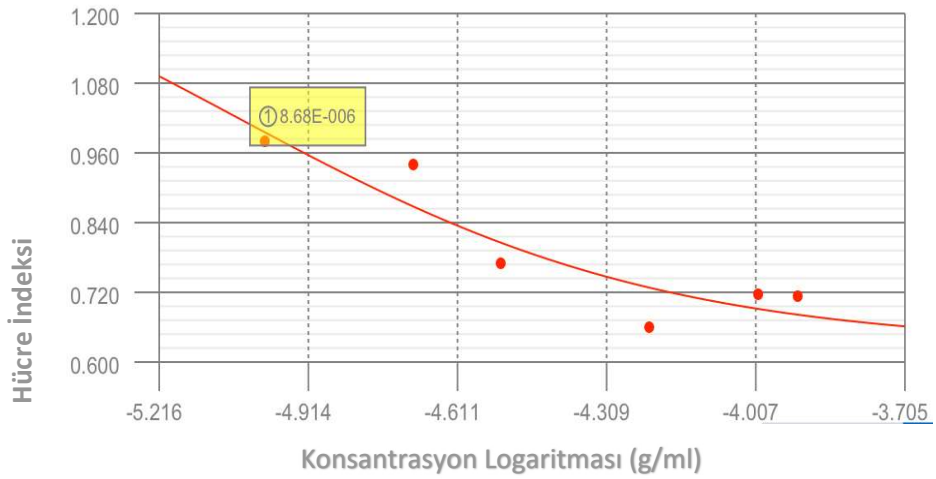
Centaurea solstitialis toprak altı su ekstraktının HT-29 kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.19.'te gösterilmiştir. Şekil 5.20.'de 24 saatlik, Şekil 5.21.'te 48 saatlik doz cevap eğrileri verilmiştir. *C.solstitialis*'in HT-29 hücre serisi üzerinde tespit edilen LC_{50} konsantrasyonu 24 ve 48 saat için sırasıyla 124 µg/ml ve 8.68 µg/ml olarak tespit edilmiştir. *C. solstitialis* kök ekstraktının 48 saatlik etkisi 24 saatlik antiproliferatif etkisinden daha fazla olduğu saptanmıştır.



Şekil 5.19. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi



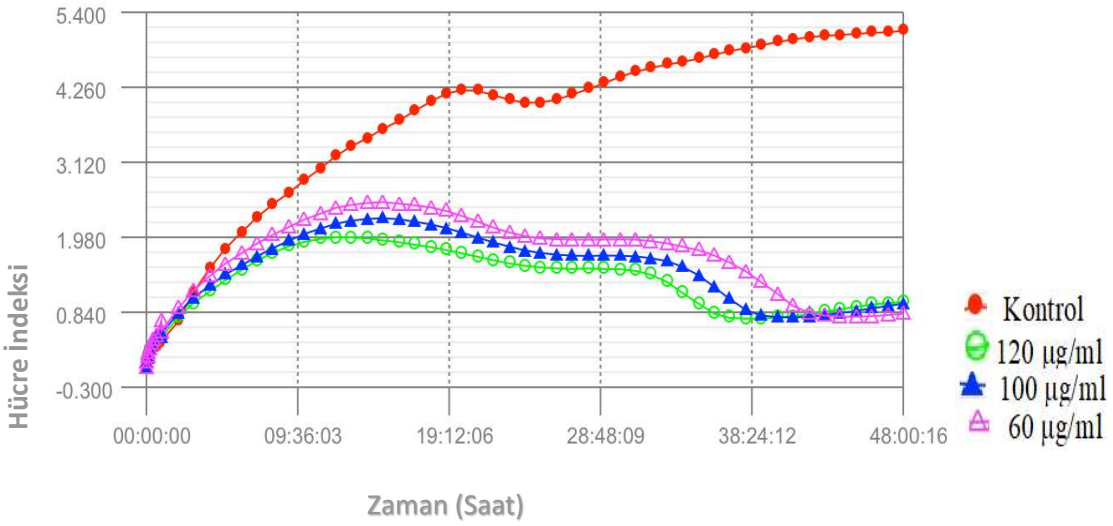
Şekil 5.20. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=1.2404E-004g/ml; R^2=0.9764; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))



