



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI APIACEAE BİTKİLERİNİN
SİTOTOKSİK ETKİLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

KEVSER TABAN AKÇA

FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI

ARALIK 2022



**TÜRKİYE’DE YETİŞEN BAZI APIACEAE BİTKİLERİNİN SİTOTOKSİK
ETKİLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Kevser TABAN AKÇA

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Kevser TABAN AKÇA

21/12/2022

TÜRKİYE’DE YETİŞEN BAZI APIACEAE BİTKİLERİNİN SİTOTOKSİK ETKİLERİ ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

(Doktora Tezi)

Kevser TABAN AKÇA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2022

ÖZET

Türkiye’de yetişen Apiaceae familyası bitkileri arasından, literatür tarama çalışmaları kapsamında sekonder metabolitleri yönünden sitotoksik etki gösterme potansiyeli bulunan taksonlar olarak belirlenen *Echinophora orientalis* Hedge & Lamond, *Lecokia cretica* (Lam.) DC., *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb., *Pimpinella isaurica* V.A.Matthews subsp. *isaurica*, *Smyrniium connatum* Boiss. & Kotschy ve *Torilis ucranica* Spreng.’in tüm bitki kısımlarından hazırlanan ekstrelerin sitotoksik etkileri, aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları doğrultusunda, akciğer (A549), meme (MCF-7), karaciğer (HepG2) ve serviks (HeLa) kanseri olmak üzere 4 farklı kanser ve 1 sağlıklı (Beas-2B) hücre hattı üzerinde araştırılmıştır. Hücre canlılığının belirlenmesinde boyama yöntemlerinden tripan mavisi yöntemi; sitotoksitenin belirlenmesinde ise kolorimetrik yöntemlerden MTT testi kullanılmıştır. Sitotoksik etkileri araştırılan bitkiler arasından, *L. cretica*, *O. hispidus* ve *P. isaurica* subsp. *isaurica*’nın ana ekstreleri ve bu ekstrelerden hareketle hazırlanan *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstreleri kanser hücre hatlarında güçlü sitotoksik etki göstermiştir. Etki potansiyelleri değerlendirilen alt ekstreler arasında, *O. hispidus*’un metanollü ekstresinin *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstrelerinin akciğer kanseri hücre hatlarındaki duyarlılıklarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmamız, bitkinin aktif *n*-hekzan ve diklorometan ekstrelerinin sitotoksik etkili sekonder metabolitlerinin izole edilmesi ve yapılarının aydınlatılması yönünde sürdürülmüştür. *O. hispidus*’un *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstreleri tekrarlayan kromatografik yöntemler kullanılarak fraksiyonlanmış ve elde edilen fraksiyonlar içinde sitotoksik etkisi en yüksek olan fraksiyonlardan, biri yeni olmak üzere toplam dört bileşik izole edilmiştir (2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3"-(γ,γ -dimetilallil)-4"hidroksi β -hidroksidihidrokalon, umbelliferon, umbelliferon 6-karboksilik asit, nodakenetin). Bileşiklerin yapıları spektroskopik teknikler ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, COSY, HSQC, HMBC) kullanılarak aydınlatılmış ve sitotoksik etkileri MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, izole edilen bileşikler üzerinde *in silico* analizler gerçekleştirilmiş ve söz konusu bileşikler diğer olası aktiviteler açısından bilgisayar tabanlı program kullanılarak incelenmiştir.

Bilim Kodu : 1017
Anahtar Kelimeler : Apiaceae, *Opopanax hispidus*, kanser, sitotoksik aktivite, MTT, kumarin, kalkon
Sayfa adedi : 152
Danışman : Prof. Dr. İpek SÜNTAR

PHARMACOGNOSTIC INVESTIGATIONS ON THE CYTOTOXIC EFFECTS OF SOME APIACEAE PLANTS GROWING IN TURKIYE

(Ph. D. Thesis)

Kevser TABAN AKÇA

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

December 2022

ABSTRACT

The cytotoxic activities of the Apiaceae family plants growing wild in Türkiye, namely *Echinophora orientalis* Hedge & Lamond, *Lecokia cretica* (Lam.) DC., *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb., *Pimpinella isaurica* V.A. Matthews subsp. *isaurica*, *Smyrniium connatum* Boiss. & Kotschy ve *Torilis ucranica* Spreng., were investigated by activity-guided fractionation assay procedures on 4 different cancers including lung (A549), breast (MCF-7), liver (HepG2), cervix (HeLa) and 1 healthy cell line (Beas-2B). The mentioned plants were selected according to the literature-based studies in terms of their cytotoxicity potential on the basis of their secondary metabolites. Trypan blue method, one of the staining methods for determining cell viability; MTT test, one of the colorimetric methods, were used to determine cytotoxicity. The main extracts of *L. cretica*, *O. hispidus* and *P. isaurica* subsp. *isaurica*, and *n*-hexane and dichloromethane sub-extracts prepared from their methanol extracts showed strong activity in cancer cells. Among the sub-extracts, it was determined that the sensitivity of the *n*-hexane and dichloromethane sub-extracts of *O. hispidus* was higher in lung cancer cells. Therefore, our study was carried on the isolation of the cytotoxic secondary metabolites of the active *n*-hexane and dichloromethane sub-extracts of the plant and the elucidation of their structures. *n*-Hexane and dichloromethane sub-extracts of *O. hispidus* were fractionated by using repetitive chromatographic methods. A total of four compounds were isolated, one of which was novel, from the most active fractions (2',6'-dihydroxy-4'-methoxy-3''-(α,α -dimethylallyl)-4''hydroxy β -hydroxydihydrochalcone, umbelliferone, umbelliferone 6-carboxylic acid, nodakenetin). The structures of the compounds were elucidated using spectroscopic techniques (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, COSY, HSQC, HMBC) and their activities were tested by the MTT assay. In addition, *in silico* analyzes were performed by a computer-based programme on the isolated compounds in terms of various activities.

Science Code : 1017

Key words : Apiaceae, *Opopanax hispidus*, cancer, cytotoxic activity, MTT, coumarin, chalcone

Page Number : 152

Supervisor : Prof. Dr. İpek SÜNTAR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, gerek akademik gerekse kişisel yaşamımdaki konularda ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İpek SÜNTAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışma materyallerinin toplanmasında ve tayininde destek olan Prof. Dr. Osman TUGAY ve Prof. Dr. Rıdvan POLAT hocalarıma teşekkür ederim.

Sitotoksik aktivite deneylerimde laboratuvarında çalışma imkânı sağlayan, desteğini ve ilgisini benden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Esra EMERCE'ye çok teşekkür ederim.

İzole edilen bileşiklerin spektroskopik analizlerinin yapılmasında ve yapı tayinlerinin gerçekleştirilmesinde önemli katkıları bulunan ve bilgilerinden istifade ettiğim kıymetli hocalarım Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ ve Doç. Dr. Şengül Dilem DOĞAN'a şükranlarımı sunuyorum.

Çalışmalarım süresince Farmakognozi Anabilim Dalı'nın imkanlarını kullanmamı sağlayan Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Esra AKKOL başta olmak üzere tüm öğretim üye ve yardımcılara teşekkür ederim.

Uzun ve zorlu bu süreçte manevi desteğini ve yardımlarını her zaman hissettiğim değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Ecz. Mehtap KILIÇ, Dr. Öğr. Üyesi Mert İLHAN ve Dr. Öğr. Üyesi Hasya Nazlı GÖK'e çok teşekkür ederim. Lisans döneminde tanıştığım, eczacılık mesleğine birlikte adım attığım ve pek çok anı paylaştığım biricik arkadaşlarım Ecz. Canan TAYGAR ve Ecz. Merve TAŞ başta olmak üzere burada ismini tek tek sayamadığım yaşamıma anlam katan ve hayatıma dokunan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tüm kararlarımda destek ve ilgilerini daima hissettiğim sevgili aileme, üzerimdeki emekleri için sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Bu süreçte yaşadığım tüm duyguların ve zorlukların en yakın şahidi olan, tezimle birlikte büyüttüğüm kızım Defne'ye, varlığı ve yaşamıma kattığı güzellikler için sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (02/2020-09) ve Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı'na teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Botanik Bilgiler.....	3
2.1.1. Apiaceae familyası.....	3
2.1.2. <i>Opopanax</i> W.D.J.Koch cinsi	4
2.2. <i>Opopanax</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	9
2.2.1. Halk arasında ve geleneksel tedavide kullanılış	9
2.2.2. Fitokimyasal çalışmalar	13
2.2.3. Aktivite çalışmaları.....	20
2.3. Kanser	26
2.4. Sitotoksikite ve Kanser.....	28
2.4.1. Doğal kaynaklı bileşiklerin sitotoksik etkileri	29
2.4.2. Sitotoksik aktivite yöntemleri	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Gereç	37
3.1.1. Bitki materyalleri	37
3.1.2. Kullanılan cihazlar	40

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve sarf malzemeler	40
3.2. Yöntem.....	42
3.2.1. Fitokimyasal çalışmalar	42
3.2.2. Yapı tayini çalışmaları	59
3.2.3. Aktivite çalışmaları.....	59
4. BULGULAR	67
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular.....	67
4.1.1. İzole edilen bileşiklerin yapı tayinlerine ait bulgular.....	67
4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	88
4.2.1. Ön aktivite bulguları	88
4.2.2. <i>L. cretica</i> , <i>O. hispidus</i> ve <i>P. isaurica</i> 'nın ana ekstrelerinin sitotoksik aktivite bulguları	90
4.2.3. <i>L. cretica</i> , <i>O. hispidus</i> ve <i>P. isaurica</i> 'nın metanollü ekstrelerinden elde edilen alt ekstrelerin sitotoksik aktivite bulguları	93
4.2.4. <i>O. hispidus</i> 'un alt ekstrelerinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktivite bulguları	99
4.2.5. <i>O. hispidus</i> 'un aktif fraksiyonlarından izole edilen bileşiklerin sitotoksik aktivite bulguları.....	102
4.3. <i>In silico</i> Analiz Bulguları.....	105
5. TARTIŞMA.....	109
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	127
KAYNAKLAR	129
ÖZGEÇMİŞ	149

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. <i>O. hispidus</i> 'un ülkemizdeki yayılışı	6
Çizelge 2.2. <i>Opopanax</i> türlerinin halk arasında ve geleneksel tedavi sistemlerinde kullanılışı	12
Çizelge 2.3. <i>Opopanax</i> türlerinden izole edilen kumarinler	16
Çizelge 2.4. <i>Opopanax</i> türlerinden izole edilen ftalitler	17
Çizelge 2.5. <i>Opopanax</i> türlerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi	20
Çizelge 2.6. <i>Opopanax</i> türleri üzerinde gerçekleştirilen aktivite çalışmaları	25
Çizelge 2.7. Başlıca bitkisel kemoterapötik ilaçlar	30
Çizelge 3.1. Çalışılan bitkilerin lokalite, tarih, teşhis eden araştırmacı ve herbaryum numarası bilgileri	37
Çizelge 3.2. Çalışmalarda kullanılan cihazlar	40
Çizelge 3.3. Çalışmalarda kullanılan kimyasal madde ve çözücüler	41
Çizelge 3.4. Bitkilerden hazırlanan metanollü ekstrelerin miktarları (g) ve verimleri (%)	42
Çizelge 3.5. Silika jel kolon kromatografisinde kullanılan mobil faz sistemi	52
Çizelge 3.6. Ters faz orta basınçlı sıvı kromatografisi şartları	52
Çizelge 4.1. Umbelliferon 6-karboksilik asit (1) bileşiğinin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektroskopik değerleri	68
Çizelge 4.2. Umbelliferon (2) bileşiğinin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektroskopik değerleri	72
Çizelge 4.3. 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3"-(α,α -dimetilallil)-4"hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (3) bileşiğinin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektroskopik değerleri	77
Çizelge 4.4. Nodakenetin (4) bileşiğinin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektroskopik değerleri	85
Çizelge 4.5. Apiaceae familyasına ait türlerin 100 μ g/mL konsantrasyondaki % hücre canlılık değerleri	88
Çizelge 4.6. <i>L. cretica</i> , <i>O. hispidus</i> ve <i>P. isaurica</i> 'nın metanollü ekstrelerinin ve doksorubisinin sitotoksik aktivite bulguları	90

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.7. <i>L. cretica</i> , <i>O. hispidus</i> ve <i>P. isaurica</i> 'nın metanollü ekstralarının ve doksorubisinin test edilen kanser hücre hatlarına karşı seçicilik indeksleri	90
Çizelge 4.8. <i>L. cretica</i> 'nın alt ekstralarının sitotoksik aktivite bulguları.....	94
Çizelge 4.9. <i>L. cretica</i> 'nın alt ekstralarının ve doksorubisinin A549 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı seçicilik indeksleri	94
Çizelge 4.10. <i>O. hispidus</i> 'un alt ekstralarının sitotoksik aktivite bulguları.....	96
Çizelge 4.11. <i>O. hispidus</i> 'un alt ekstralarının ve doksorubisinin A549 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı seçicilik indeksleri.....	96
Çizelge 4.12. <i>P. isaurica</i> subsp. <i>isaurica</i> 'nın alt ekstralarının sitotoksik aktivite bulguları.....	98
Çizelge 4.13. <i>P. isaurica</i> subsp. <i>isaurica</i> 'nın alt ekstralarının ve doksorubisinin A549 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı seçicilik indeksleri	98
Çizelge 4.14. <i>O. hispidus</i> 'un <i>n</i> -hekzan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktiviteleri ve seçicilik indeksleri.....	100
Çizelge 4.15. <i>O. hispidus</i> 'un diklorometan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktiviteleri ve seçicilik indeksleri.....	101
Çizelge 4.16. <i>O. hispidus</i> 'un aktif fraksiyonlarından izole edilen bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri ve seçicilik indeksleri.....	103
Çizelge 4.17. <i>O. hispidus</i> 'tan izole edilen bileşikler için <i>in silico</i> aktivite tayin bulguları.....	106
Çizelge 5.1. Önceki çalışmalarda umbelliferon bileşiğinin izole edildiği bitkiler	117
Çizelge 5.2. Önceki çalışmalarda umbelliferon 6-karboksilik asit bileşiğinin izole edildiği bitkiler	119
Çizelge 5.3. Önceki çalışmalarda nodakenetin bileşiğinin izole edildiği bitkiler.....	120

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>O. hispidus</i> 'un Türkiye'deki yayılışı	9
Şekil 2.2. <i>Opopanax</i> türlerinden izole edilen kumarinler	15
Şekil 2.3. <i>Opopanax</i> türlerinden izole edilen ftalitler	17
Şekil 2.4. <i>Opopanax</i> türlerinden elde edilen uçucu yağların bileşimi	19
Şekil 2.5. 2020 yılındaki yeni kanser vakaları ve mortalite verileri; her iki cinsiyet, tüm yaşlar, dünya geneli	27
Şekil 2.6. Antikanser ilaçların sınıflandırılmaları	28
Şekil 2.7. Klinikte kullanılan bitkisel kaynaklı antikanser bileşikler	32
Şekil 2.8. <i>In vitro</i> sitotoksite testleri	34
Şekil 3.1. Çalışma materyallerinin toplandığı lokaliteler	38
Şekil 3.2. <i>L. cretica</i> 'nın alt ekstrelerinin hazırlanması	45
Şekil 3.3. <i>O. hispidus</i> 'un alt ekstrelerinin hazırlanması	47
Şekil 3.4. <i>P. isaurica</i> subsp. <i>isaurica</i> 'nın alt ekstrelerinin hazırlanması	49
Şekil 3.5. <i>O. hispidus</i> 'un <i>n</i> -hekzan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	55
Şekil 3.6. <i>O. hispidus</i> 'un diklorometan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	58
Şekil 3.7. MTT testi	64
Şekil 4.1. Umbelliferon 6-karboksilik asit (1) bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu	69
Şekil 4.2. Umbelliferon 6-karboksilik asit (1) bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu	70
Şekil 4.3. Umbelliferon (2) bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu	73
Şekil 4.4. Umbelliferon (2) bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu	74
Şekil 4.5. 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (3) bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu	78
Şekil 4.6. 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (3) bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu	79
Şekil 4.7. 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (3) bileşiğine ait HMQC spektrumu	80

Şekil	Sayfa
Şekil 4.8. 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkan (3) bileşiğine ait COSY spektrumu.....	81
Şekil 4.9. 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkan (3) bileşiğine ait HMBC spektrumu	82
Şekil 4.10. 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidi hidro kalkan (3) bileşiğinin ^1H - ^1H COSY ve HMBC korelasyonu.....	83
Şekil 4.11. 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidi hidro kalkan (3) bileşiğinin ESI-MS spektrumu	83
Şekil 4.12. Nodakenetin (4) bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu	86
Şekil 4.13. Nodakenetin (4) bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu	87
Şekil 4.14. Apiaceae familyasına ait seçilen türlerin metanollü ekstrelerinin 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki % hücre canlılık değerleri	89
Şekil 4.15. <i>L. cretica</i> 'nın metanollü ekstresi ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH)	91
Şekil 4.16. <i>O. hispidus</i> 'un metanollü ekstresi ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH)	92
Şekil 4.17. <i>P. isaurica</i> 'nın metanollü ekstresi ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH)	93
Şekil 4.18. <i>L. cretica</i> 'nın alt ekstrelerinin ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH)	95
Şekil 4.19. <i>O. hispidus</i> 'un alt ekstrelerinin ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH)	97
Şekil 4.20. <i>P. isaurica</i> subsp. <i>isaurica</i> 'nın alt ekstrelerinin ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH).....	99
Şekil 4.21. <i>O. hispidus</i> 'un <i>n</i> -hekzan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH)	100
Şekil 4.22. <i>O. hispidus</i> 'un diklorometan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH).....	102
Şekil 4.23. <i>O. hispidus</i> 'un aktif fraksiyonlarından izole edilen bileşiklerin ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH).....	104

Şekil	Sayfa
Şekil 5.1. <i>O. hispidus</i> 'tan izole edilen bileşikler	116
Şekil 5.2. Kalkon yapısı	123

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Opopanax hispidus</i> (Friv.) Griseb	5
Resim 3.1. Bitki materyalleri	39
Resim 3.2. Laminar akımlı kabin.....	60
Resim 3.3. İnkübatörde kültüre edilen hücreler	60
Resim 3.4. Hücrelerinin faz kontrast mikroskop görüntüleri	61
Resim 3.5. Neubauer lamı.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
dk	Dakika
g	Gram
Hz	Hertz
<i>J</i>	Etkileşim sabiti
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir birim
U	Ünite
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Sigma
μ L	Mikrolitre
μ M	Mikromolar

Kısaltmalar	Açıklamalar
A549	İnsan Akciğer Epitel Adenokarsinoma hücre hattı
ABTS	2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
AChE	Acetylcholinesterase (Asetilkolinesteraz)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

BACE₁	Beta secretase 1 (Beta sekretaz 1)
BChE	Butyrylcholinesterase (Bütirilkolinesteraz)
Beas-2B	İnsan Bronşiyal Epitel hücre hattı
¹H-NMR	Proton NMR
ANK	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
ATCC	American Type Culture Correlation
CD₃OD	Dötero metanol
CHCl₃	Kloroform
COSY	Correlation Spectroscopy (Korelasyon Spektroskopisi)
<i>d</i>	Dublet
CUPRAC	Cupric Reducing Antioxidant Capacity (Bakır İndirgeme Antioksidan Gücü)
DCM	Diklorometan
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMSO-<i>d</i>₆	Dötero Dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
Dox	Doksorubisin
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EO	<i>Echinophora orientalis</i> Hedge & Lamond
EtOAc	Etil asetat
FBS	Fetal Bovine Serum
FDA	Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
FRAP	Ferric Ion Reducing Antioxidant Power (Demir İndirgeme Antioksidan Gücü)
Fr.	Fraksiyon
GAEs	Gallik asit eşdeğeri
GALAEs	Galantamin eşdeğeri
GAZI	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu

Kısaltmalar	Açıklamalar
GC-FID	Gas Chromatography- Flame Ionization Detector (Gaz Kromatografisi- Alev İyonlaştırma Detektörü)
GC-MS	Gas Chromatography - Mass Spectrometry (Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometrisi)
HeLa	İnsan Serviks Epitel Adenokarsinoma hücre hattı
HepG2	İnsan Karaciğer Karsinoma hücre hattı
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation (Heteronükleer Çoklu Bağ Korelasyonu)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence (Heteronükleer Tekli Kuantum Uyumu)
HUB	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
IC₅₀	%50 İnhibisyon gösteren doz
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KK	Kolon Kromatografisi
LC	<i>Lecokia cretica</i> (Lam.) DC.
m	Multiplet
MCF-7	İnsan Meme Adenokarsinoma hücre hattı
MeOH	Metanol
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolyum bromür
n-BuOH	<i>n</i> -Butanol
NCI	National Cancer Institute (Ulusal Kansere Enstitüsü)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Nükleer Manyetik Rezonans)
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
OH	<i>Opopanax hispidus</i> (Friv.) Griseb.
Pİ	<i>Pimpinella isaurica</i> V.A.Matthews subsp. <i>isaurica</i>
Prep. İTK	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Kısaltmalar**Açıklamalar**

PTP₁B	Protein Tyrosine Phosphatase 1B (Protein- Tirozin Fosfataz 1B)
Qu	Quercetin (Kersetin)
RP	Ters Faz (Reverse Phase)
s	Singlet
SC	<i>Smyrnum connatum</i> Boiss. & Kotschy
SH	Standart Hata
subsp.	Alt tür
s-Hex	Siklohekzan
t	Triplet
TEs	Troloks eşdeğeri
TU	<i>Torilis ucranica</i> Spreng.
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Sitotoksik etkiye sahip bileşikler, kanser tedavisinde potansiyel bileşikler olarak değerlendirilmektedir. Kanser, kontrol edilemeyen hücre büyümesi olarak tanımlanan, anormal sinyal süreçleriyle tanınan, yaşamı tehdit eden ve toplum genelinde görülme sıklığı artan hastalıklardan biridir. Kanser tedavisinde yeni stratejilerin ve yeni bileşiklerin keşfedilmesine olan ihtiyaç önemini korumaktadır. Sitotoksik etki potansiyeline sahip bileşikler üzerinde yapılan araştırmalar doğrultusunda, özellikle spesifik-seçici antikanser etkili ilaç adaylarının geliştirilmesi ile mevcut tedavi protokollerine bağlı ilaç direncinin önlenmesi, yan etkilerin azaltılması ve etkinliğin artırılması beklenmektedir (Lombardi, Carrera ve Cacabelos, 2017).