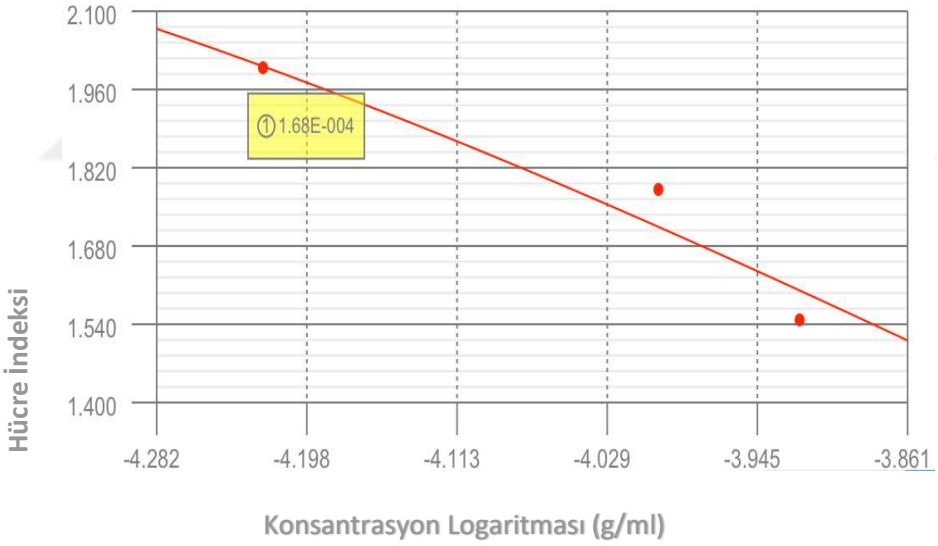
Şekil 5. 21. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının HT-29 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=8.6810E-006g/ml; R^2=0.8465; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

5.3.3. *Centeurea soltitialis* Su Ekstratının MCF-7 Kanser Hücre Serisi Üzerindeki Etkinliği

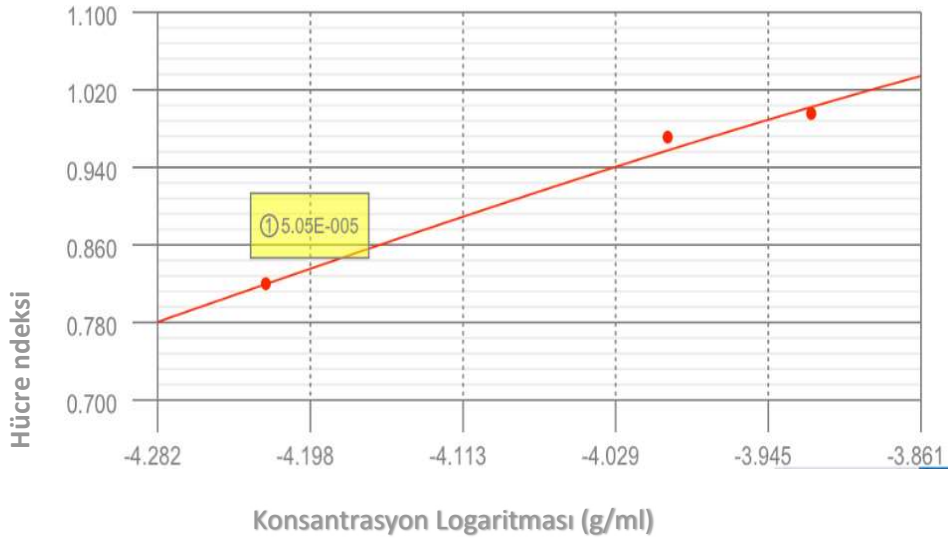
Centaurea solstitialis toprak altı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre serisi üzerinde antiproliferatif etkinliği, muameleden sonra 48 saatlik zamana bağlı hücre indeksi değerleri Şekil 5.22.'te gösterilmiştir. Şekil 5.23.'de 24 saatlik, Şekil 5.24.'te 48 saatlik doz cevap eğrileri verilmiştir. *C.solstitialis*'in MCF-7 hücre serisi üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 ve 48 saat için sırasıyla 168 µg/ml ve 50,47 µg/ml olarak tespit edilmiştir. *C. solstitialis* kök ekstraktının MCF-7 kanser hücre serisi üzerinde 48 saatlik etkisi 24 saatlik antiproliferatif etkisinden daha fazla olduğu saptanmıştır. 40-48 saat aralığında doku kültüründeki hücre serisinde gözlenen hafif bir artış Şekil 5.27.'de hücre indeksi grafiğinin yukarı eğimli olmasına neden olmaktadır.



Şekil 5.22. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 15. saatteki muamele sonrası 24 saat ve 48 saat boyunca gözlenen antiproliferatif etkisi



Şekil 5.23. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 24 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi ve IC_{50} değeri (IC_{50}=1.6839E-004g/ml; R^2=0.9291; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))



Şekil 5. 24. *C. solstitialis* toprak altı kısmı su ekstraktının MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde 48 saat sonra gözlenen antiproliferatif etkinin doz-cevap eğrisi (IC_{50}=5.0478E-005g/ml; R^2=0.9882; Y=Alt+(Üst-Alt)/(1+10^(Log IC50-X))

BÖLÜM 6

6. TARTIŞMA

Bitkilerin farklı kısımlarının, farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktları çok sayıda kanser hattı üzerinde test edilerek antiproliferatif etkinlikleri araştırılmaktadır. Kullanılan bitki kısmı ve farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlarının, farklı kanser hücre hatları üzerindeki etkinlikleri farklılık göstermektedir (Yağlıoğlu vd., 2014, Aslan, 2014; Tarançı, 2014). *Centaurea* türlerinin HeLa hücre hattı üzerinde yapılan çalışmada, *C.depressa* türünün su ekstraktının (500 µg/ml) HT-29 kolon kanser hücre hattı üzerindeki ölüm oranının %77, methanol ekstraktının HeLa hücre hattı üzerindeki ölüm oranının %77 olduğu, antiprolifeatif etkinliklerinin bulunduğu, bitkinin su ekstraktının HT-29 üzerinde methanol ekstraktına göre apoptotik etkisinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Tarançı, 2014). Türkiye'nin Asteraceae türlerini çalışan Uzun vd. 2017'de *Centaurea artugriliana'* nın HeLa üzerinde 48 saat IC_{50} değerinin 32.35 µg/ml olduğunu, MTT testi ile sitotoksik etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda *C. iberica* ve *C. solstitialis* sırasıyla 25.19 ve 20.13 µg/ml IC_{50} 24 saat değeri bulunmuşken, *C. Diffusa*'nın 2.8 µg/ml IC_{50} 24 saat değeri ile HeLa üzerinde en yüksek antiproliferatif etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. *C. diffusa'*nın 48 saat IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. İlk 24 saatte bölünme indeksi en düşük seviyeye inmiş, ikinci 24 saatte hücre indeksinin kontrol grubuna göre 10 kat daha düşük proliferative aktivitesinin olduğu saptanmış ve bunun süreklilik gösterdiği izlenmiştir. İkinci 24 saatte bir değişim olmadığından dolayı IC_{50} değerleri belirlenememektedir.

C. diffusa kök su ekstraktı HeLa hücre hattında hızlı etki göstererek, proliferasyonu ilk 24 saatte hızla düşürdüğü, sonraki 24 saatte bunun süreklilik gösterdiği

tespit edilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda *C .iberica* kök kısmı su ekstraktı HeLa hücre hattı üzerinde ilk 24 saatte etkili olduğu (IC_{50} 25.19 µg/ml) hızlı antiproliferatif etki gösterdiği belirlenmiş, 48 saatte IC_{50} değeri bölünmenin çok azalması ve bölünme indeksinin tüm dozlarda sabit kalması sebebi ile saptanamamıştır. *C. solstitialis* kök ekstraktı HeLa üzerinde tespit edilen IC_{50} konsantrasyonu 24 ve 48 saat için sırasıyla 20.13 µg/ml ve 2.056 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Oyardı 2015'te *C. iberica* sulu ekstresinin MTT testi ile HeLa üzerinde sitotoksik aktivite göstermediğini bildirmiştir. Çalışmalar arasındaki farklar kullanılan bitki kısımları ve metoda göre farklılık gösterebilmektedir. Nitekim Kayacan vd. 2018'de *C. nermaniae'*nin methanol ekstresinin HeLa hücre hattı üzerinde 48 saat IC_{50} değerinin 1.42 mg/ml olduğunu, Artun 2015'te *C. nerimaniae'*nin yaprak ve topraküstü kısımları methanol ekstraktlarının MTT testi ile HeLa ve Vero hücre hatları üzerinde antikanser etkisini tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda *C. solstitialis* kök kısmı su ekstresinin HeLa hücre hattı 24 saat IC_{50} değeri 20.13µg/ml olarak tespit edilmiştir. Alper & Güneş 2019'da *C. solstitialis'*in çiçekli kısımları etanol ekstraktının MTT testi ile HeLa üzerindeki toksisite değeri IC_{50} 63.18 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Kullanılan bitki kısmı, ekstraksiyon yöntemi ve metodlar farklı sonuçlar verebilmektedir. Nitekim Erenler vd. 2016 çalışmalarında, *C. solstitialis'*in kök, sap ve çiçek kısımlarının methanol ekstraktlarını elde etmişler, sap kısmı methanol ekstraktını C6 (Sıçan beyin tümörü hücre hattı), HeLa üzerinde çalışarak, HeLa'ya karşı sap ekstraktının, çiçek ve kök ekstraktlarından daha yüksek etki düzeyine sahip olduğu gözlemlemişlerdir. Bitkilerin farklı kısımlarının hücre hatları üzerinde etkinlikleri farklı olduğu gibi farklı çözücüler ile elde edilen ekstraktların etkinlikleri de farklı olmaktadır. *C.babylonica* dal ve yaprak su ekstraktı HeLa üzerinde %15 anti-tümör etkinliğe sahipken, aseton, kloroform, hekzan, etil-asetat, methanol, etanol ekstraktlarının %72-90 anti-tümör etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Güvensen vd., 2019).