Doğal bileşikler, ilaç keşfi ve geliştirmesi çalışmalarında en önemli kaynaklardır. Kanser tedavisinde kullanılan mevcut ilaçların yaklaşık %50'si doğal kaynaklardan izole edilen bileşikler ve bu bileşiklerden yarı sentez yoluyla geliştirilen türevlerdir (Newman ve Cragg, 2012). Vinkristin, vinblastin, podofilotoksin, etopozit, tenipozit, paklitaksel, dosetaksel, topotekan ve irinotekan günümüzde klinik kullanımı olan bitkisel kaynaklı antikanser bileşiklere verilebilecek örneklerdendir (Zishan ve diğerleri, 2017).

Ekonomik ve tıbbi değeri yüksek çok sayıda taksonu barındıran Apiaceae familyası dünya genelinde yaklaşık 450 cins ve 3500'den fazla türle temsil edilmektedir (Sayed-Ahmad, Talou, Saad, Hijazi ve Merah, 2017). Bugüne kadar *Ferula* L., *Smyrnum* L., *Prangos* Lindl., *Ferulago* W. Koch, *Pimpinella* L., *Heracleum* L., *Angelica* L., *Eryngium* L. ve *Peucedanum* L. cinslerine ait türler başta olmak üzere pek çok Apiaceae bitkisi sitotoksik ve antikanser etkileri yönünden araştırılmıştır ve etkiden sorumlu bileşiklerin başlıca flavonoidler, terpenoidler ve kumarinler olduğu tespit edilmiştir (Acharya, Chacko, Bose, Lapenna ve Pattanayak, 2019; Acimović, Rat, Tešević ve Dojčinović, 2018; Ahmed ve diğerleri, 2020; Iranshahi, Rezaee, Najafi, Haghbin ve Kasaian, 2018; Jun ve diğerleri, 2014; Küpeli Akkol, Genç, Karpuz, Sobarzo-Sánchez ve Capasso, 2020; Shahzadi, Ali, Baek, Mirza ve Ahn, 2020; Uşjak ve diğerleri, 2016; Zengin ve diğerleri, 2020). Söz konusu literatür bilgilerine göre, Apiaceae familyası bitkilerinin, antikanser araştırmaları bakımından potansiyel kaynaklar olabileceği öngörülmüştür. Dolayısıyla, bu tez çalışmasında, içerdiği sekonder metabolitler bakımından potansiyel sitotoksik etki

gösterebilecek ve üzerinde detaylı fitokimya ve sitotoksosite çalışmaları bulunmayan Apiaceae familyası bitkileri arasından seçilen 6 farklı cinse ait 6 taksonun (*Echinophora orientalis* Hedge & Lamond, *Lecokia cretica* (Lam.) DC., *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb., *Pimpinella isaurica* V.A.Matthews subsp. *isaurica*, *Smyrniium connatum* Boiss. & Kotschy ve *Torilis ucranica* Spreng.) sitotoksik etkilerinin araştırılması ve en etkili olduğu tespit edilen bitki ekstresinin etkiden sorumlu sekonder metabolitlerinin belirlenmesi, izolasyonu ve yapılarının tayin edilmesi amaçlanmıştır. Tüm bitki kısımlarından hazırlanan metanollü ekstratlar üzerinde çeşitli hücre hatlarında (A549, HeLa, HepG2, MCF-7 ve Beas-2B) 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen sitotoksosite tarama çalışmaları neticesinde, ileri çalışmalar aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları doğrultusunda, akciğer kanseri hücre hattına karşı güçlü sitotoksik aktivite gösteren *O. hispidus* bitkisi üzerinde yürütülmüştür. Bu çalışmada, sitotoksik etkili doğal kaynaklı bileşiklerin bilimsel literatüre kazandırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Apiaceae familyası

Spermatophyta bölümünün Angiospermae alt bölümü, Dicotyledonae sınıfı, Apiales takımında yer alan Apiaceae familyası dünyada yaklaşık 450 cins ve 3500'den fazla türle temsil edilmektedir (Sayed-Ahmad ve diğerleri, 2017). Ülkemizde ise, Apiaceae familyasının yaklaşık 100 cinsine ait 480'den fazla türü yetişmektedir (Güner, Aslan, Ekim, Vural ve Babaç, 2012).

Apiaceae bitkileri dünya geneline yayılmıştır. Gıda ve baharat olarak kullanılmaları (*Apium graveolens* L. “kereviz”, *Anethum graveolens* L. “dereotu”, *Carum carvi* L. “kimyon”, *Pimpinella anisum* L. “anason”, *Foeniculum vulgare* Mill. “rezene”, *Daucus carota* L. “havuç”, *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss “maydanoz”) ve süs bitkisi olarak yetiştirilmeleri familyanın ekonomik değerini arttırmaktadır. Apiaceae familyası, geleneksel tedavide yaygın kullanımı bulunan ve üzerinde çok sayıda çalışmanın yapıldığı tıbbi bitkileri ihtiva etmektedir ve ülkemizdeki sekizinci büyük familyadır (Akalin, Özhatay, Özhatay ve Serpil, 2011).

Apiaceae bitkileri genel olarak, otsu bitkiler olmaları; yaprakların kınlı, çiçeklenme durumunun genellikle involukrumlu bileşik umbella; çiçeklerin aktinomorf simetricali, 2 karpelli ve 2 gözlü; ovaryumun alt durumlu ve meyvenin merikarplardan oluşan şizokarp olmalarıyla ayırt edilir.

Familyada bulunan bitkiler çoğunlukla tek veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Daha az sıklıkla çalı veya ağaçlardır. Yapraklar genellikle pinnat, ternat, yatık, sarmal dizilişli, az veya çok parçalı; petiyoller genelde tabanda genişlemiş ve kın şeklindedir. Çiçeklenme durumu genellikle involukral braktelerle çevrilmiş bileşik umbella, nadiren basit umbella, kapitulum veya simozdur. Çiçekler küçük, hermafrodit, aktinomorf ve epigindir. Periant, iki sıralı ve diklamit ya da kaliksin dökülmesi ile tek serilidir. Kaliks, aposepal 5 loblu, indirgenmiş veya yoktur. Korolla, apopetal ve 5 petallidir. Petaller beyaz, sarı, sarı-yeşil,

pembe veya açık mavi renklidir. Bazen uçlarda kavisli olarak geriye dönmüş veya ikiye çatallanmış, hepsi eşit boyda veya dıştakiler içtekilerden geniştir. Stamenler 5 adet, dairesel ve apostamendir. Ginekeum sinkarp, ovaryum alt durumlu, 2 karpelli ve 2 gözlü; genellikle ovaryumun ucu stilopodyumludur. Meyve, bölmeleri üzerindeki karpoforlar tarafından birbirine bağlanmış merikarpların oluşturduğu şizokarptır. Merikarplar geniş veya dar kanatlı, tüylü, pullu veya tüysüz olabilmektedir. Bu meyveler olgunlukta açılmayan kuru, yassı yuvarlak veya yandan basık şekildedir. Karpeller genellikle bitişik gelişir, olgunlaşınca ayrılırlar. Her merikarpta 5 kosta ve 4 valekulum bulunmaktadır. Mezokarpta valekulumların hizasında ve merikarpların birbirine bakan yüzlerinde salgı kanalları vardır. Tohumlar endospermali, endosperma yağlıdır (Davis, 1972; Güner ve diğerleri, 2012; Simpson, 2019; Tanker, Koyuncu ve Coşkun, 1998).

2.1.2. *Opopanax* W.D.J.Koch cinsi

Gövde sert ve dik, çok yıllık; rizom kalın, fibröz kollar bulunur. Bazal yapraklar bipinnat; en uç segmentler oblong-lanseolat, parçalanmamış; lamina derimsi, yaprak alt yüzü yıldızsı veya gloşit tüylü veya tüysüz; petiyoller çiçek durumuna benzer karakteristik beyaz renkli, kabarık tüylü. Üst gövde yaprakları küçük. Umbellaların tamamı fertil, terminal ya da lateral 5-15 ışınlı. Brakteler 2-5, linear. Sepal yok. Petaller sarı. Meyve güçlü sırttan basık, tüysüz; merikarplar eliptik; dorsal çıkıntılar ipliksi, belirgin yan kenarlı; kostalar arasındaki salgı kanalları (1)-2-3; merikarpların karşılıklı iç yüzlerindeki salgı kanalları 6-8.

“Flora of Turkey and the East Eagean Islands” adlı eserde *Opopanax* cinsine ait 3 tür bulunmaktadır ve bu türlerin teşhis anahtarı aşağıdaki gibidir:

1. Yaprak ayasının alt yüzü yıldızsı tüylü; merikarplar eliptik
 2. Merikarplar 5-7 mm uzunluğunda; yan kanatlar 1 mm genişliğinde kalınlaşmış; umbellalar 9-25 ışınlı **1. chironium**
 2. Merikarplar 7-9 mm uzunluğunda; yan kanatlar 2-3 mm genişliğinde, ince; umbellalar 5-15 ışınlı **2. hispidus**
1. Yaprak ayasının alt yüzü tüysüz; merikarplar dar eliptik **3. persicus**

Monotipik endemik bir tür olan *Crenosciadium siifolium* Boiss. & Heldr 2012 yılında Prof. Dr. Yusuf Menemen tarafından *Opopanax* cinsine transfer edilmiş ve *Opopanax siifolius* (Boiss et. Heldr.) Menemen olarak tanımlamıştır. Bu ilave ile birlikte Türkiye Bitkiler Listesi'nde *Opopanax* cinsi 4 tür ile temsil edilmektedir (Güner ve diğerleri, 2012).

Opopanax hispidus (Friv.) Griseb

Syn: *Pastinaca opopanax* L., Sp. Pl. 1: 262 (1753); *Ferula hispida* Friv., Flora 18(1): 333 (1835); *Pastinaca hispida* (Friv.) Fenzl, Flora 26(2): 462 (1843); *Opopanax orientalis* Boiss., Ann. Sci. Nat., Bot. sér. 3, 1: 330 (1844).

Sert, dik, çok yıllık; gövde 1-3 m, silindirik, papillalı. Taban yaprakları bipinnat, petiyol 30-70 cm, en uçtaki segmentler 2-13 cm, genişçe eliptik, basitten 3 parçaya kadar, kenarı krenat; yaprak lamina alt yüzü yıldızsı tüylü. Umbellalar 5-15 ışınlı; küçük umbellalar 5-12 çiçekli; brakte ve brakteoller 2-5, linear. Çiçekler sarı. Merikarplar 7-12 x 4-5 mm, eliptik, ± tüysüz; kenarlar 2-3 mm genişliğinde (Resim 2.1).



Resim 2.1. *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb (Fotoğraf: Prof. Dr. Osman Tugay)

Çiçeklenme: Mayıs- Temmuz ayları

Habitat: Taşlı alanlar, tuzlu tortular

Yükseklik: 50-1700 m

Genel yayılış: İtalya, Balkanlar, Kıbrıs, Suriye, Kuzey Irak, Batı İran, Ermenistan

Türkiye’deki yayılışı: Çatalca-Kocaeli ve Güney Marmara Bölümleri; Yukarı Sakarya ve Konya Bölümleri; Ege Bölgesi; Antalya Bölümü; Yukarı Fırat ve Hakkâri Bölümleri (Güner ve diğerleri, 2012).

O. hispidus’a ait incelenen herbaryum örnekleri ve “Flora of Turkey and the East Eagean Islands”da bulunan kayıtlar kareleme sistemine göre gruplandırılarak bitkinin ülkemizdeki yayılışı Çizelge 2.1 ve Şekil 2.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. *O. hispidus* ’un ülkemizdeki yayılışı

Kare	Toplandığı Yer, Tarih	Kayıt Bilgileri	Herbaryum No	Kaynak
A1(E)	Çanakkale, Gelibolu’nun 25 km kuzeyi, 10 m	Sorger 68-2-25	-	Chamberlain, 1975
A2(A)	İstanbul, Soğanlı-Kartal, 02.07.1893	Azn.	-	Chamberlain, 1975
A4	Ankara, Ankara’nın 10 km kuzeyi, 13.07.1962	M. & D. Zoharyl	-	Chamberlain, 1975
A4	Ankara, Ankara Ziraat Mektebi, 20.06.1928	-	192 (ANK)!	-
A4	Ankara, Çubuk Barajı, 02.07.1960	-	842 (ANK)!	-
A4	Ankara, Elmadağ, 14.07.1939	-	(ANK)!	-
A4	Ankara, Dikmen, Çal Dağı, 1000 m, korunmuş step, 26.06.1985	-	3393 (GAZI)	-
A4	Kırıkkale, Koçubaba Kasabası, bağlar yöresi, bozkır vejetasyonu 1100 m, 17.07.1990	-	18302 (HUB)!	-
A7	Gümüşhane, Kızılcık Köyü, Kuşakkaya mevki, <i>Pinus sylvestris</i> ormanı, 2050 m, 11.07.1989	-	2812 (GAZI)!	-
A8	Rize, İkizdere, Ballıköy (Yukarı Anzer) 1900-2000 m, 07.08.1983	-	18308 (HUB)!	-
			18309 (HUB)!	-
B1	Balıkesir, Assos	Sint. 1883:440	-	Chamberlain, 1975
B2	Uşak, 910 m	Bal. 1246	-	Chamberlain, 1975
B3	Afyon, Afyonkarahisar’ın 5 km kuzeyi, 15.06.1935	Reese	-	Chamberlain, 1975
B4	Ankara, Tuz Gölü’nün kuzeydoğu kıyısı, 905 m	Darrah 180	-	Chamberlain, 1975
B4	Kırıkkale, Keskin, Böbrek Dağı, Tilkili Köyü, step, 650 m, 19.07.1992	-	1981 (GAZI)!	-

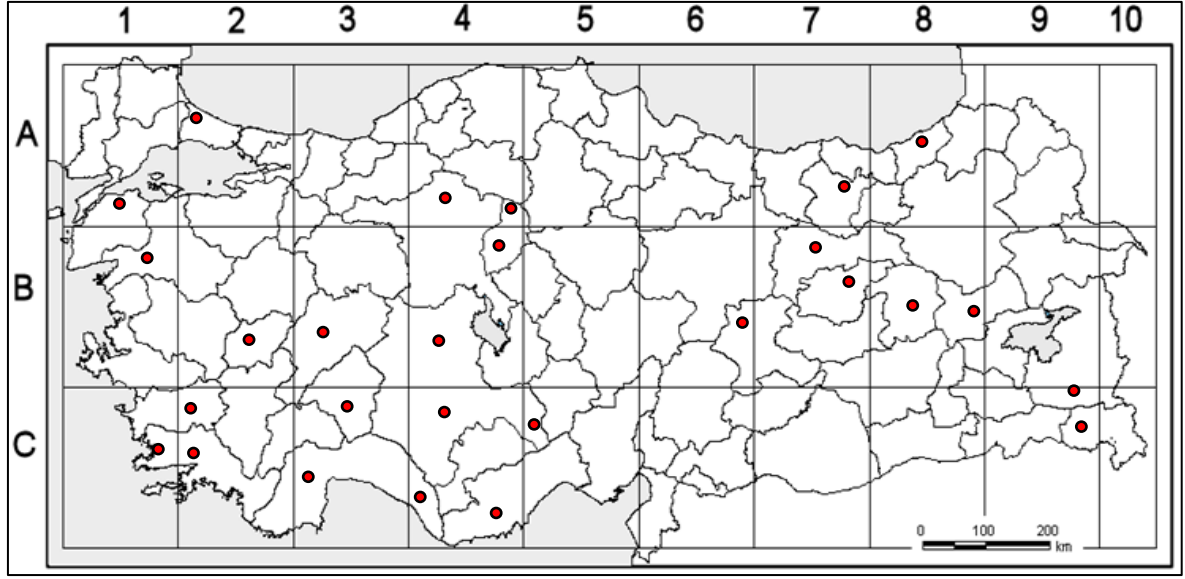
Çizelge 2.1. (devam) *O. hispidus*'un ülkemizdeki yayılışı

B6	Malatya, Doğanşehir, Eski köy üstü, kalker kayalığı, 16.07.1971	-	18291 (HUB)!	-
			18290 (HUB)!	-
B6	Malatya, Malatya'dan Maraş'a 40 km, 1400 m	Stn. & Hend. 5464	-	Chamberlain, 1975
B7	Erzincan, Eğin (Kemaliye), Kızıl Mağara Dağı	Sint. 1890: 2856	-	Chamberlain, 1975
B7	Erzincan, İliç, Yakuplu Köyü çevresi, Han Deresi mevkii, 1200 m, 31.05.1979	-	18294 (HUB)!	-
B7	Erzincan, İliç, Yakuplu Köyü çevresi, Han Deresi mevkii, Munzur Dağları, 1200 m, 31.05.1979	-	18306 (HUB)!	-
			18310 (HUB)!	-
B7	Tunceli, Ovacık, tarla, çayırılık, 25.07.1979	-	18295 (HUB)!	-
B8	Bingöl, Bingöl'ün 43. km batısı, 1400 m	M. Zohary 47220	-	Chamberlain, 1975
B8	Muş, Çengelli Kilise altı, meşe ormanı, 15.07.1956	-	342 (ANK)!	-
C1	Muğla, Milas'tan Bodrum'a 30 km, 50 m	Dudley, D. 35012	-	Chamberlain, 1975
C2	Muğla, Köyceğiz, Sultaniye çevresi, taşlık alanlar, 100-300 m, 16.06.1991	-	(GAZI)!	-
C2	Aydın, Çine'den Muğla'ya 11 km, 100 m	D. 35374	-	Chamberlain, 1975
C2	Muğla, Köyceğiz, Sultaniye çevresi, taşlık alanlar, 100-300 m, 16.06.1991	-	18301 (HUB)!	-
C2	Muğla, Ortaca, Köyceğiz, Sultaniye çevresi, taşlık alanlar, 100-300 m, 16.06.1991	-	18303 (HUB)!	-
C2	Muğla, Karaçam orman altı, 18.06.1976	-	8153 (ANK)!	-
C2	Muğla, Çine-Muğla arası, Muğla'ya 52 km, kayalık dik yamaçlar, 08.08.1973	-	25620 (ANK)!	-
C3	Antalya, Manavgat ana yol kavşağından Akseki'ye 65 km, 800 m	Dudley, D. 35790	-	Chamberlain, 1975
C3	Antalya, Akseki, Gidefi Dağı, Evlek Boğazı güneyindeki kayalıklar, 1780 m, 05.07.1994	-	(GAZI)!	
C3	Antalya, Kemer, Kayabaşı, kalkerli kayalık arazi, 29.07.1979	-	18293 (HUB)!	-
			18296 (HUB)!	-
			18297 (HUB)!	-
			18307 (HUB)!	-
C3	Antalya, Akseki, Çukurköy Yaylası, Toptaş mevkii, kayalıklar, 1950-2050 m, 19.07.1995	-	(GAZI)!	-
C3	Isparta, Eğirdir, göl kenarı, 19.06.1987	-	18289 (HUB)!	-

Çizelge 2.1. (devam) *O. hispidus*'un ülkemizdeki yayılışı

C3	Isparta, Eğirdir, Yaka Köyü, Kapız Deresi, <i>Pinus nigra</i> ormanı, 01.07.1974	-	18292 (HUB)!	-
C4	Antalya, Gazipaşa, Çayırakası Yaylası, 1700 m, 14.07.1983	-	18304 (HUB)!	-
C4	Antalya, Gazipaşa, Çobanlar Köyü Yaylası, Karain mevki 2000 m, 14.07.1982	-	18305 (HUB)!	-
C4	Antalya, Gündoğmuş, Oğuz Bölgesi, Gelesantra Yaylası, Karayolu mevki, orman içi, ağaçlandırma sahası, 1500-1600 m, 04.08.1991	-	3064 (ANK)!	-
C4	Antalya, Gazipaşa, Çayırakası Yaylası, 1700 m, 14.07.1980	-	(ANK)!	-
C4	Mersin, 13.06.1976	-	18293 (HUB)!	-
C4	Konya, Dinek'in yukarısı	Andrasovszky 545a		Chamberlain, 1975
C4	Konya, Seydişehir doğusu, 1200 m, 17.06.1980	-	886 (ANK)!	-
C4	Konya, Hadim, Gevne vadisi, Beyreli, 1800 m, 10.06.1999	-	(GAZI)!	-
C5	Konya, Perinde, 1700 m	Siehe 1912:530	-	Chamberlain, 1975
C9	Hakkari, 1700 m	Nâbélek 378	-	Chamberlain, 1975
C9	Van, Çatak, Atlıhan Köyü çevresi, meşe açıklığı, 1350 m, 30.06.2003	-	(GAZI)!	-
C10	Hakkari, Şemdinli'den Yüksekova'ya 12-16 km, 1600-1650 m	D. 45000	-	Chamberlain, 1975

ANK: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu; GAZI: Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu; HUB: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu; (!): Tarafımızdan incelenmiş herbarium örnekleri



● *O. hispidus*'un "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" ve incelenen herbaryum kayıtlarına göre yayılışı

Şekil 2.1. *O. hispidus*'un Türkiye'deki yayılışı

2.2. *Opopanax* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.2.1. Halk arasında ve geleneksel tedavide kullanılış

Opopanax cinsi tıbbi etkilerinden dolayı hem Türkiye'de hem de dünyada geleneksel kullanıma sahiptir. Özellikle *O. hispidus* ve *Opopanax chironium* Koch'un gıda olarak kullanımları kayıtlı olmakla beraber, çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla da kullanımlarına dair kayıtlar bulunmaktadır. Türlerin halk arasında ve geleneksel tedavide kullanılışları Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Ülkemizde *O. hispidus* Erzurum'da "kekire"; Eğirdir, Isparta'da "çördük, çörtük"; Madra Dağları çevresinde "kaymecik, gaymecik"; Kaz Dağları bölgesindeki yerleşimlerde "kaymaklık"; diğer yerlerde "halız, heliz, kaymak otu, kekire, kirkora zar, mayasıl otu, sarı çiçek, sarı ot" gibi isimlerle bilinmektedir (Ahıskalı, Arı ve Selvi, 2012; Doğan ve diğerleri, 2014; Gürhan ve Nurten, 2004; Özgen, Kaya ve Houghton, 2012; Sacli ve Akalin, 2001; Satıl, Akçiçek ve Selvi, 2008; Tuzlacı ve Erol, 1999). *O. hispidus*'un çeşitli kısımlarından hazırlanan halk ilaçları, infertilite ve hemoroit tedavisinde kullanılmaktadır. Erzurum'da bitkinin taze gövdelerinin kadınlarda dahilen infertiliteye karşı kullanımı kayıtlıdır. (Özgen ve diğerleri, 2012). Isparta'da *O. hispidus* bitkisinin toz haline getirilen yaprakları, günde 1 veya 2 kez yenilerek hemoroide karşı kullanılmaktadır. Çanakkale'de

ise, bitkinin kökleri soyularak güneşte kurutulduktan sonra toz haline getirilmekte ve balla karıştırılarak günde 2 kez bir çay kaşığı yenilmek suretiyle hemoroide karşı kullanılmaktadır (Gürhan ve Nurten, 2004; Sacli ve Akalin, 2001; Sevgi ve Kızıllarslan, 2013; Tuzlacı ve Erol, 1999). Etnomedikal kullanımın yanı sıra bitkiden gıda olarak da yararlanılmaktadır. *O. hispidus* Ege Bölgesi'nde yenilebilir bitkiler olarak nitelendirilmekte ve bölge halkı bitkiyi çay ve sebze olarak tüketmektedir (Ahıskalı ve diğerleri, 2012; Sarikurkcu, Targan, Ozer ve Tepe, 2017; Targan, Yelboğa ve Cittan, 2018). Muğla'da bitkinin taze filizleri ve yaprakları sütle pişirilmekte, ya da suyla pişirildikten sonra yoğurtla karıştırılarak yemeği hazırlanmaktadır. Bitkinin taze gövde kısımları Muğla, Malatya ve Erzurum'da gıda olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Malatya'da bitkinin taze gövdelerinden turşu yapılmaktadır (Doğan ve diğerleri, 2014).

Bizanslı hekim Nikolaos Myrepsos tarafından yazılan Dynameron isimli eserde *O. hispidus*'un antidot olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Valiakos, Marselos, Sakellaridis, Constantinidis ve Skaltsa, 2015). *O. hispidus* gövde, yaprak ve çiçek durumları İran'da tütüsü şeklinde yakılarak elde edilen dumandan antiseptik amaçla yararlanılmaktadır (Amiri ve Joharchi, 2016).

Dioscorides *O. chironium*'un ateş düşürücü olarak kullanılabileceğinden bahsetmektedir (Leonti, 2011). Kahire'de yapılan bir kazı sonucunda *O. chironium* köklerinden elde edilen reçinenin Orta Çağ'da göz hastalıkları, soğuk algınlığı, kolik, konvülsiyon ve tetaniye karşı ve ereksiyonu arttırmak amacıyla kullanıldığı tespit edilmiştir (Lev ve Amar, 2008). Bitkiden elde edilen uçucu yağ, zambak ve reçine karışımı (oleogomresin) ile hazırlanan merhem Geleneksel İslam Tıbbı'nda çeşitli kanserlere karşı kullanılmaktadır (Javadi, Iranshahy ve Emami, 2015). *O. chironium* dallarının ya da köklerinin yaralanması ile hoş ve kalıcı kokulu sarımsı renkli bir eksuda oluşmaktadır. Bu eksudanın zehirli olduğu ve bitkinin hayvanlar tarafından yenilmesini engellediği bildirilmiştir (Önder, Nahar, Nath ve Sarker, 2020). *O. chironium* İran halk ilacı kaynaklarında tıbbi etkilerinden dolayı sıklıkla anılmaktadır. İran'da antinosiseptif ve diüretik etkilerinin olduğu ve geleneksel olarak baş ağrısı, eklem ağrısı ve romatoid artritte kullanıldığı bildirilmiştir (Farzaei ve diğerleri, 2016). İran Geleneksel Tıp kitaplarında (El-Kanun fi't-Tıb, Al-Abniah'an Haqaeq al Adwia, Makhzan ul-Adwia ve Tuhfat al-Mu'minin) bitkinin köklerinden elde edilen reçine çocuklarda epilepsi tedavisinde reçetelendirilmektedir (Sahranavard, Ghafari ve Mosaddegh, 2014). İbn-i Sina tarafından yazılan El-Kanun fi't-Tıb adlı eserde, duyuşal

nöropati tedavisinde kullanılan “Habb al-Sheitaraj” ve “Ayarej-e Jalinus” isimli formülasyonların bileşiminde *O. chironium* da yer almaktadır (Setayesh, Zargaran, Sadeghifar, Salehi ve Rezaeizadeh, 2018). Rönesans dönemine ait (16- 17. yy) Alman kaynaklarında da, *O. chironium*’un dahilen epilepsi tedavisinde kullanıldığı bilgisi yer almaktadır (Adams, Schneider, Kluge, Kessler ve Hamburger, 2012).

Opopanax persicus Boiss.’den elde edilen reçine ile hazırlanan nazal formülasyon, geleneksel İran kaynaklarına göre felç tedavisinde kullanılmaktadır (Abolhasanzadeh, Ashrafi, Badr ve Azadi, 2017).

Çizelge 2.2. *Opopanax* türlerinin halk arasında ve geleneksel tedavi sistemlerinde kullanılışı

Tür adı	Ülke/Lokalite	Yerel isim	Kullanılış amacı	Kullanılan kısım	Kullanılış şekli	Kaynak
<i>O. chironium</i>	İran	Jāvshir	Epilepsi tedavisinde	Reçine	-	Sahranavard ve diğerleri (2014)
	İran	Jāvshir	Baş ağrısı, eklem ağrısı ve romatoid artrit tedavisinde	-	-	Farzaei ve diğerleri (2016)
	İran	-	Epilepsi tedavisinde	Reçine	-	Sahranavard ve diğerleri (2014)
	Almanya	-	Epilepsi tedavisinde	-	-	Adams ve diğerleri (2012)
	İran	-	Duyusal nöropati tedavisinde	-	-	Setayesh ve diğerleri (2018)
	Kahire, Mısır	-	Kolik, soğuk algınlığı, göz hastalıkları, konvülsiyon ve tetani tedavisinde	Reçine	-	Lev ve Amar (2008)
<i>O. hispidus</i>	İran	Alafshir	Antiseptik amaçla	Gövde, yaprak, çiçek durumu	Tütsü	Amiri ve Joharchi (2016)
	İlca, Erzurum, Türkiye,	Kekire	Kadınlarda infertilite tedavisinde	Taze gövde	Dahilen	Özgen ve diğerleri (2012)
	Eğirdir, Isparta, Türkiye	Çördük, çörtük	Hemoroit tedavisinde	Yaprak	Günde bir ya da iki kez toz halinde dahilen	Gürhan ve Nurten (2004); Tuzlacı ve Erol (1999)
	Çanakkale, Türkiye	Mayasıl otu	Hemoroit tedavisinde	-	-	Sevgi ve Kızılarıslan (2013)
	Balıkesir, Türkiye	Kaymecik, Gaymecik	İlaç ve gıda olarak	-	-	Satıl ve diğerleri (2008)
	Çanakkale, Türkiye	Mayasıl otu	Hemoroit tedavisinde	Kök	Soyulup kurutulan ve toz haline getirilen kökler balla karıştırılır ve günde iki kez bir çay kaşığı alınır	Sacılı ve Akalin (2001)
	Çanakkale, Türkiye	Kaymaklık	Gıda olarak	-	-	Ahıskalı ve diğerleri (2012)
	Manisa, Türkiye	Kaymak otu	Gıda olarak	Toprak üstü kısımları	-	Targan ve diğerleri (2018)
	İran	-	Felç tedavisinde	Reçine	Nazal sprey	Abolhasanzadeh ve diğerleri (2017)

2.2.2. Fitokimyasal çalışmalar

Opopanax türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar incelendiğinde, bu cinsin kumarin türevi bileşikler yönünden zengin olduğu görülmektedir. Türlerden *O. chironium* üzerinde yapılan çalışmalar nicelik yönünden öne çıkmaktadır.

O. chironium'un iki farklı kemotipi üzerinde gerçekleştirilen fitokimya çalışmasına göre, bitki yüksek oranda kumarin türevi bileşikler içermektedir. Sardunya kemotipinin kök, gövde ve meyve kısımlarından hazırlanan aseton ekstresinden, çeşitli ayırma ve saflaştırma teknikleri kullanılarak umbelliprenin, imperatorin, ksantotoksin ve bergapten karışımı, heraklenin, heraklenol ve suberosin izole edilmiştir. Sicilya kemotipinin kök ve tohum kısımlarından ise pösedanın, marmesin, dehidromarmesin metil eter, prantşimgin, smirniorin, 4'-asetil-3'-senesioil-3'-hidroksimarmesin ve 4'-asetil-3'-izobütiril-3'-hidroksimarmesin ayrılmıştır (Appendino ve diğerleri, 2004). Kumarinlerden başka, *O. chironium* köklerinden hazırlanan petrol eteri ve dietil eter ekstratlarından 6 tane ftalit türevi bileşik (Z-bütildenftalit, bütilftalit, knidilit, Z-ligustilit, senkiunolit A ve senkiunolit I) izole edilmiştir (Gijbels, Bos, Scheffer ve Svendsen, 1983). Bitkinin Sicilya kemotipinden kristalizasyon ile koniferil stearat elde edilmiştir (Appendino ve diğerleri, 2004). *O. chironium* köklerinin eterli ekstresinden düzensiz diterpen yapısında pöselinenoksit asetat izole edilmiştir (Muckensturm, Boulanger, Ouahabi ve Reduron, 2005). Ayrıca bitkinin C-17 asetilenik hidrokarbon bileşikleri ihtiva ettiği rapor edilmiştir (Bohlmann ve Rode, 1968).

Bir diğer tür *O. hispidus* üzerinde sadece bir izolasyon çalışması bulunmaktadır. Bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan kloroformlu ekstresinden 3'-izobütiril-3'-hidroksimarmesin, oreoselon, pösedanın, offisinalin, smirniorin, 4'-asetil-3'-izobütiril-3'-hidroksimarmesin, 3'-hidroksiprantşimgin izole edilmiştir (Ghasemi ve Habibi, 2014). Ayrıca *O. hispidus*'un çiçek ve yaprak kısımlarında, gallik asit ve kersetin üzerinden toplam fenol/flavonoit miktar tayini analizleri gerçekleştirilmiştir. Bitkinin çiçek durumlarının yüksek oranda fenolik madde ($89,95 \pm 0,005$ mg GA/g) ve flavonoit ($24,06 \pm 0,004$ mg Qu/g) ihtiva ettiği belirlenmiştir (Matejić, Džamić, Mihajilov-Krstev, Randelović ve Marin, 2015). Benzer şekilde, Sarikurkcu ve diğerleri (2017) *O. hispidus*'un toprak üstü kısımlarının flavonoit içeriğinin zengin olduğunu vurgulamıştır ($121,18$ mg Res/g). Ancak,

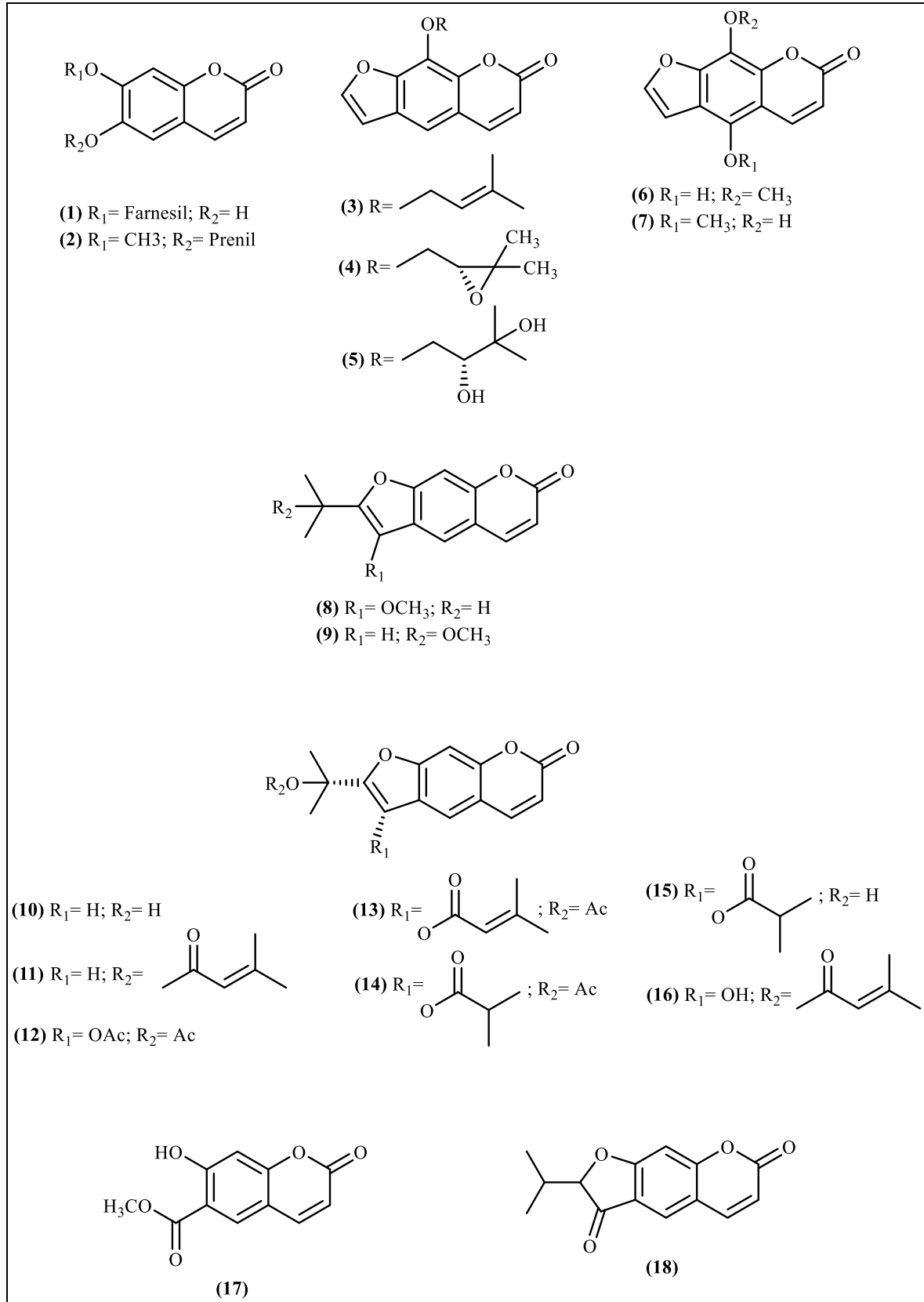
literatürde bu zamana kadar *Opopanax* türlerinden izole edilip yapısı aydınlatılan bir flavonoit bileşiğine rastlanmamıştır.

O. persicus üzerinde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Literatürde sadece bir fitokimyasal çalışmaya rastlanmaktadır. Bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan diklorometan ekstresinde başta lineer ve açısal dihidropiranokumarinler olmak üzere 20 bileşiğin varlığından bahsedilmektedir (Rajabi ve diğerleri, 2011). Ancak konferans özeti olarak yayınlanan bu çalışmada, bileşiklerin yapıları ile ilgili detaylı bilgi verilmemiştir.

Opopanax türlerinin çeşitli kısımlarından hazırlanan ekstrelerden izole edilen kumarinler ve ftalitler ve bu türlerden elde edilen uçucu yağların bileşimlerine ait çalışmalar alt başlıklar halinde detaylandırılmıştır:

Kumarinler

Opopanax türlerinden izole edilen kumarin tipi bileşikler Şekil 2.2 ve Çizelge 2.3’de özetlenmiştir.



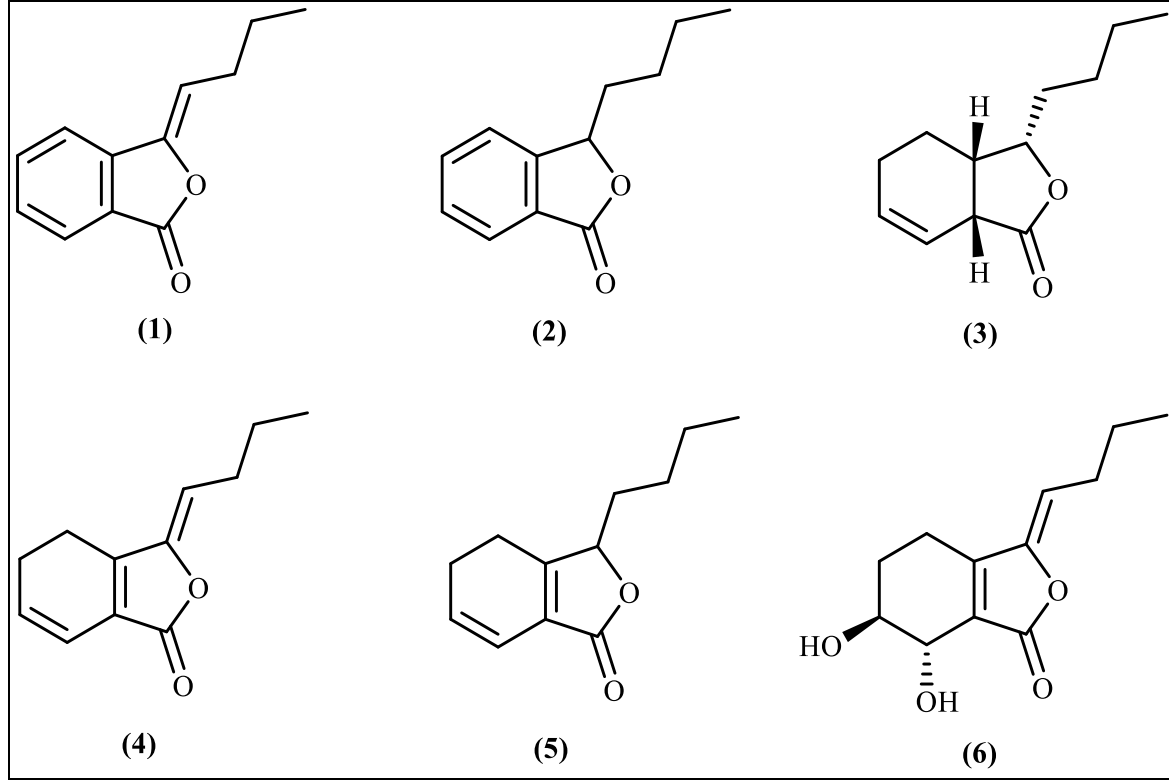
Şekil 2.2. *Opopanax* türlerinden izole edilen kumarinler

Çizelge 2.3. *Opopanax* türlerinden izole edilen kumarinler

Bileşiğin adı	Tür adı	Kullanılan kısım	Ekstre tipi	Kaynak
(1) Umbelliprenin	<i>O. chironium</i>	Kök	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(2) Suberosin	<i>O. chironium</i>	Meyve	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(3) İmperatorin	<i>O. chironium</i>	Kök, meyve	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(4) Heraklenin	<i>O. chironium</i>	Kök	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(5) Heraklenol	<i>O. chironium</i>	Kök	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(6) Ksantotoksin	<i>O. chironium</i>	Kök, yaprak, meyve	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(7) Bergapten	<i>O. chironium</i>	Kök, yaprak, meyve	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(8) Pösedanin	<i>O. chironium</i>	Kök, tohum	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Kloroform	Ghasemi ve Habibi (2014)
(9) Dehidromarmesin metil eter	<i>O. chironium</i>	Kök, tohum	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(10) Marmesin	<i>O. chironium</i>	Kök, tohum	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(11) Prantşimgin	<i>O. chironium</i>	Kök, tohum	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(12) Smirniorin	<i>O. chironium</i>	Kök, tohum	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Kloroform	Ghasemi ve Habibi (2014)
(13) 4'-asetil-3'-senesioil 3'-hidroksimarmesin	<i>O. chironium</i>	Kök, tohum	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
(14) 4'-asetil-3'-izobütiril-3'-hidroksimarmesin	<i>O. chironium</i>	Kök, tohum	Aseton	Appendino ve diğerleri (2004)
	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Kloroform	Ghasemi ve Habibi (2014)
(15) 3'-izobütiril-3'-hidroksimarmesin	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Kloroform	Ghasemi ve Habibi (2014)
(16) 3'-hidroksiprantşimgin	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Kloroform	Ghasemi ve Habibi (2014)
(17) Offisinalin	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Kloroform	Ghasemi ve Habibi (2014)
(18) Oreoselon	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Kloroform	Ghasemi ve Habibi (2014)

Ftalitler

Opopanax türlerinden izole edilen ftalitler Şekil 2.3 ve Çizelge 2.4’de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. *Opopanax* türlerinden izole edilen ftalitler

Çizelge 2.4. *Opopanax* türlerinden izole edilen ftalitler

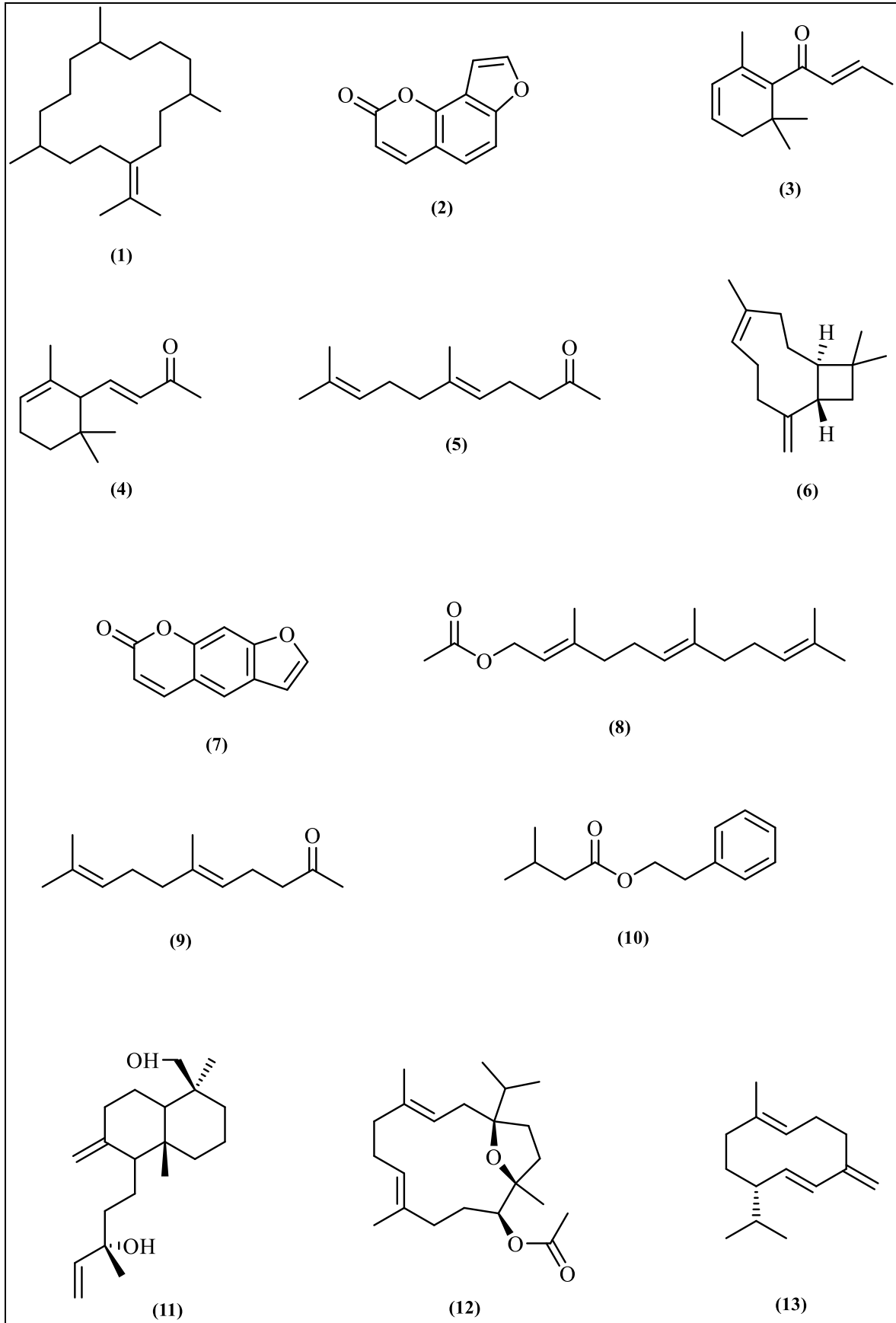
Bileşiğin adı	Tür adı	Kullanılan kısım	Ekstre tipi	Kaynak
(1) Z-bütülideftalit	<i>O. chironium</i>	Kök	Petrol eteri, dietil eter	Gijbels ve diğerleri (1983)
(2) Bütülfalit				
(3) Knidilit				
(4) Z-ligüstilit				
(5) Senkiunolit A				
(6) Senkiunolit I				

Opopanax türlerinin uçucu yağları üzerinde yapılan çalışmalar

O. chironium toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyonu ile elde edilen uçucu yağda GC ve GC-MS analizi gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri diterpen yapısında sembren (%14,6) ve kumarin yapısında anjelisin (%4,5) olarak belirlenmiştir. Ayrıca (*E*)- β -damassenon (%3,7), (*E*)- β -iyonon (%3,7), β -karyofillen (%3,2), (*E*)-geranilaseton (%3,3) ve psöralen (%1,9) uçucu yağın diğer bileşenleri olarak tanımlanmıştır (Maggio, Bruno, Formisano, Rigano ve Senatore, 2013). Başka bir çalışmada, tüm bitkiden elde edilen uçucu yağın ağırlığının yaklaşık %20'sinin *E,E*-farnesil asetatı oluşturduğu bildirilmiştir (Evergetis, Koulocheri ve Haroutounian, 2015).