Çalışmada *Centaurea* türlerinin HT-29 hücre hattı üzerinde 24 saat sürede en etkili kök su ekstraktının IC_{50} değeri 22.5µg/ml ile *C. diffusa*, 97.8 µg/ml ile *C. iberica* ve 124 µg/ml ile *C. solstitialis* olarak tespit edilmiştir. 48 saatlik veriler; hücre proliferasyonunu tamamen durdurduğundan dolayı *C. diffusa'*da tespit edilememiştir. 48 saat muamele IC_{50} değerleri *C. solstitialis* için 8.68µg/ml, *C. iberica* için 9.44 µg/ml

olarak tespit edilmiştir. *C. solstitialis'* in 48 saatte daha etkin olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda HT-29 hücre hattı üzerinde en etkili türlerin sırasıyla *C. diffusa, C. iberica, C. solstitialis* olarak belirlenmiştir. *Centaurea* türlerinin HT-29 kanser hücre hattı üzerinde antiproliferatif, sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde Tarançı 2014'te, *C. depressa* su ekstraktının HT-29 üzerinde etkili olduğu %77 hücre ölümüne neden olduğunu saptamışlardır. Barrero vd. 1997'de 5 *Centaure*a türünden elde edilen seskiterpen laktonun HT-29 hücre hattında %50 hücre ölümüne ve bölünmeyi durdurduğunu, sitotoksik etkili IC_{50} değerlerinin 10 ile 0.2 µg/ml arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da HT-29 için 48 saat antiproliferatif etkinliğin IC_{50} 8-10 µg/ml aralığında olduğu saptanmıştır. HT-29 hücre hattında yapılan diğer bir çalışmada *C. bruguierana'*nın petrol eter ekstresinin IC_{50} 506 µg/ml, kloroform ekstresinin 327 µg/ml değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Ostad vd., 2016).

Çalışmamızda MCF-7 üzerinde en etkili ekstraktların sırasıyla *C. diffusa* (24 saat IC_{50} 2.15 µg/ml, 48 saat IC_{50} 1.07 µg/ml) *C. solstitialis* (24 saat IC_{50} 168 µg/ml, 48 saat IC_{50} 1.07 µg/ml), *C. iberica* (24 saat IC_{50} 304 µg/ml, 48 saat IC_{50} 177 µg/ml) olarak tespit edilmiştir. *C. diffusa* MCF-7 üzerinde zamana bağlı antiproliferatif etki göstermiş, bölünme indeksinin zamana bağlı olarak düştüğü gözlenmiştir. *C. iberica, C. diffusa'*ya benzer şekilde zamana bağlı antiproliferatif etki göstermiştir. Forgo vd., 2012 yılında yaptıkları çalışmada *C. jacea L*. bitkisinin kloroform ekstraksiyonu ile elde edilen *Centaureidin*'in MCF-7 üzerindeki antiproliferatif etkisi çalışmamıza benzer şekilde düşük IC_{50} değeri 0.13 µM olarak saptanmıştır.

MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Moghaddam 2014'te *Centaurea virgate* methanol ekstraktlarının MCF-7 üzerinde XTT yöntemi ile sitotoksik etkisi olmadığını bildirmiş, Ghafari vd., 2015'te yaptıkları çalışmalarında *C. bruguierana* methanol ve kloroform ekstrelerinin MCF-7 üzerinde IC_{50} değerlerini 47.30 µg/ml ve 23.03 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. *Centaurea fenzlii* Reichardt'ın dichloromethane ekstraktı-etil asetat fraksiyonunun MCF-7 hücreleri üzerinde güçlü bir büyüme inhibitör etkisinin bulunduğu (45.771 µg/ml) bildirilmiştir (Yırtıcı vd., 2017). *C. babylonica* (L.)'in aseton, kloroform, hekza, etil asetat, metanol, etanol ekstraktlarının MCF-7 üzerinde %70-90 sitotoksik aktivite gösterdiği ve anlamlı antiproliferatif aktivitesinin bulunduğu, aseton ekstraktının MCF-7 üzerinde IC_{50} değeri

3-6 µg/ml aralığında bulunmuştur (Güvensen vd., 2019). Benzer şekilde Sen vd., 2017 çalışmalarında *C. kilaea* kloroform ekstraktından hazırlanan bileşiklerden Sistin'in MCF-7 hücrelerine karşı 3.25 µg/ml IC_{50} değeri ile yüksek antiproliferatif etkinliği bulunduğunu bildirmişlerdir. Csapi vd., 2010'da *C. arenaria* kloroform ekstraktından elde edilen flavanoid, lignanların bazılarının inaktif olup, apigenin, cnicin, arctigenin'in 1-7 µg/ml aralığında IC_{50} antiproliferatif etkinlikleri saptanmıştır.

Gerçek zamanlı hücre analiz sistemi (RTCA) son yıllarda sıkça kullanılan metodlardan biridir. Gerçek zamanlı hücre analizi (RTCA), empedans ve mikrosensör elektrotlarına dayalı bir tekniktir. RTCA sistemi, hücre yapışması, morfolojisi ve hücre çoğalma hızını, gerçek zamanlı ve sürekli olarak izlenmesine olanak sağlar. Sistem, başta toksikolojik çalışmalar, yeni ilaç taraması ve mikrobiyoloji olmak üzere geniş bir uygulama alanına sahiptir (Stefanowicz-Hajduk & Ochockan, 2020). Yeni antikanser bileşiklerinin test edilmesinde veya farklı hücresel reaksiyonları tetikleyen iyi bilinen ilaçların profillerinin karşılaştırılmasında kullanılan bir test sistemidir (Kustermann vd., 2013; Abassi vd.; 2009, Ke vd., 2010).

RTCA yöntemi bileşiklerin etkisini tahmin etmek için kullanılmakta olup, toksik etkinin ortaya çıkarılmasında, etkili konsantrasyonun belirlenmesi ayrıca zamana bağlı değişim ile toksisite değerlendirilmesi yapılmasında avantaj sağlamaktadır. Bitkisel kaynaklı antikanser araştırmalarında kullanılmakta, diğer testler için önverilerin oluşturulmasını sağlamaktadır. Çalışmamızda antikanserojen potansiyeli olabilecek *Centaurea* türlerinin iCelligence ile antiproliferatif etkinleri profillenmiştir. 48 saatlik hesaplanabilen değerlere bakıldığında, *C. iberica* kök ekstrakstının MCF-7 hücre hattı üzerinde IC_{50} değeri 177 µg/ml dışında, diğer ekstraktların hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkinlikleri IC_{50} değerleri 1-10 µg/ml arasında tespit edilmiştir. Çalışılan üç *Centaurea* türünden etkinliği en yüksek olan tür *Centaurea diffusa'*dır. Elde edilen veriler, daha ileriki çalışmalarda test edilecek konsantrasyon aralığının belirlenmesinde veri niteliği taşımaktadır. Bu çalışmada elde edilen antiproliferatif etkinliği yüksek olan bitki ekstaktları antikanser ilaç geliştirme çalışmalarında kullanılabilecek alternatif bitki ekstraktları arasında yer alabilecektir.

7. KAYNAKLAR

Abassi, Y. A., Xi, B., Zhang, W., Ye, P., Kirstein, S. L., Gaylord, M. R., Feinstein, S.C., Wang, X.,& Xu, X..(2009). .Kinetic cell-based morphological screening: prediction of mechanism of compound action and off-target effects.*Chemistry &Biology*,*16(7),*712-723.

Akçalı, A. (2010). Araştırmalarda Tanımlanmış Hücre Hatlarının Kullanılmasının Önemi. *Türk Onkoloji Dergisi*, *25(3),* 119 – 123.

Al-Easa, H. S., Kamel, A., Rızık, A. F., (1992) . Flavonoids from *Centaurea sinaica*, *Fitoterapia*, *66(3),* 468 – 469.

Ali, Y. E., Omar, A. A., Sarg, T.M., Slatkin, D.J., (1987). Chemical-Constituents of *Centaurea-Pallescens*. *Planta Medica, (5),* 503 – 504.