O. hispidus meyvelerinden elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminde labdan tipi diterpenler ve seskiterpenler bulunmaktadır ve başlıca torulosol (%48,8), geranil geraniol asetat (%17,9), insensol asetat (%4,3) ve germakren D (%4) bileşiklerini ihtiva etmektedir (Matejic, Ristic, Randelovic, Marin ve Dzamic, 2018).

Opopanax türlerinden elde edilen uçucu yağlarda bulunan bileşikler ve çalışmaların detayları Şekil 2.4 ve Çizelge 2.5'te özetlenmiştir.



Şekil 2.4. *Opopanax* türlerinden elde edilen uçucu yağların bileşimi

Çizelge 2.5. *Opopanax* türlerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi

Bileşiğin adı	% Bileşimi	Tür adı	Kullanılan kısım	Kaynak
(1) Sembren	14,6	<i>O. chironium</i>	Toprak üstü	Maggio ve diğerleri (2013)
(2) Anjelisin	4,5			
(3) (E)- β -damassenon	3,7			
(4) (E)- β -iyonon	3,7			
(5) (E)-geranilaseton	3,3			
(6) β -karyofillen	3,2			
(7) Psöralen	1,9			
C ₁₆ H ₃₂ O ₃ (m/z: 69, 109, 93, 41, 203)	25,6	<i>O. chironium</i>	Tüm bitki	Evergetis ve diğerleri (2015)
C ₁₇ H ₃₆ O ₃ (m/z: 109, 69, 43, 93, 133)	20,3			
(8) E,E-farnesil asetat	20,2			
(9) Geranil aseton	3,8			
(10) Bütanoik asit, 3-metil-, 2-feniletil ester	2,2			
(11) Torulosol	48,8	<i>O. hispidus</i>	Meyve	Matejic ve diğerleri (2018)
Geranil geraniol asetat	17,9			
(12) İnsensol asetat	4,3			
(13) Germakren D	4,0			

2.2.3. Aktivite çalışmaları

Literatürde, *O. hispidus* ve *O. chironium*'un çeşitli kısımlarından hazırlanan ekstrelerin ve bitkilerden izole edilen bazı kumarin türevi bileşiklerin antikanser, anti-enflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan ve enzim inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Bununla birlikte, bir başka çalışmada *O. hispidus*'un etnofarmakolojik kullanımından yola çıkılarak, bitkinin infertiliteye karşı etkisi değerlendirilmiştir. *Opopanax* türleri üzerinde gerçekleştirilen aktivite çalışmaları Çizelge 2.6'da özetlenmiştir.

Antikanser aktivite

Appendino ve diğeri (2004) tarafından bir çalışmada *O. chironium*'un asetonlu ekstresinden izole edilen furanokumarin türevi bileşiklerin, Jurkat lösemi hücreleri üzerindeki apoptotik etkisi araştırılmıştır. Bileşiklerin hücre döngüsü üzerine etkisi Propidium iyodür (PI) ile boyandıktan sonra bir akış sitometresi ile analiz edilerek belirlenmiştir. Araştırılan bileşiklerden heraklenin ve imperatorin apoptotik etki göstermiştir. Heraklenin 48 saatlik uygulamanın ardından, G2/M hücre döngüsü arrestinde etki göstermiş, 72 saatlik tedaviden sonra hipodiploidi tespit edilmiştir. Bileşiğin doğrudan apoptozu indüklediği, hücre döngüsünün işleyişini bozmak suretiyle, hücreleri mitozda durdurarak DNA fragmentasyonunu ve apoptozu uyardığı sonucuna varılmıştır. Bu tip ikincil apoptotik yolak üzerinden görülen etki, paklitaksel ve podofilotoksin gibi mitotik inhibitörlerin de özelliğidir. İmperatorin ise hücre döngüsü arrestinde etki göstermezken sadece yüksek dozda (25 µg/mL) güçlü apoptotik aktivite sergilemiştir. 72 saat boyunca heraklenin uygulanan Jurkat hücrelerinde, DNA fragmentasyonunun büyük bir kısmının hücre döngüsünün G2/M fazında meydana geldiği gözlenirken, imperatorin ile muamele edilmiş hücrelerde DNA parçalanması, esas olarak hücre döngüsünün G1/S geçiş fazlarında meydana gelmiştir. Kimyasal yapılarının benzerlik göstermesine rağmen, imperatorin ve herakleninin, Jurkat lösemi hücreleri üzerinde mekanistik olarak farklı yollarla etki gösterdiği belirlenmiş ve bu iki bileşiğin antikanser ilaç araştırmalarında aday moleküller olarak değerlendirilebilecekleri sonucuna varılmıştır.

Anti-enflamatuvar aktivite

O. hispidus'un çiçek ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstraktların anti-enflamatuvar aktiviteleri insan kırmızı kan hücresi membran stabilite testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Asetil salisilik asitin referans olarak kullanıldığı çalışmada, her iki ekstre de membran stabilite edici etki göstermiştir. Anti-enflamatuvar aktivite açısından, çiçeklerin toprak üstü kısımlara kıyasla daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Çiçek ekstresi $IC_{50} = 3,32$ mg/mL; toprak üstü ekstresi $IC_{50} = 4,75$ mg/mL) (Gümüşok, Sarıaltın, Çoban ve Kılıç, 2021).

Antimikrobiyal aktivite

O. hispidus'un meyve, çiçek durumu ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ve etil asetatlı ekstralarının en yaygın patojenik gastrointestinal mikrobiyal suşlarına (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) karşı antimikrobiyal potansiyeli mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Referans ilaç kloramfenikolün *L. monocytogenes*'e karşı MIC/MBC değeri 0,008/0,016 mg/mL, streptomisin *E. coli*'ye karşı MIC/MBC değeri 0,016 olarak kaydedildiği çalışmada, meyve ve çiçek durumlarının etil asetatlı ekstraları güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. Meyve ekstresi *L. monocytogenes*'e karşı (MIC/MBC = 3,125/6,25 mg/mL); çiçek durumu ekstresi ise *E. coli*'ye karşı (MIC/MBC = 6,25 mg/mL) duyarlı bulunmuştur. (Matejić, Džamić, Mihajilov-Krstev, Randelović ve Marin, 2015).

O. persicus'un toprak üstü kısımlarından izole edilen lineer ve açısız dihidropiranokumarin yapısındaki bileşikler, *Plasmodium falciparum* K1 suşu ve *Trypanosoma brucei rhodesiense*'ye karşı orta dereceli antimikrobiyal aktivite göstermiştir (IC₅₀= 3,6-6,9 µg/mL). L-6 hücrelerindeki seçicilik indeksinin ise 5,7-25 aralığında olduğu hesaplanmıştır. Çalışmada referans ilaç verisi bulunmamaktadır (Rajabi ve diğerleri, 2011).

Antioksidan aktivite

Gümüşok ve diğerleri (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, *O. hispidus*'un çiçeklerinden ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstraların antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Antioksidan etki, 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü aktivite deneyleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Her iki deneyde de, ekstralar antioksidan aktivite göstermiştir. Bununla birlikte, toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin etkisinin (ABTS IC₅₀ = 0,33 mg/mL, DPPH IC₅₀ = 0,54 mg/mL); çiçeklerden hazırlanan ekstreye göre (ABTS IC₅₀ = 0,40 mg/mL; DPPH IC₅₀ = 0,50 mg/mL) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada *O. hispidus*'un meyve, çiçek durumu ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ve etil asetatlı ekstraların antioksidan etkileri, DPPH deneyi ile

değerlendirilmiş; en yüksek aktiviteyi çiçek durumlarından hazırlanan metanollü ($IC_{50}=1,157$ mg/mL) ve etil asetatlı ($IC_{50}=3,167$ mg/mL) ekstrelerin gösterdiği tespit edilmiştir. Metanollü ekstreler, etil asetatlı ekstrele göre daha yüksek antioksidan etki göstermiştir. Ayrıca, aynı çalışmada ekstrelerin toplam fenol ve flavonoit miktar tayinleri de yapılmış ve bitkinin çiçek durumlarının yüksek oranda fenolik madde (89,95 mg GA/g) ve flavonoit (24,06 mg Qu/g) ihtiva ettiği belirlenmiştir (Matejić, Džamić, Mihajilov-Krstev, Randelović ve Marin, 2015).

Alpinar ve diğerleri (2009) gıda olarak tüketilen ve aralarında *O. hispidus*'un da bulunduğu 19 bitkinin toplam antioksidan kapasitesini araştırmış ve *O. hispidus*'un antioksidan etkisi bakır indirgeme antioksidan gücü (CUPRAC) (0,08 mmol TR/g), ABTS (0,08 mmol TR/g), demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP) (0,03 mmol TR/g) ve Folin testleri (0,20 mmol TR/g) ile gösterilmiştir. Sarikurkcü ve diğerleri (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, *O. hispidus*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstrenin antioksidan etkisi, fosfomolibden (2,91 mmol TEs/g ekstre), β -karoten ağartma testi (%78,76), DPPH (88,27 mg TEs/g ekstre), ABTS (138,07 mg TEs/g ekstre), nitrik oksit (7,18 mg TEs/g ekstre), CUPRAC (129,96 mg TEs/g ekstre), FRAP (89,65 mg TEs/g ekstre) ve şelat oluşturma (24,09 mg EDTAEs/g ekstre) deneyleri ile ortaya konulmuş, aynı zamanda bitkinin toplam flavonoit içeriği 121,18 mg REs/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Bitkinin antioksidan etkisi ile fitokimyasal içeriği arasında güçlü bir korelasyon olduğu vurgulanmıştır.

Enzim inhibisyon aktivitesi

O. hispidus'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstrenin, asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE), α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı inhibitör etkisi, ELISA mikropalak yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, bitki ekstresinin, AChE (1,16 mg GALAEs/g ekstre) ve BChE (3,98 mg GALAEs/g ekstre) enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri düşük bulunmuştur. Benzer şekilde, ekstrenin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı belirgin bir inhibitör etki oluşturmadığı tespit edilmiştir (Sarikurkcü ve diğerleri, 2017).

İnfertilite tedavisi

Çölçimen, Arıhan, Gümüşok ve Kılıç (2020), *O. hispidus*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrenin farelerin over dokuları üzerinde oluşturduğu histolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Bitki ekstresi, farelere 200 mg/kg dozda 5 gün süreyle oral yolla uygulanmıştır. Deney sonunda, *O. hispidus*'un metanollü ekstresinin uygulandığı grupta, kontrol grubuna kıyasla over hacimlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). *O. hispidus*'un metanollü ekstresinin over dokusunda olumlu etkiler oluşturarak antral folikül sayısını arttırdığı ve bu artışın muhtemelen ekstrenin antioksidan etkisinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 2.6. *Opopanax* türleri üzerinde gerçekleştirilen aktivite çalışmaları

Biyolojik aktivite	Tür adı	Kullanılan kısım	Bileşik/Ekstre	Sonuç	Kaynak
Antikanser	<i>O. chironium</i>	-	İmperatorin Heraklenin	Jurkat lösemi hücrelerinde apoptoz indüksiyonu	Appendino ve diğerleri (2004)
Anti-enflamatuvar	<i>O. hispidus</i>	Çiçek	Metanollü ekstre	IC ₅₀ = 3,32 mg/mL	Gümüşok ve diğerleri (2021)
		Toprak üstü	Metanollü ekstre	IC ₅₀ = 4,75 mg/mL	
Antimikrobiyal	<i>O. persicus</i>	-	Lineer ve açılal dihidropiranokumarinler	IC ₅₀ = 3,6 – 6,9 µg/mL (<i>Plasmodium falciparum</i> K1 suşu, <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>)	Rajabi ve diğerleri (2011)
	<i>O. hispidus</i>	Çiçek durumu	Etil asetatlı ekstre	MIC/MBC= 6,25 mg/mL (<i>E. coli</i>)	Matejić ve diğerleri (2015)
		Meyve	Etil asetatlı ekstre	MIC/MBC= 3,125/6,25 mg/mL (<i>L. monocytogenes</i>)	
Antioksidan	<i>O. hispidus</i>	Çiçek	Metanollü ekstre	IC ₅₀ = 0,40 ± 0,02 mg/mL (ABTS) IC ₅₀ = 0,50 ± 0,01 mg/mL (DPPH)	Gümüşok ve diğerleri (2021)
		Toprak üstü	Metanollü ekstre	IC ₅₀ = 0,33 ± 0,02 mg/mL (ABTS) IC ₅₀ = 0,54 ± 0,01 mg/mL (DPPH)	Gümüşok ve diğerleri (2021)
		Çiçek durumu	Etil asetatlı ekstre	IC ₅₀ = 3,167 mg/mL	Matejić ve diğerleri (2015)
		Çiçek durumu	Metanollü ekstre	IC ₅₀ = 1,157 mg/mL	Matejić ve diğerleri (2015)
		Toprak üstü	%80 Metanollü ekstre	0,08 ± 0,010 mmol TES/g (CUPRAC) 0,08 ± 0,032 mmol TES/g ekstre (ABTS) 0,03 ± 0,002 mmol TES/g ekstre (FRAP) 0,20 ± 0,040 mmol TES/g ekstre (Folin)	Alpinar ve diğerleri (2009)
		Toprak üstü	Etanollü ekstre	2,91 ± 0,11 mmol TES/g ekstre (Fosfomolibden) %78,76 ± 0,75 (β -karoten ağartma testi) 88,27 ± 0,45 mg TES/g ekstre (DPPH) 138,07 ± 1,48 mg TES/g ekstre (ABTS) 7,18 ± 0,18 mg TES/g ekstre (Nitrik oksit) 129,96 ± 3,39 mg TES/g ekstre (CUPRAC) 89,65 ± 2,37 mg TES/g ekstre (FRAP) 24,09 ± 1,64 mg EDTAes/g ekstre (Şelat oluşturma)	Sarikurkcı ve diğerleri (2017)
Enzim inhibitörü (AChE, BChE, α -amilaz, α -glukozidaz)	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Etanollü ekstre	AChE inhibitör etki= 1,16 ± 0,49 mg GALAEs/g ekstre BChE inhibitör etki= 3,98 ± 0,17 mg GALAEs/g ekstre α -amilaz inhibitör etki= 0,62 ± 0,03 mmol ACEs/g ekstre α -glukozidaz inhibitör etki= 2,70 ± 0,20 mmol ACEs/g ekstre	Sarikurkcı ve diğerleri (2017)
İnfertilite tedavisi	<i>O. hispidus</i>	Toprak üstü	Metanollü ekstre	Over dokusunda olumlu etkiler gözlenmiş ve antral folikül sayısında artış kaydedilmiştir.	Çölçimen, Arıhan, Gümüşok ve Kılıç (2020)

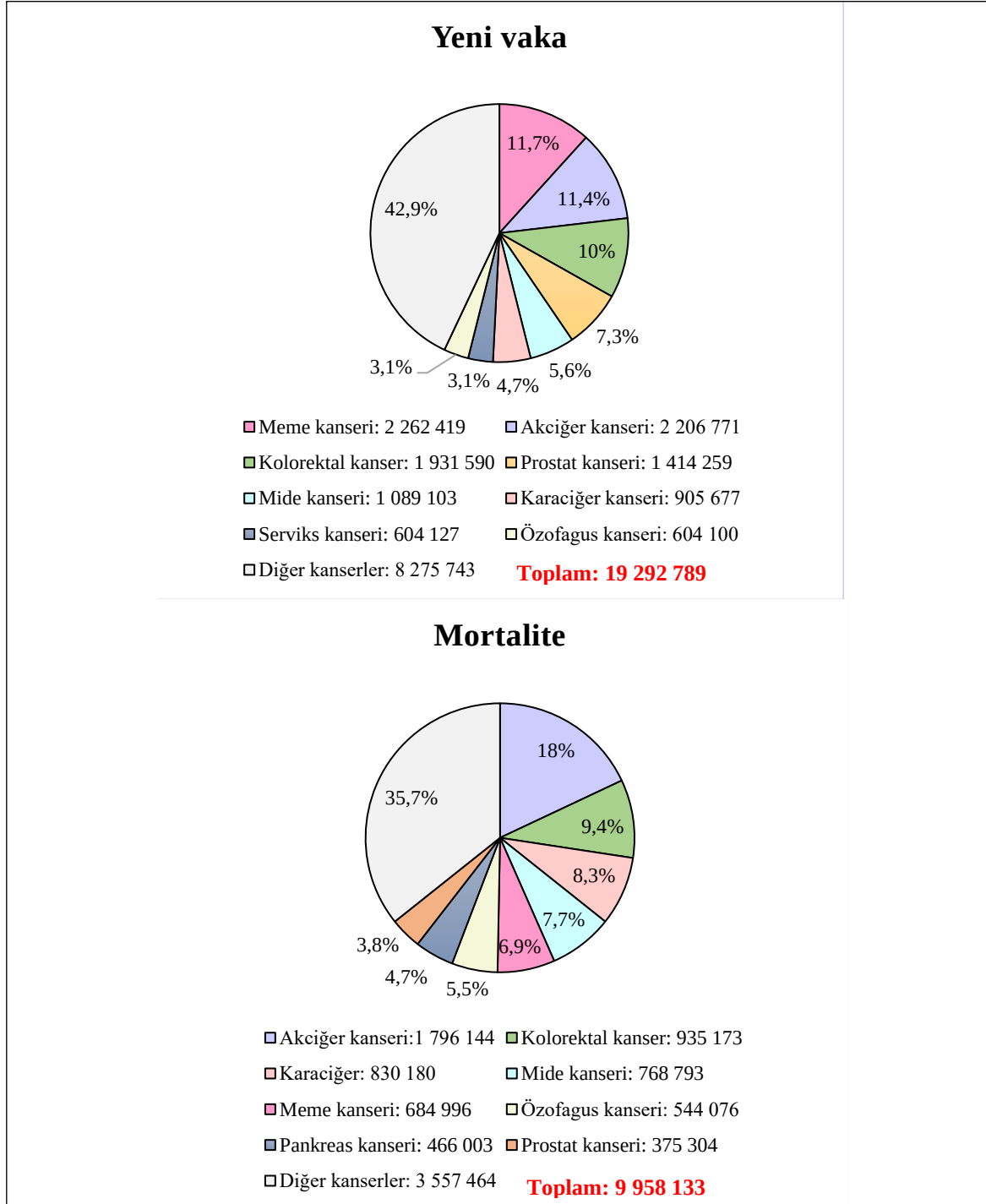
ABTS: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit; ACEs: Akarboz eşdeğeri; AChE: Asetil kolinesteraz; BChE: Bütil kolinesteraz; CUPRAC: Bakır indirgeme antioksidan gücü; DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil; FRAP: Demir indirgeme antioksidan gücü; GALAEs: Galantamin eşdeğeri; GA: Gallik asit; Qu: Kersetin; REs: Rutin eşdeğeri; TES: Troloks eşdeğeri

2.3. Kanser

Kanser, bir organizmadaki hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi, çoğalması ve olmaması gereken bir dokunun oluşması şeklinde ortaya çıkmaktadır. Tek bir organı etkileyebildiği gibi diğer organlara da metastaz yaparak etkisini gösterebilir. Kontrol edilemeyen hücre büyümesi olarak tanımlanan, anormal sinyal süreçleriyle tanınan, yaşamı tehdit eden hastalıklardan biri olan kanser, ölüm nedeni olarak kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından ikinci sırada yer almaktadır. 2018 yılında yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Raporuna göre dünya genelinde gerçekleşen her altı ölümden birinin sebebi kanserdir.

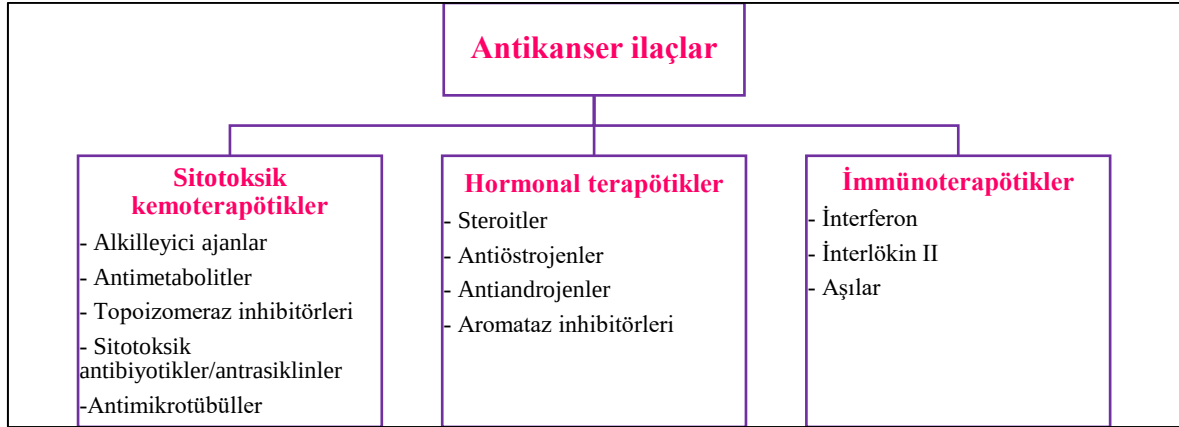
Dünyada, 2020 yılında, 19 292 789 yeni kanser vakası ve kansere bağlı 9 958 133 ölüm bildirilmiştir. Türkiye’de 2020 yılı nüfusu 84 339 067 olup, yeni kanser vaka sayısı 233 834 ve kansere bağlı ölüm sayısı 126 335 olarak raporlandırılmıştır. Günümüzde 100’den fazla kanser türü bulunmaktadır (Pavlopoulou, Spandidos ve Michalopoulos, 2015). 2020 yılında kanser türleri arasında en fazla ölüme sebep olan kanser türü akciğer kanseridir (2,21 milyon). Aynı zamanda akciğer kanseri en fazla tanı konulan kanser türleri sıralamasında ikinci sırada yer almaktadır (Ferlay ve diğerleri, 2021). 2020 yılındaki dünya geneli kanser yeni vaka ve mortalite bilgileri Şekil 2.5’de gösterilmiştir.

Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler en sık kullanılan yöntemler olmakla birlikte, hormon terapisi ve biyolojik yöntemlerin kullanılması gibi yaklaşımlardan da yararlanılmaktadır. Kanserın kişiye özel bir hastalık olması ve tedavinin kişiden kişiye farklılık göstermesi nedeniyle kesin bir tedavi yönteminden bahsetmek oldukça zordur (A Baudino, 2015). Ayrıca, ilaç tedavilerine direnç geliştirebilen kanser hücreleri çoğalmalarını devam ettirebilmekte veya sağlıklı hücrelere zarar verebilmektedir. Günümüzde tedavide kullanılan kemoterapötiklerin kanser hücrelerine karşı seçicilik özellikleri düşüktür. Tedavide kullanılan antikanser (antineoplastik) ajanların büyük bir kısmı kanser hücrelerine zarar vererek onları yok ettikleri gibi, normal hücrelere de aynı etkileri göstermektedir. Bu nedenlerle, kanser tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesi ve yeni bileşiklerin keşfedilmesi ihtiyacı önemini korumaktadır. Özellikle, spesifik-seçici antikanser ilaçların keşfi ve geliştirilmesi ile mevcut tedavi protokollerine bağlı ilaç direncinin önlenmesi, yan etkilerin azaltılması ve etkinliğin artırılması beklenmektedir (Lombardi ve diğerleri, 2017).



Şekil 2.5. 2020 yılındaki yeni kanser vakaları ve mortalite verileri; her iki cinsiyet, tüm yaşlar, dünya geneli (Ferlay ve diğerleri, 2021)

Antikanser ilaçlar, kimyasal yapılarına, etki mekanizmalarına, elde edildikleri kaynaklara ya da dokusal tahribat potansiyellerine göre sınıflandırılmaktadır. Günümüzde kullanılan antikanser ilaçların klasik kategorizasyonu Şekil 2.6'da özetlenmiştir.



Şekil 2.6. Antikanser ilaçların sınıflandırılmaları

Antineoplastiklerden sitotoksik kemoterapötikler, hücre döngüsünün herhangi bir evresinde birtakım hücresel fonksiyonların ve hücre bölünmesinin inhibisyonu ya da apoptotik ve nekrotik hücre ölümünün uyarılması gibi mekanizmalarla hücrelere zarar veren maddelerdir (Temel, 2015). Etki mekanizmalarına göre alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, topoizomeraz inhibitörleri, sitotoksik antibiyotikler ve antimikrotübüller olmak üzere alt gruplara ayrılır.

2.4. Sitotoksiste ve Kanser

Sitotoksiste, canlı hücreler üzerindeki toksik etkiyi ifade eden bir terimdir. Canlı bir hücreye sitotoksik bir bileşik uygulandığında, hücrenin zar bütünlüğünü kaybetmesi, hücre büyümesi ve çoğalmasının durması veya programlanmış hücre ölümü nedeniyle kontrolsüz ölüm gözlemlenebilir. Bugüne kadar, hücre ölümü ile ilgili olarak nekroz, apoptoz, yaşlanma ve otofaji de dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar tanımlanmıştır (Hotchkiss, Strasser, McDunn ve Swanson, 2009). Nekroz, patolojik süreçlere bağlı olarak geri dönüşü olmayan hücre hasarı ve nihai hücre ölümü ile ilişkilendirilirken, apoptoz kaspazların aktivasyonu ve membran bütünlüğünün kaybı ile karakterize edilen fizyolojik bir süreçtir. Yaşlanmış hücreler canlılığını sürdürür, ancak morfolojik değişikliklere sahiptir ve DNA sentezlemeyi sona erdirir. Besin yokluğu, DNA hasarı, oksidatif stresin artışı gibi çeşitli hücresel streslerde ise otofaji devreye girer (Galluzzi ve diğerleri, 2007). Çok hücreli organizmalarda hücre ölümü, hücresel bütünlüğün korunmasında düzenleyici bir role sahiptir ve embriyolojik gelişim de dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik süreçler için kritiktir. Ancak maddelerin neden olduğu toksiste genellikle istenmeyen bir durumdur.

Hücre ölümünün altında yatan mekanizmalar hastalık tedavisi ve toksisite mekanizmalarının anlaşılması amacıyla kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır.

Sitotoksik testleri, tarama testleri olarak kabul edilir ve bir bileşiğin hücre canlılığı ve hücrel büyüme yeteneği üzerindeki davranışı hakkında temel bilgiler sağlar. Uygun hücre kültüründe, hücre çoğalma oranı ve hücre üzerindeki toksik etki dikkate alınarak sitotoksik testleri gerçekleştirilmektedir. Sitotoksik aktivite yöntemleri tıbbi cihaz veya malzemelerde biyouyumluluk çalışmaları, ilaç keşif ve geliştirme süreçleri, kozmetiklerde toksisite değerlendirmesi, çeşitli hastalık mekanizmaları ve tedavilerinin araştırılmasında kullanılmaktadır. Sitotoksik yöntemler, antifungal ve antiviral aktivite gibi diğer farmakolojik aktivite çalışmalarında örnek konsantrasyonlarının belirlenmesinde başlangıç testi olarak da kullanılabilir (Emerce ve Taban Akça, 2023).

Sitotoksik aktivite, diğer biyolojik etkilere yönelik olan ilaçların araştırılmasında istenmeyen bir etki olarak değerlendirilmesine rağmen, sitotoksik ajanlar, birçok gelişmiş malignitede antikanser bileşikler olarak dikkate değer bir potansiyel taşımaktadır.

2.4.1. Doğal kaynaklı bileşiklerin sitotoksik etkileri

Bitki veya mikroorganizma gibi doğal kaynaklardan izole edilen ya da izolasyonun ardından yarı sentez yoluyla geliştirilen bileşikler, günümüzde kanser tedavisinde kullanılan sitotoksik ilaçların önemli bir yüzdesini teşkil etmektedir (Molinari, 2009). 1940'lerden 2000'lere kadar, dünya genelinde onaylanan ve kullanılan 155 antikanser bileşin %47'si doğal kaynaklardan izole edilen bileşikler ve bunların yarı sentetik türevleridir (Kinghorn, Chin ve Swanson, 2009; Newman ve Cragg, 2007).

1937'de Amerika Birleşik Devletleri'nde kanser araştırmalarını gerçekleştirmek ve bu araştırmaları desteklemek amacıyla ABD Ulusal Kanser Enstitüsü (The US National Cancer Institute) kurulmuştur. Bu öncü kurum, 1955 yılında Kanser Kemoterapisi Ulusal Hizmet Merkezini kurmuş ve zengin kimyasal içeriğe sahip doğal kaynaklardaki bileşiklerin antikanser etkinlik gösterebileceği düşüncesiyle bitki, deniz omurgasızları, ya da mikroorganizma kaynaklı drogları temin ederek, bu kaynaklar üzerinde prelinik çalışmalar yürütmek üzere bir ulusal kemoterapi programı başlatmıştır (Davies-Coleman ve Sunassee, 2012; Efferth ve Wink, 2010; Temel, 2015). 1960-1982 yılları arasında

yaklaşık 114.000 bitki kökenli, 180.000 mikroorganizma kökenli ve 16.000 deniz organizması kökenli bileşik, antikanser etkinlik yönünden taranmıştır. Bu taramalar sonucunda antrasiklinler, kamptotesinler, bleomisin, aktinomisin, mitomisin ve paklitaksel gibi klinik açıdan etkili bir dizi kemoterapötik ajan geliştirilmiştir (Cragg ve Newman, 2001).

Bitkilerde bulunan sekoder metabolitlerin sentez yoluyla elde edilen kemoterapötiklere kıyasla daha tolere edilebilir olması araştırmacıları tıbbi bitkilere yöneltmiştir. Bitkilerden antikanser ajanların keşfedilmesi, 1950'lerde vinka alkaloitlerinin keşfedilmesi ve podofilotoksinlerin izolasyonu ile başlamıştır.

Bitkisel kaynaklı antikanser bileşikler dört ana grupta sınıflandırılabilir: Vinka alkaloitleri, epipodofilotoksin lignanları, taksan diterpenoitleri ve kamptotesin alkaloitleri (Çizelge 2.7). Klinik kullanımı olan bitkisel kaynaklı antikanser ajanlar ise vinkristin, vinblastin, podofilotoksin, etoposet, teniposet, paklitaksel, dosetaksel, topotekan, irinotekan, homoharringtonin ve elliptinyumdur (Zishan ve diğerleri, 2017) (Şekil 2.7).

Çizelge 2.7. Başlıca bitkisel kemoterapötik ilaçlar

İlaç Sınıfı	Bileşik	Etki Mekanizması	Kaynak Bitki
Vinka alkaloitleri	- Vinblastin ve vinkristin - Vinorelbin ve vindesin (yarı sentetik türevler)	Mikrotübül inhibisyonu	<i>Catharanthus roseus</i> G. Don. (Apocynaceae) Syn: <i>Vinca rosea</i> L.
Epipodofilotoksin lignanları	- Etoposet ve teniposet (yarı sentetik podofilotoksin türevleri)	Topoizomeras inhibisyonu	<i>Podophyllum</i> L. (Berberidaceae)
Taksan diterpenoitleri	- Paklitaksel - Dosetaksel (yarı sentetik türev)	Mikrotübül inhibisyonu	<i>Taxus brevifolia</i> Nutt. (Taxaceae)
Kamptotesin alkaloitleri	- Topotekan ve irinotekan (yarı sentetik kamptotesin türevleri)	Topoizomeras inhibisyonu	<i>Camptotheca acuminata</i> Decne. (Cornaceae)

Klinik deneylerde kullanılan ilk bitkisel kökenli ajanlar “Vinka alkaloitleri”dir. Vinka alkaloitleri, vinblastin ve vinkristin, geleneksel olarak diyabete karşı kullanılan Madagaskar’a endemik *Catharanthus roseus* G. Don (Apocynaceae) bitkisinden izole edilmiştir. Oral hipoglisemik ajan araştırmaları sırasında bitki ekstrelerinin sıçanlarda beyaz kan hücresi sayısını azalttığı, kemik iliği depresyonuna neden olduğu ve lenfositik lösemiye karşı aktif olduğu bulunmuştur. Bu ajanların yarı sentetik analogları, vinorelbin ve vindesin, meme ve akciğer kanserleri, lenfomalar, ilerlemiş testis kanseri, lösemiler ve

Kaposi sarkomu dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisinde diğer kemoterapötiklerle kombine edilerek kullanılmaktadır (Cragg ve Newman, 2005).

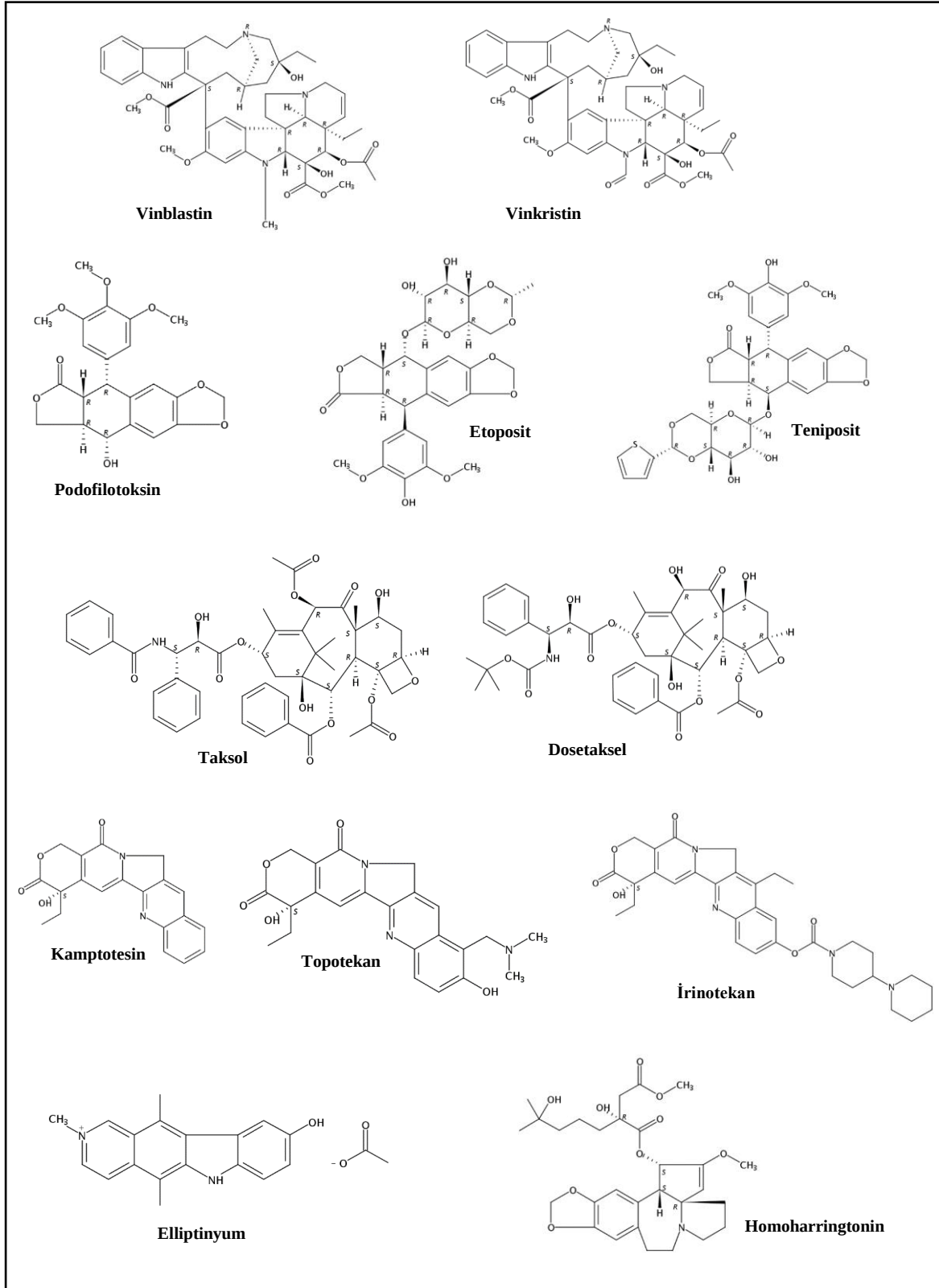
Klinik kullanımı bulunan bitkisel kaynaklı antikanser bileşiklerden diğerleri epipodofilotoksinin yarı sentetik türevleri olan “etoposit” ve “teniposit”dir. Podofilotoksin halk hekimliğinde cilt kanserleri ve siğillerin tedavisinde kullanılan *Podophyllum* L. (Berberidaceae) türlerinin köklerinden izole edilmiştir. Bu bileşik ilk olarak 1880'de izole edilmesine rağmen, yapısı 1950'lerde aydınlatılmıştır. Etoposit ve teniposit klinik olarak daha etkili ve daha az toksik türevlerdir. Bu ajanlar bronşiyal kanser, testis kanseri ve lenfomaya karşı kullanılmaktadır.

Paklitaksel (Taxol®), *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae) bitkisinin kabuklarından izole edilmiştir. Bileşiğin sudaki çözünürlüğü düşük olduğundan, çözünürlüğü yüksek ve daha etkili yarı sentetik bir türev olan dosetaksel (Taxotere®) geliştirilmiştir. Yumurtalık, meme ve küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin (KHDAK) tedavisinde kullanılan paklitakselin Kaposi sarkomuna karşı da etkinliği bulunmaktadır. Dosetaksel, paklitaksele dirençli hastalarda ve öncelikle KHDAK ve meme kanserlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Paklitaksel ve dosetaksel sitotoksik etkisini hücrenin iskeleti ve bölünme sırasında önemli görevleri bulunan mikrotübüller ile etkileşime girerek ve bu sayede mitoz bölünmeyi engelleyerek göstermektedir (Hait, Rubin, Alli ve Goodin, 2007).

Bir diğer önemli bitki kaynaklı antikanser bileşikler kamptotesin türevleridir. Kamptotesin, *Camptotheca acuminata* Decne (Cornaceae) bitkisinden izole edilmiştir. Bileşik, 1970'lerde ABD Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından klinik deneylere tabi tutulmuştur. Ancak kamptotesinin ciddi toksisitesi nedeniyle daha az toksik ve daha etkili türevleri, topotekan ve irinotekan geliştirilmiştir. Topotekan yumurtalık ve küçük hücreli akciğer kanserlerine karşı, irinotekan ise kolorektal kanserlere karşı kullanılmaktadır (Cragg ve Newman, 2005).

Homoharringtonin ve elliptinyum klinik kullanımda olan diğer bitkisel kaynaklı bileşiklerdir. Homoharringtonin *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* (Sieb ve Zucc.) Koidz. (Taxaceae) bitkisinden izole edilmiştir ve protein sentezinin inhibisyonu yoluyla etki göstermektedir. Kronik miyeloid lösemili hastaların tedavisinde kullanımı Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Apocynaceae familyasının farklı türlerinden izole

edilen elliptinyum ise Fransa'da meme kanserine karşı kullanılmaktadır (Alvandi ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.7. Klinikte kullanılan bitkisel kaynaklı antikanser bileşikler

Bitkisel kaynaklı antikanser ilaçlar hücresel etki mekanizmaları yönünden sitotoksik kemoterapötiklerden antimikrotübüller ve topoizomeraz inhibitörleri alt sınıfına aittir. Kamptotesinler ve epipodofilotoksinler DNA'nın ayrılışında ve yeniden ligasyonunda rol oynayan topoizomeraz enzimlerini inhibe eder. Vinka alkaloidleri ve taksanlar ise mikrotübüllere bağlanarak mitoz bölünmeyi inhibe ederek sitotoksik ve antikanser etki gösterir (Hait ve diğerleri, 2007; Risinger, Giles ve Mooberry, 2009).

2.4.2. Sitotoksik aktivite yöntemleri

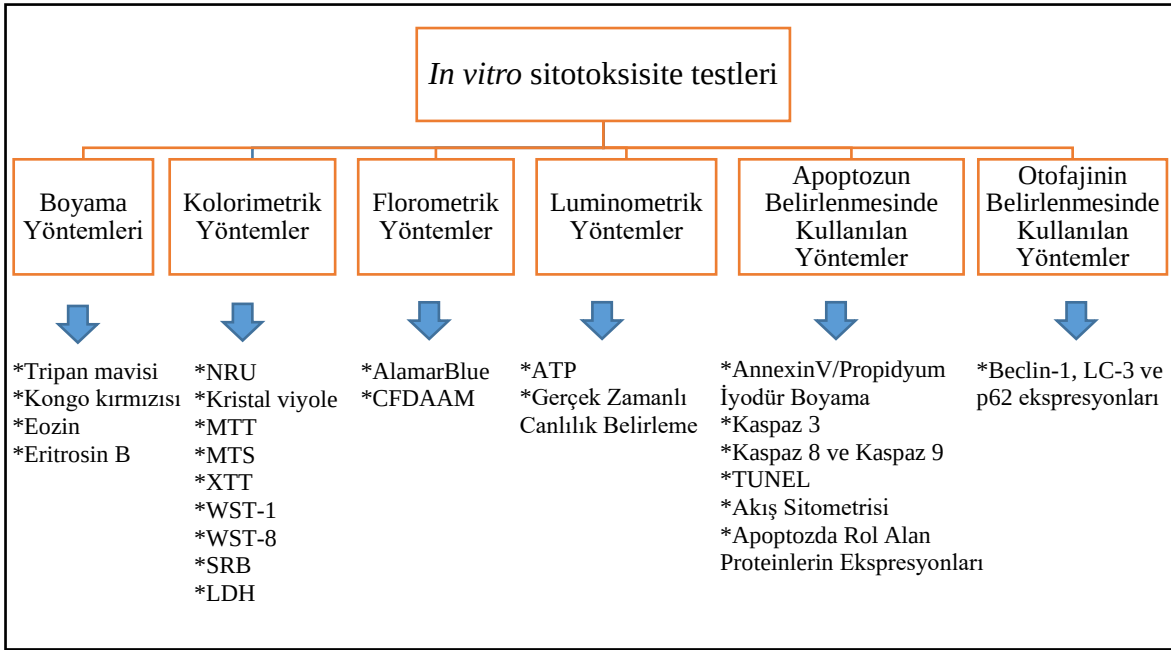
Hücre ölümüyle ilgili parametrelerin belirlenmesi amacıyla *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* yöntemler kullanılabilir. Sitotoksik test sistemleri ile hücresel hasarın morfolojik olarak gözlemlenmesi ve ölçümü, hücre büyümesinin ve hücresel metabolizmadaki herhangi bir değişikliğin ölçümü gerçekleştirilmektedir (Riss ve Moravec, 2004). Son yıllarda sitotoksitenin değerlendirmesinde *in vitro* yöntemler ön plandadır. *In vitro* sitotoksikite testlerinde bir bileşiğin toksisite potansiyelinin belirlenmesinde izole doku/organ numuneleri, hücre kültürleri veya hücre altı modelleri kullanılır. Sitotoksik aktivite için en uygun yaklaşım hücre kültürüdür. Hücre temelli sitotoksikite çalışmaları, gerek uygulama kolaylığı, gerekse *in vivo* çalışmalarda elde edilen verilerle uyum göstermesi sebebiyle, hayvan deneylerine alternatif olarak ortaya çıkmış ve laboratuvarlarda sıkça tercih edilir hale gelmiştir (Riss ve Moravec, 2006).