Alkofahi, A. S., Abdelaziz, A., Mahmoud, I., Abuirjie, M., Hunaiti, A., El-Oqla, A., (1990). Cytotoxicity, Mutagenicity and Antimicrobial Activity of Forty Jordanian Medicinal Plants. *International Journal of Crude Drug Research, 28(2),* 139 – 144.

Alper, M., Güneş, H., (2019). İnsan Kanser Hücre Hatları Üzerinde Centaurea solstitialis Özütünün AntiKanser ve Anti-İnflamatuar Etkileri. *Turkish Journal Of Pharmaceutical Sciences, 16(3),* 273 – 281.

Arıkan, S., (1992), Bazı Tohumlu Bitki Ekstrelerinin Çesitli Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri. *Kükem Dergisi*, *15(2),* 39 – 47.

Artun, F. T. (2015), Farklı Bitki Ekstrelerinin In Vitro Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Aslan, G., (2014). *Sphagnum capillifolium (Ehrh.) Hedw*. ve *S. Centrale CEO jensen* (bryophyta)'nın anti kanser aktivitesinin belirlenmesi . Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Astari, K. A., Baykan, Erel, Ş., Aydın, Köse, F., Köksal, Ç., Karaalp, C., (2014). Cytotoxic and Antibacterial Activities of *Centaurea cadmea Boiss*. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences,* 11(1), 101 – 106.

Bağcı, E., Dığrak, M., (1994). *Abies nordmanniana subsp. nordmanniana* ve *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 227 – 229, Edirne.

Bakr, R. O., Mohamed, S. A. E. H., Ayoub, N., (2016). Phenolic Profile of Growing in Egypt and Its Cytotoxic and Antiviral Activities, *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, *13(6),* 135 – 143

Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, P., Cabrera, E., Rodriguez-Garcia, I., Garcia-Moreno, M., 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., Pinto, M.M.M., (1994), Constituents of *Centaurea Ornata* Sp. *Ornata*. *Fitoterapia, 65(2),* 191.

Baytop, T. (1999), Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), Nobel Tıp Kitabevleri, Istanbul.

Bulut, F., Demirtas, İ., Koldas, S., Gul, F., Behcet, L., Ozen, T., Oke-Altuntas, F.,(2019). The cytotoxicity and antioxidant activity analysis of the isolated constituents and extracts from endemic *Centaurea derderiifolia. .Natural Product Reserarch* https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644507

Chucla, M.T., Lamela, M., Gato, A., Cadavid, I., (1988), Centaurea-Corcubionensis - a Study of Its Hypoglycemic Activity in Rats, *Planta Medica*, *(2),* 107 – 109.

Csapi, B., Hajdú, Z., Zupko, I., Berényi, Á., Forgo, P., Szabó, P. T., Hohmann, J., (2010). Bioactivity-guided isolation of antiproliferative compounds from *Centaurea arenaria*. *Phytotherapy Research*, Wiley, *24 (11),* 1664 – 1669.

Davis, P. H., Kit, TAN and R.R., Mill. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands.* (vol. 10. Supplement). Edinburgh, Edinburgh University Press,.

Demircan,G.&Mater, Y.,(2019). İki Farklı Meme Kanseri Hücre Hattında Floresan İşaretli Macckia Amurensis- lektin-1 ve Wheat Grem Aglutin 'in Hücre Yüzey Glikan Profillerindeki Farklı Etkileri,İstanbul Tıp Fakultesi Dergisi,DOİ: 10.26650/IUITFD.429263

Demirtaş, İ., Şahin, A., (2013). Bioactive Volatile Content of the Stem and Root of *Centaurea carduiformis* DC. subsp. *carduiformis* var.*carduiformis, Hindawi Publishing Corporation*. *Journal of Chemistry*, *(2013),* Article ID 125286

Dimayuga, R.E., Garcia, S.K. (1991). Antimicrobial Screening of Medicinal Plants from Baja California Sur, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 31(2): 181 – 192.

Erenler, R., Sen, O., Yaglioglu, A. S., Demirtas, I., (2016). Bioactivity-Guided Isolation of Antiproliferative Sesquiterpene Lactones from *Centaurea solstitialis L. ssp. Solstitialis. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, *19,* 66 – 72

Erol –Dayı, Ö., Pekmez, M., Bona, M., Aras-Perk, A., Arda, N. (2011). Total Phenolic Contents, Antioxidant Activities Cytotoxicity of Three *Centeurea Species : C calcitrapa* Subsp. *Calcitrapa , C. ptosimopappa C.Spicata*. *Free Rad. Antiox., 1(2),*31-36.