Hücre kültürü, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, özel olarak tasarlanmış kaplarda ve steril koşullarda, laboratuvar ortamındaki ısı, nem, besin maddeleri gibi çevresel koşulların kontrol edilmesi suretiyle yaşatılmasıdır. Bir canlı organizmadan (insan dahil) alınan hücrelerin yapay bir ortamda canlı tutulması ve herhangi bir doku veya organdan alınan hücrelerin deneysel araştırmalarda kullanılması söz konusu olduğundan, organizmaya girişimsel olarak gerçekleştirilen çalışmalara kıyasla dikkate alınması gereken birçok etik kaygı ortadan kalkmakta, dolayısıyla hücre kültürü çalışmaları bu bağlamda daha çok tercih edilmektedir (Zucco, Angelis ve Stammati, 1998). Hücre bazlı deneyler, bileşiklerin hücre proliferasyonunu etkileyip etkilemediği ve sitotoksik etki gösterip göstermediği hakkında bilgi verir. Ayrıca, test edilen biyolojik aktivite ne olursa olsun, tüm hücre temelli testler için deney sırasında veya sonunda kaç adet canlı/ölü hücre bulunduğunu bilmek önemlidir. Bu nedenle, biyolojik aktivite çalışmalarının birçok aşaması için hücre canlılık testleri esastır.

Sitotoksosite deneylerinde, hücre yapısını veya fonksiyonlarını bozarak hücre ölümüne neden olan bileşiklerin, etkilerini gösterdikleri konsantrasyon, doz-cevap ilişkisi, etki mekanizması ve zaman-etki ilişkisi hakkında veriler elde edilir.

In vitro sitotoksosite testleri

Hücre canlılığının ve sitotoksitenin belirlenmesinde kullanılan yöntemler başlıca boyama, kolorimetrik, florometrik, luminometrik yöntemler, apoptozun belirlenmesi için kullanılan teknikler ve otofajinin belirlenmesi için kullanılan teknikler olarak sınıflandırılabilir (Adan, Kiraz ve Baran, 2016; Coder, 2001; Stoddart, 2011). *In vitro* sitotoksosite testleri Şekil 2.8’te gösterilmiştir.



Şekil 2.8. *In vitro* sitotoksosite testleri

Çalışmalarımız sırasında hücre canlılığının belirlenmesinde boyama yöntemlerinden tripan mavisi yöntemi; sitotoksitenin belirlenmesinde ise kolorimetrik yöntemlerden MTT testi kullanılmıştır. Kullanılan yöntemlerle ilgili genel bilgiler alt başlıklar halinde sunulmuştur:

Tripan mavisi

Kültüre edilmiş hücrelerde hücre sayısını ve canlılık yüzdesini hesaplamak için en sık kullanılan boyama yöntemlerindendir. Tripan mavisi 3,3'-((3,3'-dimetil(1,1'-bifenil))-4,4'-diyl)bis(azo))bis(5-amino-4 hidroksi-2,7-naftalendisülfonik asit) tetrasodyum tuzudur. Tripan mavisi ile boyama yöntemi alkaloitler, kumarinler, flavonoitler ve saponinler gibi sekonder metanolitlerin toksisite değerlendirmesinde kullanılabilir (Kumar, Ramakrishnaiah, Krishna ve Radhika, 2014; Tiwary, Bihani, Kumar, Chakraborty ve Ghosh, 2015).

Tripan mavisi, ölü hücreleri seçici olarak boyayabilen negatif yüklü bir boyadır. Hücre süspansiyonu tripan mavisi boya ile seyreltilir ve renksiz canlı hücreler, ışık mikroskobu analizi altında bir hemositometre ile sayılır. Hücre zarı bütünlüğü sağlam olan canlı hücrelerin aksine tripan mavisi, ölü hücrelerde gözenekli hücre zarından geçerek sitoplazmaya girer ve bu hücreler mavi renge sahiptir. Canlı hücreler küçük, yuvarlak ve parlak görünürken ölü hücreler şişmiş ve koyu mavi renkte görünür. Hücre sayımında hemositometre kullanılarak orijinal hücre süspansiyonundaki mililitre başına düşen canlı hücre sayısı ve yüzde hücre canlılığı hesaplanır.

MTT testi

MTT testi, hücre canlılığı ve proliferasyonunun izlenmesi ve sitotoksitenin belirlenmesi amacıyla kullanılan en yaygın kolorimetrik yöntemlerdendir. Hücre canlılığı testlerinin altın standardı olarak adlandırılan MTT testi, 1983'te Mosmann tarafından geliştirilmiştir (Van Tonder, Joubert ve Cromarty, 2015).

MTT sarı renkli bir formazan tuzudur. Deneyin esası canlı hücrelerde salgılanan mitokondriyal NAD(P)H'ye bağlı oksidoredüktaz enzimlerinin MTT'yi suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine dönüştürmesidir (Meerloo, Kaspers ve Cloos, 2011). MTT pozitif yüklü bir bileşiktir ve ökaryotik hücrelerin zarından kolayca geçerek hücre içinde indirgenebilir. İndirgeme reaksiyonu sonucu oluşan formazan suda çözünmez ve ortamda mor renkli kristaller halinde çöker. Bu kristaller, DMSO ilavesi ile çözülür. Mor rengin yoğunluğu, hücre canlılığı ile orantılıdır. Canlı olmayan hücreler düşük MTT dönüştürme reaksiyon hızına sahiptir. Hücre canlılığı, 540 ile 720 nm dalga boyu

aralığında spektrofotometre ile ölçülerek belirlenir. Uygulama yapılmayan hücrelerin canlılığı %100 kabul edilerek tedavi edilen hücrelerin canlılığı, bu hücrelere göre yüzde (%) olarak belirlenir. IC₅₀ değerleri istatistiksel olarak hesaplanabilir.

Ölçüm sonucunda oluşan sinyal miktarı, hücre tipi, tetrazolyum tuz konsantrasyonu, canlı hücre sayısı ve metabolik kapasite, ortam içeriği, pH, plak veya kuyucuk yapıları gibi parametrelerle doğrudan ilişkilidir. MTT deneyi, farklı bitki ekstraktlarının ve fenolik, flavonoid, kumarin, terpenoid, seskiterpen lakton, alkaloid, peptid, makrolit ve lipid yapıları dahil olmak farklı fitokimyasalların sitotoksik aktivitelerinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Ayaz ve diğerleri, 2020; Azizi ve diğerleri, 2021; Emerce, Gürbüz, Doğan, Kadioglu ve Süntar, 2019; Fort ve diğerleri, 2018; Ghalkhani, Moradkhani, Soleimani ve Dastan, 2021; Grafakou, Barda, Karikas, Heilmann ve Skaltsa, 2021; Khan, Al-Fadhli ve Tilvi, 2021; Wang ve diğerleri, 2020). Bu deney, potansiyel ilaç moleküllerinin *in vitro* değerlendirilmesi için uygundur, ancak bu yöntemle sitotoksik ve sitostatik ajanları ayırt etmek mümkün değildir. MTT reaktif hücreler için toksik olabileceğinden uzun süreli çalışmalar için uygun değildir (Adan ve diğerleri, 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Bitki materyalleri

Türkiye florasında kayıtlı türler *Echinophora orientalis* Hedge & Lamond, *Lecokia cretica* (Lam.) DC., *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb., *Pimpinella isaurica* V.A.Matthews subsp. *isaurica*, *Smyrnum connatum* Boiss. & Kotschy ve *Torilis ucranica* Spreng. doğal yayılış gösterdiği bölgelerden çiçeklenme döneminde toplanmıştır (Resim 3.1). Bitkilerin toplama kayıtlarına ait detaylı bilgiler Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışılan bitkilerin lokalite, tarih, teşhis eden araştırmacı ve herbaryum numarası bilgileri

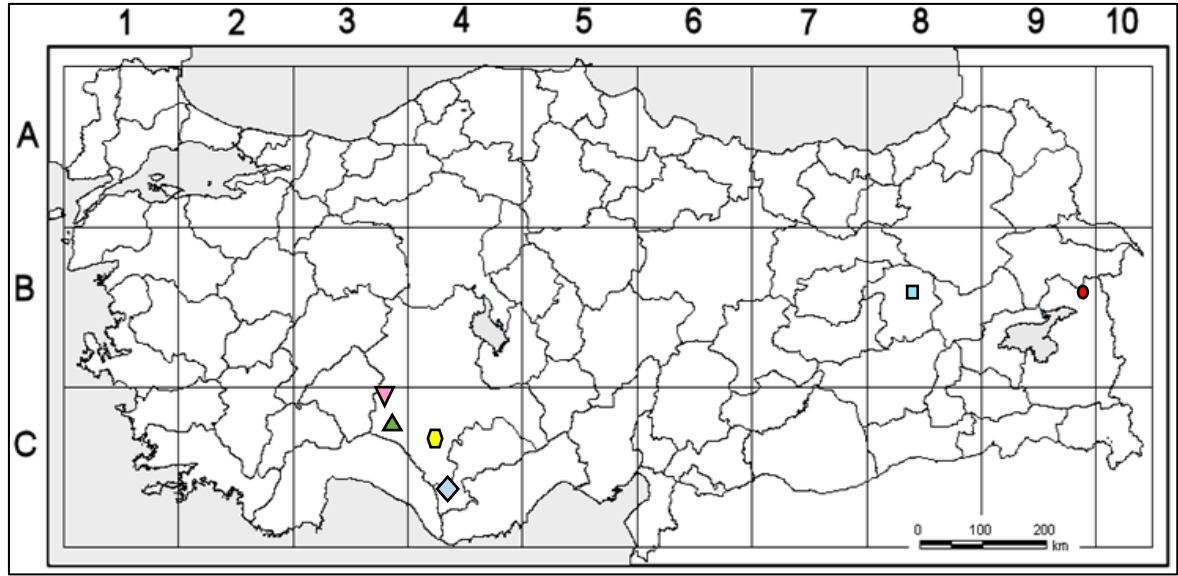
Latince Bitki Adı / Türkçe Bitki Adı	Lokalite	Tarih	Teşhis eden araştırmacı	Herbaryum no
<i>Echinophora orientalis</i> Hedge & Lamond / Çördük	Van-Ağrı yolu Muradiye mevkii	Temmuz, 2020	Prof. Dr. Osman Tugay*	KNYA Herb.No: 30.040
<i>Lecokia cretica</i> (Lam.) DC. / Eşek baldıranı	Kuruca Köyü, Merkez, Bingöl	Nisan, 2020	Prof. Dr. Rıdvan Polat**	RP-1823***
<i>Opopanax hispidus</i> (Friv.) Griseb. / Kaymacık	Seydişehir, Konya	Temmuz, 2020	Prof. Dr. Osman Tugay*	KNYA Herb.No: 30.041
<i>Pimpinella isaurica</i> V.A.Matthews subsp. <i>isaurica</i> / Hanifecikotu	Ermenek, Karaman	Ağustos, 2020	Prof. Dr. Osman Tugay*	KNYA Herb.No: 29.920
<i>Smyrnum connatum</i> Boiss. & Kotschy	Seydişehir, Konya	Temmuz, 2020	Prof. Dr. Osman Tugay*	KNYA Herb.No: 30.043
<i>Torilis ucranica</i> Spreng. / Çayır dercikotu	Hadim, Konya	Mayıs, 2020	Prof. Dr. Osman Tugay*	KNYA Herb.No: 30.042

KNYA: Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu

* Selçuk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

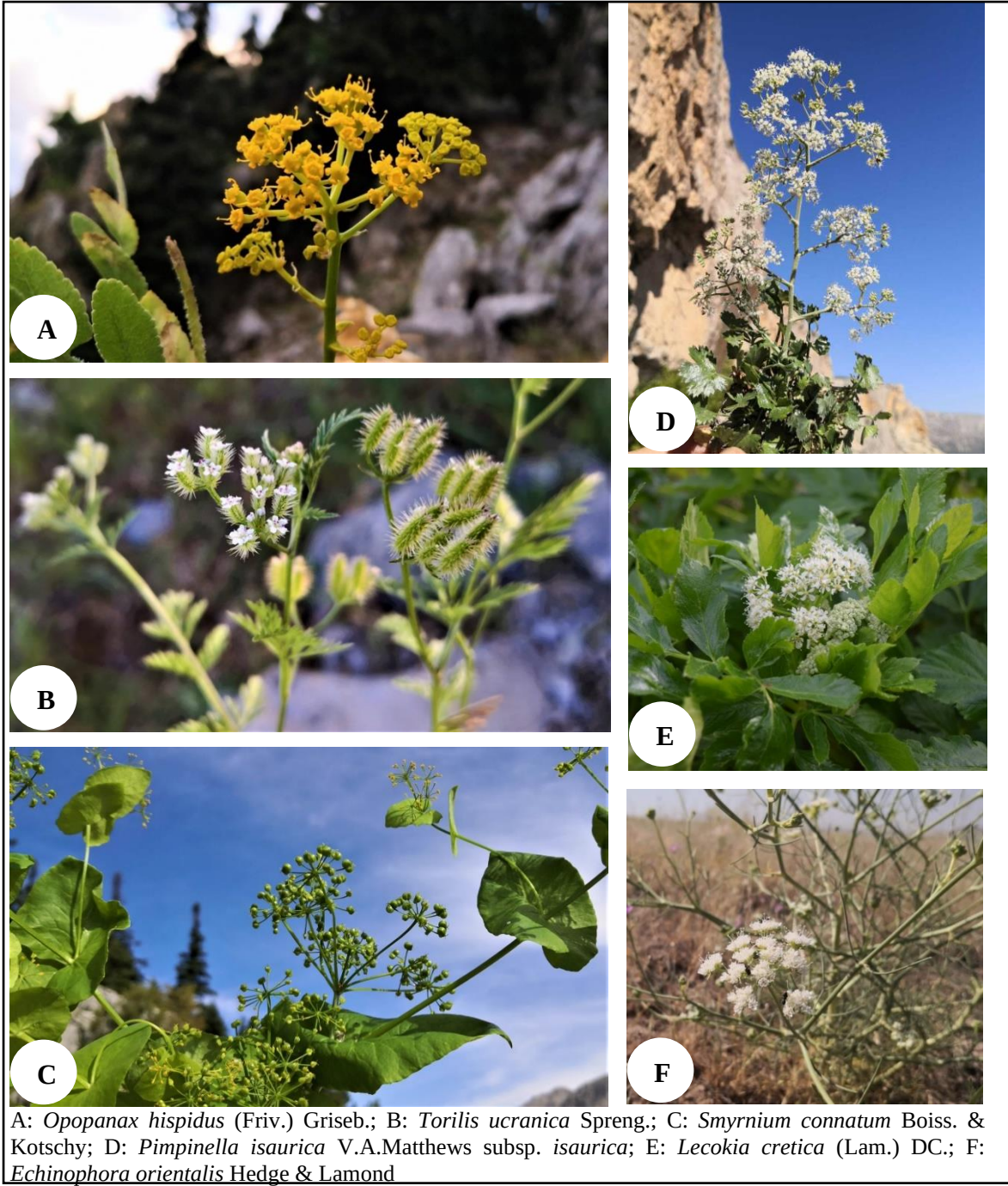
** Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Peyzaj Mimarlığı Bölümü Öğretim Üyesi

*** Toplayıcı numarası



● *E. orientalis*; ■ *L. cretica*; ▲ *O. hispidus*; ◆ *P. isaurica*; ▼ *S. connatum*; ● *T. ucranica*

Şekil 3.1. Çalışma materyallerinin toplandığı lokaliteler



Resim 3.1. Bitki materyalleri (Fotoğraf: Prof. Dr. Osman Tugay ve Prof. Dr. Rıdvan Polat)

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Sitotoksik aktivite deneylerinde ve fitokimyasal analizlerde kullanılan cihazlar Çizelge 3.2’de listelenmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmalarda kullanılan cihazlar

Kullanılan cihazlar	Marka
Derin dondurucu	Daihan Scientific
Fraksiyon toplayıcı	Büchi C-660
İnverted Mikroskop	Zeiss Axio Vert A1
Karbondiyoksit İnkübatörü	Esco
Laminar akımlı kabin	Telstar Bio II Advance
Liyofilizatör	Telstar LyoQuest
Mikroplaka okuyucu	Molecular Devices
Neubauer lamı	Marienfeld Superior
NMR Spektrometresi	Bruker AM
Otoklav	HMC Hirayama Hiclave HV
Rotavapor	Heidolph VV2000
Santrifüj cihazı	Nüve CN 180
Su banyosu	Miprolab
Ultrasonik banyo	Isolab
UV Lambası	Camag

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve sarf malzemeler

Çalışmalar süresince kullanılan kimyasal madde ve çözücülere ait bilgiler Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmalarda kullanılan kimyasal madde ve çözücüler

Madde/Çözücü	Temin edildiği firma
96 çukurlu plaka	Grainer Bio-one Cellstar 655 180
Cryo vial	Bio-render
Diklorometan	Tekkim
DMSO	Merck Emplura
Dötoro DMSO	Sigma-Aldrich 2206-27-1
Dötoro metanol	Fisher Scientific 811-98-3
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	Multicell 319-051-CL
Etanol	Merck
Etil asetat	Tekkim
Fenol kırmızısı içermeyen DMEM	Multicell 319-051-CL
Fetal Bovine Serum (FBS)	Gibco 10270-106
İTK plağı	Sigma Aldrich
Kloroform	İsolab 9100332501
L-Glutamin	Biological Industries 03-020-1B
Metanol	İsolab 9470462500
Mikropipet uç seti	Tarsons
MTT	İsolab 9470462500
<i>n</i> -Butanol	Sigma 537993
<i>n</i> -Hekzan	İsolab 930.027.2501
Penisilin-Streptomisin	Cegrogen biotech P0100-790
Phosphate Buffered Saline (PBS)	Capricorn Scientific PBS-2A
RP Silikajel (Lichroprep) C18 Plak	Merck M109303.0100
<i>s</i> -Hekzan	İsolab 9120122501
Silika jel	Merck 107734
Silika jel İTK plağı	Merck 1055540001
Steril falkon	Nest 601002
Steril serolojik pipet	Lp Italiana Spa
Steril sıvı aktarım kabı	İsolab 006.13.030
Sülfürik asit	Merck
T25 hücre kültürü kapları	Nest 707001
Tripan mavisi	Sigma-Aldrich T8154
Tripsin-EDTA solüsyonu	Multicell 325-043-CL
Vanilin	Sigma-Aldrich 121-33-5

3.2. Yöntem

3.2.1. Fitokimyasal çalışmalar

Ekstraksiyon

Ön denemeler için ekstrelerin hazırlanması

Toplanan bitki örnekleri gölgede kurutuldu. Ön aktivite deneylerinde kullanılmak üzere kurutulan örneklerin tüm bitki kısımları (çiçekli toprak üstü ve toprak altı) orta büyüklükte toz edildi ve 10'ar g tartıldı. Ekstraksiyon işleminde geniş polarite aralığındaki hem polar hem de nonpolar bileşiklerin ekstre edilebilmesi amacıyla çözücü olarak metanol kullanıldı. Örnekler 200 mL metanol ile oda sıcaklığında 24 saat maserasyona bırakıldı. Ekstreler filtre kağıdından süzülerek örneklerin üzerine taze çözücü ilave edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Elde edilen ekstreler birleştirilerek alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve tamamen kurumaları amacıyla vakumlu desikatörde bekletildi. Ekstreler tartılarak miktarları ve yüzde verimleri hesaplandı (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Bitkilerden hazırlanan metanollü ekstrelerin miktarları (g) ve verimleri (%)

Bitki adı	Ekstre miktarı (g)	Ekstre verimi (%a/a)
<i>Echinophora orientalis</i>	1,49	14,91
<i>Lecokia cretica</i>	2,34	24,59
<i>Opopanax hispidus</i>	1,18	16,63
<i>Pimpinella isaurica subsp. isaurica</i>	2,02	20,69
<i>Smyrniium connatum</i>	1,10	10,79
<i>Torilis ucranica</i>	1,11	11,21

L. cretica, *O. hispidus* ve *P. isaurica subsp. isaurica* bitkilerinin metanollü ekstrlerinin test edilen tüm kanser hücre hatlarında sitototoksik aktivite göstermeleri nedeniyle, çalışmalara bu 3 tür üzerinden devam edilmiştir.

Ana ekstrelerin hazırlanması

Çizelge 3.1’de verilen toplama şartları dikkate alınarak (lokasyon ve çiçeklenme dönemi) *L. cretica*, *O. hispidus* ve *P. isaurica* subsp. *isaurica* bitkileri için arazi çalışmaları 2021 yılı içinde tekrar yapılmış ve böylelikle, ileri çalışmalar için bitki materyallerinin miktarları artırılmıştır.