Forgo P., Zupkó I., Molnár J., Vasas A., Dombi G., Hohmann J. (2012). Bioactivity-guided isolation of antiproliferative compounds from *Centaurea jacea L.. Fitote*rapia, *83,* 921 – 925.

Ghafari, S., Naghibi, F., Esmaeili, S., Sahranavard, S., Mosaddegh, M. (2015). Investigating the cytotoxic effect of some medicinal plants from northern parts of Iran. *Research Journal of Pharmacognosy (RJP), 2,*47 – 51.

Güvensen, N. C., Keskin, D., Güneş, H., Oktay, M. K., Yıldırım, H., (2019). Antimicrobial property and antiproliferative activity of *Centaurea babylonica (L.) L.* on human carcinomas and cervical cancer cell lines. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *26(2),* 290 – 297.

Kalaycıoğlu, A., Öner, C. (1994). Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimutajenik Etkilerinin Amest- Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması. *Turkish Journal of Botany*, 18: 117 – 122.

Kaya, Y., Aksakal, O., (2005). Endemik Bitkilerin Dünya ve Türkiye'deki Dağılımı. *Erzincan Eğitim Fakültesi Dergisi*,*7(1),* 85 – 99.

Kayacan, N. S., Sener, L.T, Melikoğlu, G., Kültür, S., Albeniz, İ., Öztürk, M., (2018). Induction of apoptosis by *Centaurea nerimaniae* extract in HeLa and MDA-MB-231 cells by a caspase -3 pathway, *Biological & Histochemistry*, *93(5),* 311-319

Kayacan, N. S. ,(2015). Endemik *Centaurea Nerimaniae* Ekstresinin Kanser Hücre Soylarında Sitotoksik ve Apoptotik Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Kaynak: https://kocaelibitkileri.com/centaurea-diffusa/

Kaynak: http://www.vanherbaryum.yyu.edu.tr/flora/azortandir/centaureaib/index.htm)

Kaynak: https://kocaelibitkileri.com/centaurea-iberica/

Kaynak:https://kocaelibitkileri.com/centaurea-solstitialis/
http://ibuflora.ibu.edu.tr/tur/centaurea-solstitialis

Ke,N., Xi, B.,Ye, P., Xu, W., Zheng, M., Mao, L., Meng-Jou Wu, Zhu, J., Wu, J., Zhang, W., Zhang, J., Irelan, J., Wang, X., Xu, X., Abassi, Y.A., (2010). Screening and identification of small molecule compounds perturbing

mitosis using time-dependent cellular response profiles. *Analytical chemistry*, 1, *82(15),* 6495-503. doi: 10.1021/ac1007877.

Kustermann, S., Boess, F., Buness, A., Schmitz, M., Watzele, M., Weiser, T., Singer, T., Suter, L., Roth, A.,(2013). A label-free, impedance-based real time assay to identify drug-induced toxicities and differentiate cytostatic from cytotoxic effects. *Toxicol In Vitro,* pp. 1589-1595.

Moghaddam, N. S. (2014). Ankara'nın Etrafından Toplanan Bitkilerin Antioksidan ve Antikanser Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Moghaddam, N. S., Eryılmaz, M., Altanlar, N., Yıldırım, Ö.,(2019). Antimicrobial screening of some selected Turkish medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 947-951

Moyler, D. A., (1993). Extraction of Essential Oils with Carbon Dioxide. *Flavour and Fragrance J.*, *8,* 235 – 247.

Oyardı, Ö. (2015). Tıbbi Bitkilerde Biyoaktivitenin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Ostad, S.N. Rajabi, A., Khademi, R., Farjadmand, F., Eftekhari, M., Hadjiakhoondi, A., Khanavi, M. (2016). Cytotoxic potential of *Centaurea bruguierana ssp. belangerana*: The MTT assay. *Acta Med Iranica*, *54(9),* 583–589.

Özcan, K.,Acet, T., Çorbacı, C., (2016). *Centaurea hypoleuca DC*: Phenolic content, antimicrobial, antioxidant and enzyme inhibitory activities. *South African Journal of Botany*, 313-318 https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.020

Saraçlıgil, B., (2015). D Vitamininin MCF-7 Meme Kanseri Hücresi Metabolizması Üzerine Etkisi. Tıpta Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi.

Sen, A., Turan, S. O., Bitis, L. , (2017), Bioactivity-guided isolation of anti-proliferative compounds from endemic *Centaurea kilaea*. *Pharmaceutical Biology*, *55(1),* 541 – 546.