L. cretica’nın ana ekstresinin hazırlanması

L. cretica’nın tüm bitki kısımları gölgede kurutuldu ve orta büyüklükte toz edildi. 627,9 g toz örnek üzerine 5 L metanol ilave edilerek mekanik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 24 saat maserasyona bırakıldı. Ekstre filtre kağıdından süzülerek kalan örnek üzerine taze çözücü ilave edildi. Bu işlem 5 kez tekrarlandı. Elde edilen ekstreler birleştirilerek alçak basınç altında 40°C’de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı (**LC MeOH**: 127,74 g; verim: %20,34).

O. hispidus’un ana ekstresinin hazırlanması

O. hispidus’un tüm bitki kısımları gölgede kurutuldu ve orta büyüklükte toz edildi. 1300 g toz örnek üzerine 10 L metanol ilave edilerek mekanik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 24 saat maserasyona bırakıldı. Ekstre filtre kağıdından süzülerek kalan örnek üzerine taze çözücü ilave edildi. Bu işlem 5 kez tekrarlandı. Elde edilen ekstreler birleştirilerek alçak basınç altında 40°C’de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı (**OH MeOH**: 202,18 g; verim: %15,55).

P. isaurica’nın ana ekstresinin hazırlanması

P. isaurica’nın tüm bitki kısımları gölgede kurutuldu ve orta büyüklükte toz edildi. 341,2 g toz örnek üzerine 3 L metanol ilave edilerek mekanik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 24 saat maserasyona bırakıldı. Ekstre filtre kağıdından süzülerek kalan örnek üzerine taze çözücü ilave edildi. Bu işlem 5 kez tekrarlandı. Elde edilen ekstreler birleştirilerek alçak basınç altında 40°C’de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı (**Pİ MeOH**: 83,18 g; verim: %24,38).

Alt ekstrelerin hazırlanması

L. cretica, *O. hispidus* ve *P. isaurica* subsp. *isaurica*'nın metanollü ekstreleri distile su içinde süspande edilerek sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle bir ayırma hunisinde oda sıcaklığında sırasıyla *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve suyla doyurulmuş *n*-butanol ile ekstre edildi. Bu kademede her bir çözücü ekstraksiyonunda, ekstraksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile kontrol edilerek bir sonraki aşamaya geçildi. Elde edilen ekstreler alçak basınç altında rotavaporda 40°C'de yoğunlaştırılıp kurutuldu. Kalan sulu ekstreler rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra liyofilizatörde kurutuldu (Şekil 3.2-3.4).

L. cretica 'nın alt ekstrelerinin hazırlanması

LC MeOH ekstresi 300 mL distile suda süspande edilerek ayırma hunisinde sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle 300 mL *n*-hekzan ile ekstre edildi. Bu işlem 14 kez tekrar edildi. Birleştirilen *n*-hekzan ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *L. cretica* *n*-hekzan alt ekstresi elde edildi (**LCNH**: 27,67 g, verim: %21,66).

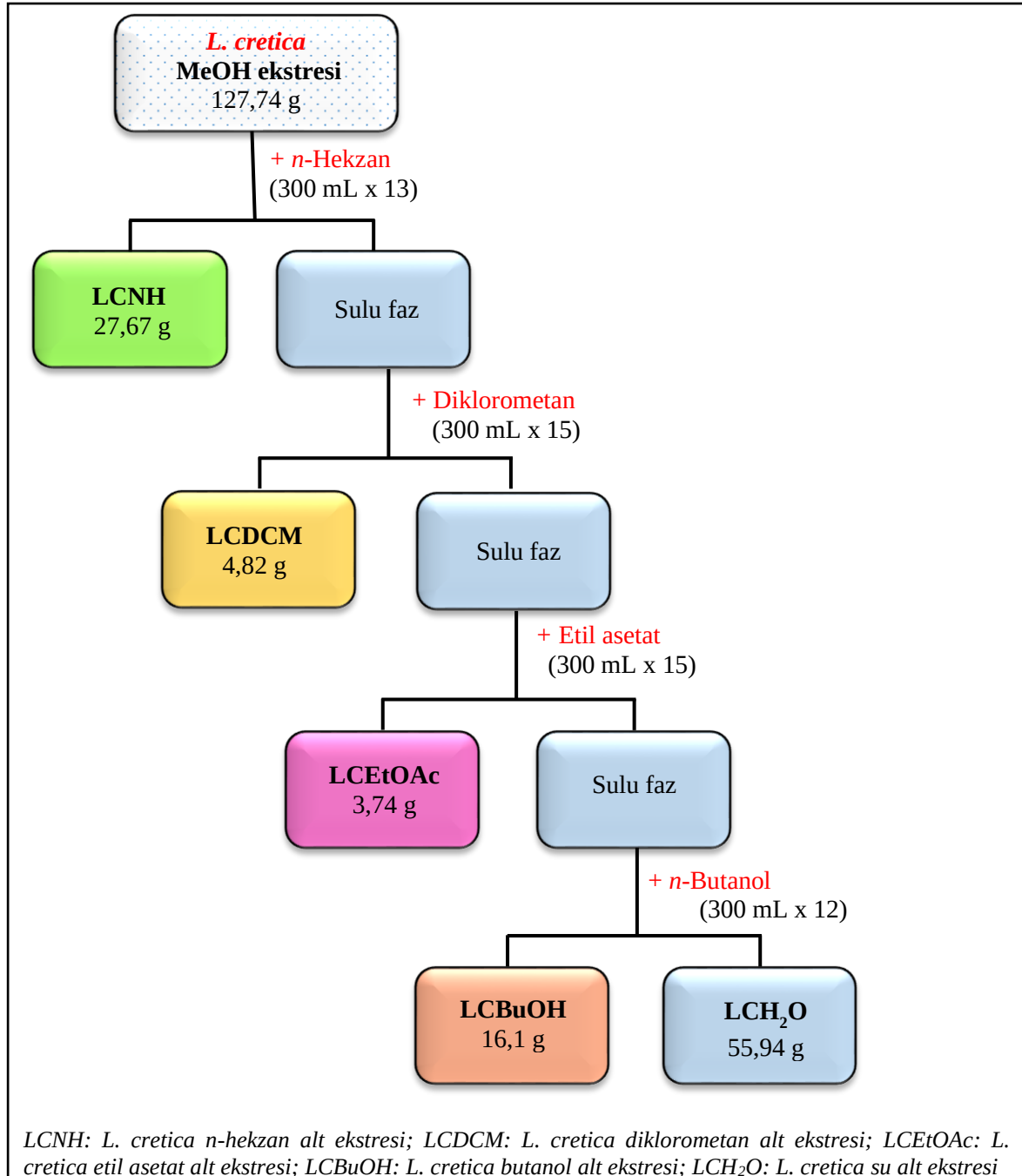
n-Hekzan ile ekstraksiyon sonunda kalan sulu faz ayırma hunisinde 300 mL diklorometan ile ekstre edildi. Bu işlem 15 kez tekrar edildi. Birleştirilen diklorometan ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *L. cretica* diklorometan alt ekstresi elde edildi (**LCDCM**: 4,82 g, verim: %3,77).

Diklorometan ile ekstraksiyon sonunda kalan sulu faz 300'er mL etil asetat ile ayırma hunisinde 13 kez ekstre edildi. Birleştirilen etil asetat ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *L. cretica* etil asetat alt ekstresi elde edildi (**LCEtOAc**: 3,74 g, verim: %2,93).

Etil asetat ile ekstraksiyon sonunda kalan sulu faz ayırma hunisinde 300'er mL suyla doyurulmuş *n*-butanol ile ayırma hunisinde 12 kez ekstre edildi. Birleştirilen *n*-butanol ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *L. cretica* *n*-butanol alt ekstresi elde edildi (**LCBuOH**: 16,1 g, verim: %12,60).

Son olarak kalan sulu faz alçak basınç altında 40°C’de yoğunlaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu (**LCH₂O**: 55,94 g, verim: %43,79).

L. cretica’nın metanollü ekstresinden sıvı-sıvı partitasyon tekniği ile alt ekstrelerin hazırlanması Şekil 3.2’de özetlenmiştir.



Şekil 3.2. *L. cretica*’nın alt ekstrlerinin hazırlanması

O. hispidus'un alt ekstrelerinin hazırlanması

OH MeOH ekstresi 400 mL distile suda süspande edilerek ayırma hunisinde sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle 400 mL *n*-hekzan ile ekstre edildi. Bu işlem 16 kez tekrar edildi. Birleştirilen *n*-hekzan ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *O. hispidus* *n*-hekzan alt ekstresi elde edildi (**OHNH**: 31,27 g, verim: %15,47).

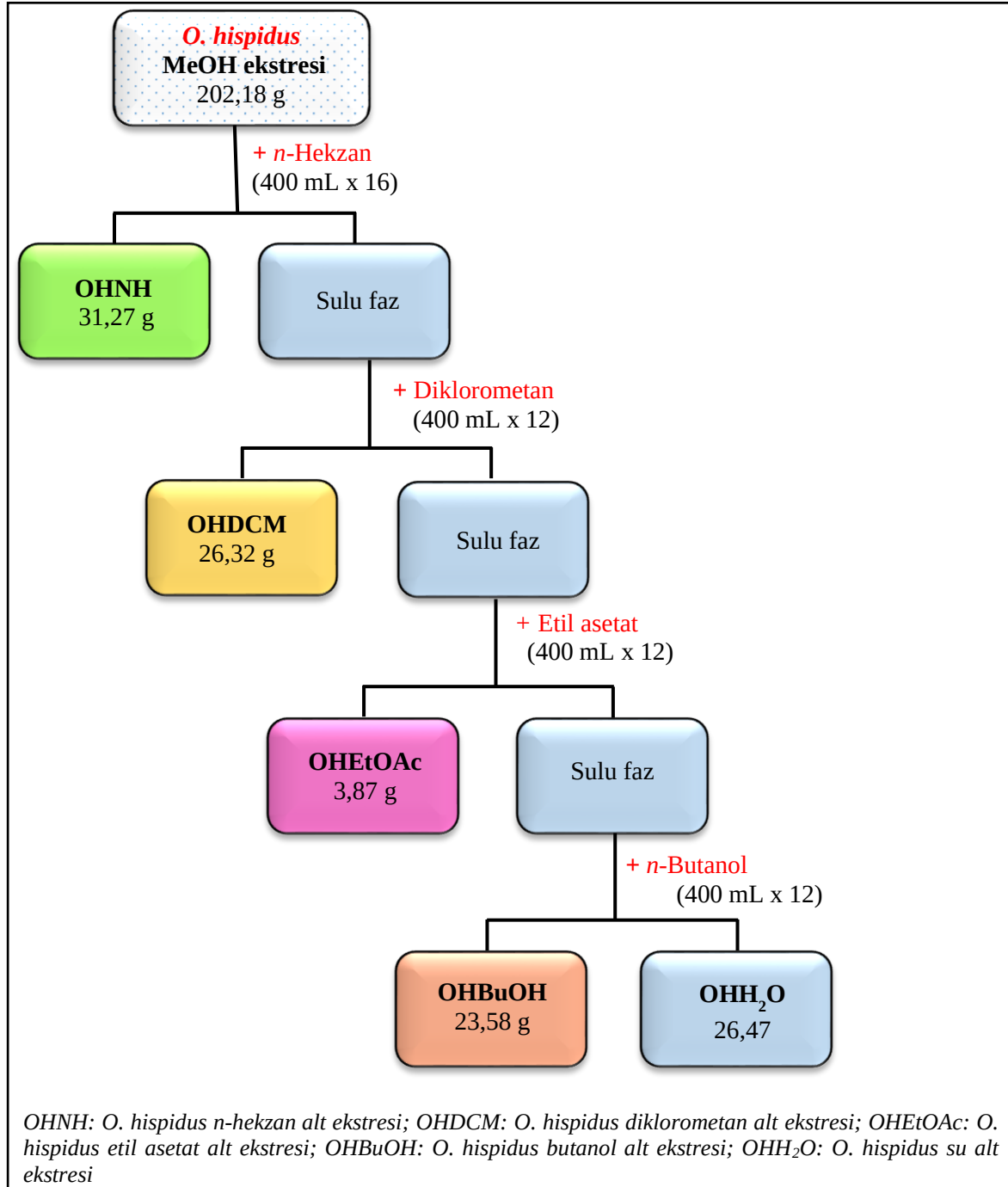
n-Hekzan ile ekstraksiyon sonrası kalan sulu faz ayırma hunisinde 400 mL diklorometan ile ekstre edildi. Bu işlem 12 kez tekrar edildi. Birleştirilen diklorometan ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *O. hispidus* diklorometan alt ekstresi elde edildi (**OHDCM**: 26,32 g, verim: %13,02).

Diklorometan ile ekstraksiyon sonrasında kalan sulu faz 400'er mL etil asetat ile ayırma hunisinde 12 kez ekstre edildi. Birleştirilen etil asetat ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *O. hispidus* etil asetat alt ekstresi elde edildi (**OHETAc**: 3,87 g, verim: %1,91).

Etil asetat ile ekstraksiyon sonrasında kalan sulu faz ayırma hunisinde 400'er mL suyla doyurulmuş *n*-butanol ile ayırma hunisinde 12 kez ekstre edildi. Birleştirilen *n*-butanol ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *O. hispidus* *n*-butanol alt ekstresi elde edildi (**OHBuOH**: 23,58 g, verim: %11,66).

Son olarak kalan sulu faz alçak basınç altında 40°C'de yoğunlaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu (**OH_{H2O}**: 26,47 g, verim: %13,09).

O. hispidus'un metanollü ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği ile alt ekstrelerin hazırlanması Şekil 3.3'de özetlenmiştir.



Şekil 3.3. *O. hispidus*'un alt ekstrelerinin hazırlanması

P. isaurica subsp. *isaurica* 'nın alt ekstrelerinin hazırlanması

Pİ MeOH ekstresi 250 mL distile suda süspande edilerek ayırma hunisinde sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle 250 mL *n*-hekzan ile ekstre edildi. Bu işlem 22 kez tekrar edildi. Birleştirilen *n*-hekzan ekstreleri alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda kuruluğa kadar

yoğunlaştırıldı ve *P. Isaurica* subsp. *isaurica* *n*-hekzan alt ekstresi elde edildi (**PİNH**: 33,77 g, verim: %40,60).

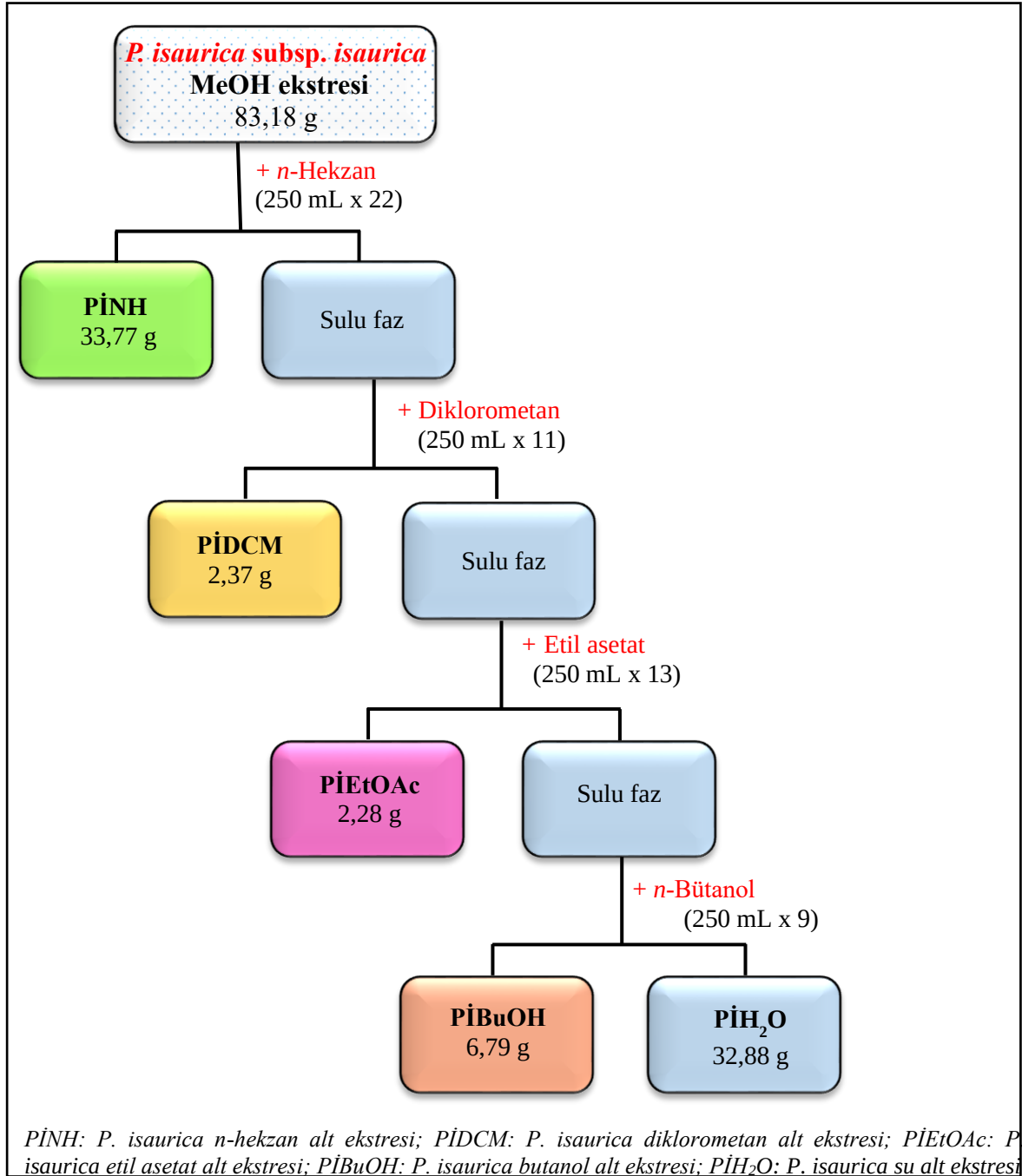
n-Hekzan ile ekstraksiyon sonrası kalan sulu faz ayırma hunisinde 250 mL diklorometan ile ekstre edildi. Bu işlem 11 kez tekrar edildi. Birleştirilen diklorometan ekstraktları alçak basınç altında 40°C’de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *P. isaurica* subsp. *isaurica* diklorometan alt ekstresi elde edildi (**PİDCM**: 2,37 g, verim: %2,85).

Diklorometan ile ekstraksiyon sonrasında kalan sulu faz 250’şer mL etil asetat ile ayırma hunisinde 13 kez ekstre edildi. Birleştirilen etil asetat ekstraktları alçak basınç altında 40°C’de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *P. isaurica* subsp. *isaurica* etil asetat alt ekstresi elde edildi (**PİEtOAc**: 2,28 g, verim: %2,74).

Etil asetat ile ekstraksiyon sonrasında kalan sulu faz ayırma hunisinde 250’şer mL suyla doyurulmuş *n*-butanol ile ayırma hunisinde 9 kez ekstre edildi. Birleştirilen *n*-butanol ekstraktları alçak basınç altında 40°C’de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı ve *P. isaurica* subsp. *isaurica* *n*-butanol alt ekstresi elde edildi (**PİBuOH**: 6,79 g, verim: %8,16).

Son olarak kalan sulu faz alçak basınç altında 40°C’de yoğunlaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu (**PİH₂O**: 32,88 g, verim: %39,53).

P. isaurica subsp. *isaurica*’nın metanollü ekstresinden sıvı-sıvı partitasyon tekniği ile alt ekstraktların hazırlanması Şekil 3.4’de özetlenmiştir.



Şekil 3.4. *P. isaurica subsp. isaurica* 'nın alt ekstrelerinin hazırlanması

Kromatografik yöntemler

Düzlemsel kromatografik yöntemler

İnce tabaka kromatografisi (İTK)

Ayırım ve izolasyon amacıyla gerçekleştirilen kromatografi çalışmalarının tümünde normal faz (Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, Merck, 5554) ve ters faz (Kieselgel 60 RP-18 F₂₅₄S, 0.2 mm, 5559, Merck) silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar kullanıldı. Plaklara ince cam kapiler yardımıyla, nokta şeklinde veya 0,5 cm çizgiler halinde plağın 1 cm yukarisından ve 0,5 cm aralıklarla numune tatbik edildi. Plaklar uygun mobil faz sistemleri bulunduran kromatografi tankında oda sıcaklığında 7-10 cm mesafesinde sürüklendi. Sürüklenme tamamlandıktan sonra UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm’de incelenen plaklarda floresan veren maddeler tespit edildi. Ardından vanilin/H₂SO₄ belirteci (Vanilin’in derişik sülfürik asit içindeki %1’lik çözeltisi) püskürtülerek 110°C’de 5 dakika ısıtılarak lekeler belirlendi.

Preparatif ince tabaka kromatografisi (Prep. İTK)

Kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlarda polariteleri birbirinden farklı olan bileşiklerin ayırımı veya saflaştırılmasında preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılmıştır.

İşleme başlamadan önce uygun solvan sistemi seçimi için İTK ile denemeler yapıldı. Ardından silika jel kaplı hazır alüminyum plaklara uygun çözücüde çözünmüş numune cam kapiler yardımıyla plağın alt tarafından 5 cm yükseklikteki start çizgisine bant halinde uygulandı. Tatbik kuruduktan sonra içinde çözücü sistemi bulunan ve atmosferi çözücü sistemi buharı ile doyurulmuş olan kromatografi tankında sürüklendi. Sürüklenme sonrası tanktan alınan plaklar kurutuldu ve UV₂₅₄ nm ve UV₃₆₆ nm’de incelenerek bantlar spatül yardımıyla belirgin hale getirildi. İşaretlenen bantlar plak yüzeyinden ayrı ayrı kazındı ve uygun bir çözücü (kloroform veya metanol) ile yıkanarak ekstre edildi. Adsorban filtre kağıdından süzldü ve çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı. Ardından bileşikler darası alınan flakonlara aktarıldı ve İTK ile saflık kontrolleri yapıldı.

Kolon kromatografisi (KK) yöntemleri

Sefadeks kolon kromatografisi

Aktif alt ekstrelerin fraksiyonlanmasına Sefadeks kolon kromatografisi ile başlandı. Ayrıca alt fraksiyonların saflaştırılmasında ve bileşiklerin izole edilmesi basamaklarında yine Sefadeks kolon kromatografisinden yararlanıldı.