Sen, A.,Ozbas, T. S., Akbuga, J., Bitis, L., (2015). In vitro Antiproliferative Activity of Endemic *Centaurea kilaea Boiss*, against Human Tumor Cell Lines. *MÜSBED* ,5(3):149-153 DOI: 10.5455/musbed.20150602022750

Stefanowicz-Hajduk, J.,ve Ochockan, R.J.,(2020). "Real-time cell analysis system in cytotoxicity applications: Usefulness and comparison with tetrazolium salt assays." .*Toxicology reports, 7,* 335-344.

Tarançı, Ö., (2014), Bazı Bitki Ekstraktlarının Kanser Hücrelerinde Antioksidan, Antikanserojenik ve Apoptotik Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü

Truog, R. D., Kesselheim, A. S., Joffe , S., (2012). Paying Patients for Their Tissue: The Legance of Henrietta Laks. *Science*, *337,* 37-38.

Ugurlu, E., Seçmen, Ö., (2008),Medicinal plants popularly used in the villages of Yunt Mountsain(Manisa-Turkey), *Fitoterapia*, 126-131.

Uzunhisarcıklı, M. E., Teksen, M., Dogan, E., (2005). *Centaurea Marashica* (Asteraceae), a New Species from Turkey. *Annales Botanici Fennici*, *42(4),* 309 – 312.

Uzun, K., İkiz, P., Daşkın, R., Gürbüz, P., Yalçın, F. N. (2017). Cytotoxic Potentials of Some Asteraceae Plants from Turkey on HeLa Cell Line, 2. Uluslararası Kanser Önleme ve Terapi için Doğal Ürünler Konferansı, NPCPT (Natural Products for Cancer Prevention and Therapy) 8 – 11 Kasım 2017.

Ünsal, Ç. Z., Büken, N. Ö., (2018). Henrietta Lacks'ın Ölümsüzlüğü:Tıp Tarihinin gılgamış Destanı. *Türk yaşam Dergisi*, *3/2,* 248-254.

Wald , P. (2008). The Art of Medicine Cognitive Estrangement,Science Fiction and medical Ethics. *The Lancet*, 371/9628:1908-1909.

Wei, H.X., Gao, W.Y., Tian, Y.K., Guan, Y.K., Huang, M.H., D.L., C., (1997). New *Eudesmane Sesquiterpene* and *Thiophene Derivatives* from the Roots of Haponticum Uniflorum. *Pharmazie*, *52(3),* 245 – 247.

Yaglioglu, A. S., Demirtas, I., Goren, N., (2014). Bioactivity-guided isolation of antiproliferative compounds from *Centaurea carduiformis DC*. *Phytochemistry Letters*, *8,* 213 – 219.

Yılmaz, S., (2014). HT-29 Kanser Hücrelerinin Metastaz Takibi için Mikro Kanallarda Tespiti ve Sayılması. Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü.

Yırtıcı, Ü.,Göger, F., Sarımahmutoğlu, M., Ergene, A., (2017). Cytotoxic and apoptotic effects of endemic *Centaurea Fenzlii Reichardt* on the MCF-7 breast cancer cell line. *Turkish Journal of Biology, 41, 370-377*

Yırtıcı, Ü., (2012). Endemik *Centaurea Fenzlii Reichardt* Bitkisinin MCF-7 Meme Kanseri Hücre Dizileri Üzerine Sitotoksik, Apoptotik, Nekrotik Etkisi. Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü.

Zater, H., Huet, J., Fontaine, V., Benayache, S., Stevigny, C, Duez, P., Benayache, F. (2016). Chemical constituents, cytotoxic, antifungal and antimicrobial properties of *Centaurea diluta Ait. subsp. algeriensis* (Coss. & Dur.) Maire. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *9(6),* 554-561.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı	:	ÖZTÜRK, NAGEHAN
Uyruğu	:	T.C.
Doğum Tarihi	:	
Doğum Yeri	:	
Medeni Hali	:	
Cep Telefonu	:	
e-mail	:	

Eğitim Bilgileri

Derece	**Eğitim Birimi**	**Mezuniyet Tarihi**
Lisans	Maltepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakultesi (3,08 /4)	2014
Lise	Kazım Kaynak Lisesi	2001

Yabancı Dil

İngilizce

Başarı ve Ödüller

2013-2014 Maltepe Üniversitesi Güz Yarıyılı Yüksek Onur Öğrenciliği

2013-2014 Maltepe Ünivesitesi Bahar Yarıyılı Yüksek Onur Öğrenciliği