Kolon dolgu materyali Sefadeks LH-20 (General Electric Healthcare) uygun miktarda tartılarak yeterli miktarda çözücü ile karıştırıldı ve şişmeye bırakıldı. Ardından karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilen cam kolona dolduruldu. Sabit faz tamamen yerleşinceye kadar kolondan mobil faz geçirildi ve sabit faz ile çözücü aynı hizaya geldiğinde tatbik yapıldı. Kolona numune tatbiki, ekstre/fraksiyon/alt fraksiyon uygun çözücüde çözüldükten sonra cam pastör pipeti yardımıyla gerçekleştirildi. Çalışmalarımızda elüsyon çözücü sistemi olarak %100 MeOH, DCM:MeOH (1:1) ve s-Hex:EtOAc:MeOH (7:4:1) kullanıldı.

Silika jel kolon kromatografisi

O. hispidus'un metanollü ekstresinden elde edilen diklorometan alt ekstresinin fraksiyonlarından sitotoksik etkili bulunan OHDCM Fr2 alt fraksiyonunun saflaştırılmasında silika jel kolon kromatografisinden yararlanıldı.

Uygun miktarda silika jel (Kieselgel 60; 0,063-0,200 mm, 7734) 300 mL *n*-hekzan ile karıştırılarak süspande edildi ve hava kabarcıkları tamamen uzaklaştırıldı. Ardından karışım alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan 2,5 x 100 cm boyutlarındaki cam kolona aktarıldı. Kolondan yeterli miktarda *n*-hekzan geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlandı. Adsorban ile çözücü aynı hizaya geldiğinde kuru usulle tatbik yapıldı. Bu aşamada, OHDCM Fr2 (3,4 gr) yeterli miktarda diklorometan ile çözüldükten sonra 1:1 oranında silika jel ile karıştırıldı. Silika jelin çözeltiyi iyice absorbe etmesi ve tam kuruması sağlandı. Adsorbana emdirilmiş numune cam bir huni yardımıyla kolona aktarıldı. Kolona yüzeyin bozulmasını engellemek için tatbikin ardından pamuk yerleştirildi ve *n*-hekzan ile elüsyona başlandı. *n*-Hekzan:EtOAc:MeOH mobil faz sistemi artan polaritede ve sırayla uygulandı. Kolonda kullanılan mobil faz sistemi Çizelge 3.5'te özetlenmiştir.

Çizelge 3.5. Silika jel kolon kromatografisinde kullanılan mobil faz sistemi

<i>n</i>-Hekzan	EtOAc	MeOH	Fraksiyon miktarı
100	0	0	400 mL
90	10	0	400 mL
70	30	0	600 mL
50	50	0	600 mL
30	70	0	400 mL
10	90	0	400 mL
0	100	0	400 mL
0	75	25	400 mL
0	50	50	400 mL
0	25	75	400 mL
0	0	100	500 mL

Ters faz orta basınçlı sıvı kromatografisi (RP OBSK)

RP OBSK, *O. hispidus*'un metanollü ekstresinden hazırlanan diklorometan alt ekstresinin fraksiyonlarının (Fr 2i) saflaştırılmasında kullanılmıştır. Ters faz orta basınçlı sıvı kromatografisinde, kuru sistemle kolona doldurulan ve basınç altında ve vibratör yardımıyla sıkıştırılan LiChroprep C₁₈ (40-63 µm, Merck) adsorban bulunduran kolon kullanıldı. Kolon öncelikle su, sonra da elüsyona başlanacak mobil faz sistemi geçirilerek şartlandı. Numune yeterli miktarda solvan sistemi ile çözülerek enjektör yardımıyla kolona tatbik edildi. RP OBSK şartları Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Ters faz orta basınçlı sıvı kromatografisi şartları

Adsorban	LiChroprep C18 (40-63 µm, Merck)
Kolon	Büchi, 2,6 x 46 cm
Peristaltik pompa	Büchi C-601
Çözücü sistemi	Su:MeOH (65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 35:65, 25:75)
Akış hızı	15 mL/dak
Basınç	2-5 bar
Fraksiyon Hacmi	10 mL
Fraksiyon Toplayıcı	Büchi C-660

Aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları

L. cretica, *O. hispidus* ve *P. isaurica* subsp. *isaurica* 'nın alt ekstreleri arasında, üç bitkide de *n*-hekzan ve diklorometan ekstreleri güçlü sitotoksik etki göstermiştir. *O. hispidus*'un alt ekstrelerinin A549 hücre hattında en yüksek aktiviteye sahip olması nedeniyle aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmaları *O. hispidus*'un *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstreleri üzerinde yürütülmüştür.

O. hispidus'un *n*-hekzan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

31,27 g OHNH, MeOH ile hazırlanan Sefadeks LH-20 kolona (5 x 70 cm) tatbik edildi ve elüsyon MeOH ile yapıldı. 150'şer mL hacimde toplanan 14 fraksiyonun İTK kromatogramları kontrol edilerek benzer profile sahip olanlar birleştirildi. Toplam 4 ana fraksiyon elde edildi: **OHNH Fr1:** 13 g; **OHNH Fr2:** 12,5 g; **OHNH Fr3:** 0,5 g; **OHNH Fr4:** 0,5 g.

Elde edilen her fraksiyonun A549 ve Beas-2B hücre hatlarındaki sitotoksik aktivitesi araştırıldı ve en yüksek etki gösteren **OHNH Fr2** fraksiyonu üzerinden çalışmalara devam edildi.

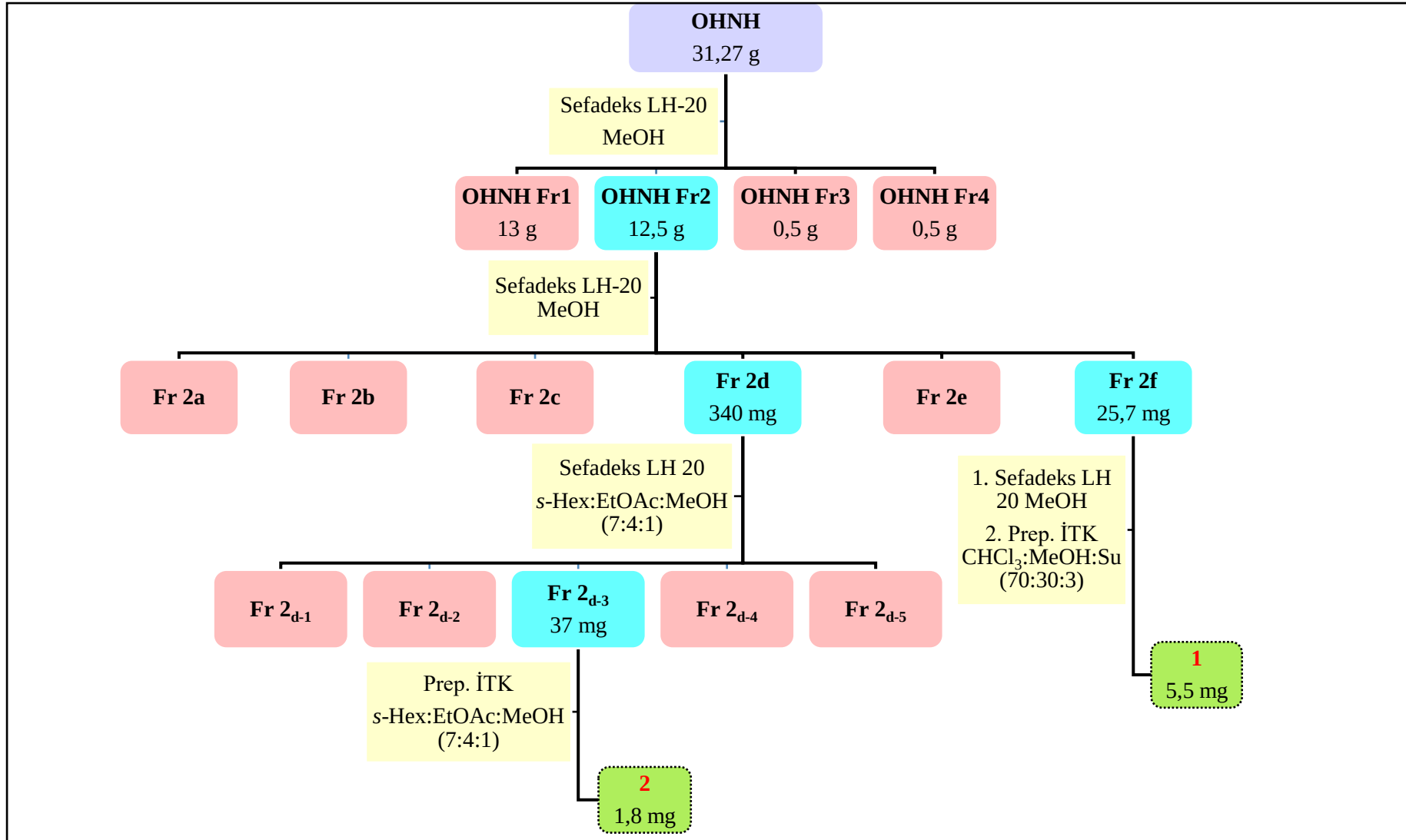
OHNH Fr2 fraksiyonu üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

OHNH Fr2 (12,5 g) MeOH ile hazırlanan ve Sefadeks LH-20 kolona tekrar tatbik edildi ve MeOH ile elüe edildi. 20'şer mL 156 adet fraksiyon toplandı. İTK kromatogramları kontrol edilen fraksiyonlar birleştirilerek 6 alt fraksiyon elde edildi (Fr 2a, Fr 2b, Fr 2c, Fr 2d, Fr 2e, Fr 2f). **Fr 2f** (25,7 mg) 1,5 x 50 cm boyutlarındaki Sefadeks LH-20 kolondan MeOH ile elüe edildi. Ardından mobil faz olarak CHCl₃:MeOH:Su (70:30:3) karışımının kullanıldığı prep. İTK yöntemi uygulanarak safsızlıklar uzaklaştırıldı. Prep. İTK sonrası UV₃₆₆ nm'de işaretlenen bant kazındı ve kloroform ile yıkanarak adsorbanından ayrıldı. 5,5 mg **1** kodlu bileşik saf olarak elde edildi.

Fr 2d (340 mg) s-Hex:EtOAc:MeOH (7:4:1) ile hazırlanan Sefadeks LH-20 kolona tatbik edildi ve elüsyon için aynı mobil faz sistemi kullanıldı. İTK kromatogramları kontrol edilen fraksiyonlar birleştirilerek 5 alt fraksiyon (**Fr 2d-1**, **Fr 2d-2**, **Fr 2d-3**, **Fr 2d-4**, **Fr 2d-5**)

elde edildi. Alt fraksiyonlardan **Fr 2a-3** (37 mg) üzerinde, s-Hex:EtOAc:MeOH (7:4:1) karışımından oluşan mobil faz kullanılarak prep. İTK yöntemi uygulandı. Sürüklenme tamamlandıktan sonra plak UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm’de incelendi. İşaretlenerek kazınıp ardından kloroform ile adsorbanından ayrılan bileşiğin aynı mobil faz sistemi ile saflık kontrolü yapıldı. İzole edilen bileşiğe **2** (1,8 mg) kodu verildi.

O. hispidus’un metanollü ekstresinin *n*-hekzan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları Şekil 3.5’de özetlenmiştir.



Şekil 3.5. *O. hispidus*'un *n*-hekzan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

O. hispidus'un diklorometan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

26,32 g OHDCM, MeOH ile hazırlanan Sefadeks LH-20 kolona (5 x 70 cm) tatbik edildi. Elüsyon çözücü sistemi olarak MeOH kullanıldı. 150'şer mL olarak toplanan 12 fraksiyonun İTK kromatogramları kontrol edilerek benzer profile sahip olanlar birleştirildi. 2 ana fraksiyon elde edildi: **OHDCM Fr1:** 16,7 g; **OHDCM Fr2:** 3,5 g.

Fraksiyonlar A549 ve Beas-2B hücre hatlarında sitotoksik aktivite yönünden değerlendirildi ve en yüksek etki gösteren OHDCM Fr2 fraksiyonu üzerinden çalışmalara devam edildi.

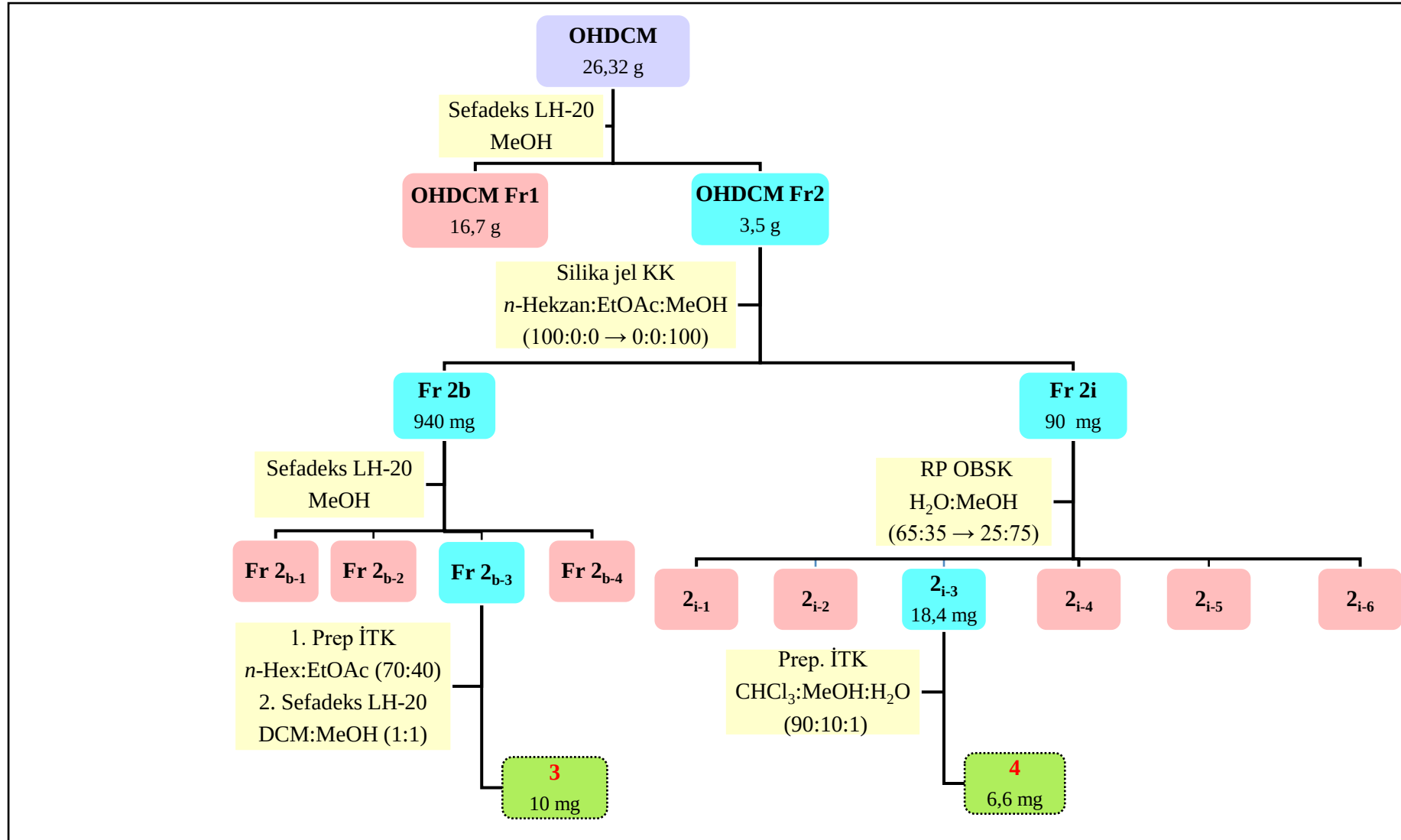
OHDCM Fr2 fraksiyonu üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

OHDCM Fr2 (3,4 g) fraksiyonu *n*-hekzan ile süspande edilerek hazırlanan silika jel kolona (2,5 x 100 cm, 350 g silika jel) kuru usülle tatbik edildi. *n*-Hekzan:EtOAc:MeOH solvan sistemi artan polaritede ve sırayla uygulandı. Kolonda kullanılan solvan sistemi Çizelge 3.4'te özetlenmiştir. 20 mL olacak şekilde toplanan 334 fraksiyonun İTK kromatogramları değerlendirildi. Benzer profile sahip olanlar birleştirilip yoğunlaştırıldı ve toplam 15 fraksiyon elde edildi (**Fr 2a, Fr 2b, Fr 2c, Fr 2d, Fr 2e, Fr 2f, Fr 2g, Fr 2h, Fr 2i, Fr 2j, Fr 2k, Fr 2l, Fr 2m, Fr 2n, Fr 2o**).

Fr 2b (940 mg) MeOH ile hazırlanan Sefadeks LH-20 kolona (1,5 x 30 cm) tatbik edildi ve MeOH ile elüe edildi. Fraksiyonlar 10'ar mL olarak toplandı ve toplam 53 fraksiyon elde edildi. İTK kromatogramları kontrol edilen fraksiyonlar birleştirildi ve 4 alt fraksiyona (**Fr 2b-1, Fr 2b-2, Fr 2b-3, Fr 2b-4**) ayrıldı. Alt fraksiyonlardan **Fr 2b-3** üzerinde *n*-Hex:EtOAc (70:40) çözücü karışımından oluşan mobil faz sistemi kullanılarak prep. İTK yöntemi uygulandı. Sürüklenmenin ardından UV lambası altında bantların yeri tespit edildi ve plağın kenarından 2 cm genişliğindeki kısım açıkta kalacak şekilde kapatıldı. Açıkta kalan kısma revelatör püskürtüldü. Belirlenen 4 bant (I, II, III, IV), plaktan ayrı ayrı kazındı. I numaralı bant (31,8 mg) DCM:MeOH (1:1) ile hazırlanan Sefadeks LH-20 kolondan aynı çözücü sistemi ile elüe edilerek temizlendi ve **3** (10 mg) kodlu bileşik saf olarak elde edildi.

Fr 2i (90 mg) RP OBSK sistemine (Kolon: 2,6 x 46 cm) tatbik edildi ve H₂O:MeOH (65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 35:65, 25:75) mobil faz sistemleri kullanılarak 10'ar mL fraksiyonlar toplandı. Tüplerin İTK kromatogramları değerlendirilerek 6 alt fraksiyona (**2_{i-1}**, **2_{i-2}**, **2_{i-3}**, **2_{i-4}**, **2_{i-5}**, **2_{i-6}**) ayrıldı. **2_{i-3}** (18,4 mg) alt fraksiyonu üzerinde CHCl₃:MeOH:H₂O (90:10:1) çözücü sistemi kullanılarak prep. İTK yöntemi uygulandı. Prep. İTK sonrası UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm'de işaretlenen bant kazındı ve kloroform ile yıkanarak adsorbanından ayrıldı. İzole edilen bileşiğe **4** (6,6 mg) kodu verildi.

O. hispidus'un metanollü ekstresinin diklorometan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları Şekil 3.6'de özetlenmiştir.



Şekil 3.6. *O. hispidus*'un diklorometan alt ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

3.2.2. Yapı tayini çalışmaları

İzole edilen bileşiklerin ^1H ve ^{13}C NMR spektral analizleri Bruker AM 500 ve 125 MHz NMR cihazları ile kaydedildi. Bileşikler uygun çözücünde çözülerek ($\text{DMSO}-d_6$ ve CD_3OD) 25°C 'de analizleri gerçekleştirildi. İç standart olarak tetrametilsilan kullanıldı. Kimyasal kayma değeri (δ) ppm, etkileşim sabiti (J) birimi Hz olarak ifade edildi.

3.2.3. Aktivite çalışmaları

In vitro sitotoksik aktivite tayini

Hücre kültürü

Ön aktivite deneylerinde sitotoksik aktivitenin belirlenmesi amacıyla insan akciğer epitel adenokarsinoma hücre hattı (A549), insan serviks epitel adenokarsinoma hücre hattı (HeLa), insan karaciğer karsinoma hücre hattı (HepG2) ve insan meme adenokarsinoma hücre hattı (MCF-7) kullanıldı. Ayrıca normal insan bronşiyal epitel hücresi (Beas-2B) ile araştırılan ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve saf maddelerin sağlıklı hücre ve kanser hücresindeki seçiciliği belirlendi. Hücre hatlarının tümü ATCC menşei olup HeLa hücre hattı Prof. Dr. Mustafa ARK'ın (Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi); A549, MCF-7 ve Beas-2B hücreleri Prof. Dr. Engin ULUKAYA'nın (İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi) laboratuvarından temin edilmiştir.

Aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmalarında, *O. hispidus*'un *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstraktlarının en yüksek duyarlılık gösterdiği kanser hücre hattı belirlendi ve ileri çalışmalar akciğer kanseri hücre hattı (A549) üzerinde yürütüldü. Seçicilik indeksinin belirlenmesi amacıyla elde edilen ekstre/fraksiyon/bileşiklerin olası toksik etkileri normal insan bronşiyal epitel hücre hattı (Beas-2B) kullanılarak değerlendirildi.

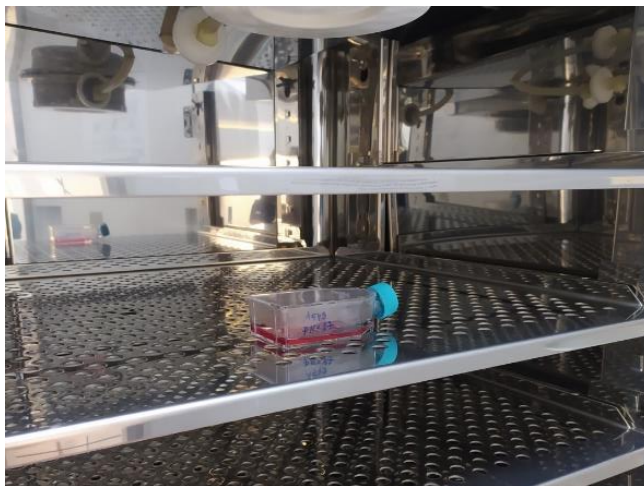
Test edilen kanser hücre soyları için %10 fetal bovine serum (FBS), %1 L-glutamin, %1 Penisilin-G (100 U/mL)-Streptomisin içeren (100 $\mu\text{g/mL}$) Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) tam besiyeri kullanıldı. Beas-2B için FBS oranı %20 olacak şekilde tam besiyeri hazırlandı. Hücreler 37°C 'de %5 CO_2 'li inkübatörde ve nemli ortamda T25

flasklarda kültüre edildi (Resim 3.2 ve 3.3). Kültür kaplarında %80 oranında çoğalan hücreler %0.05'lik tripsin-EDTA solüsyonu ile flasktan alınarak pasajlama ve hücre sayımı işlemlerine alındı.

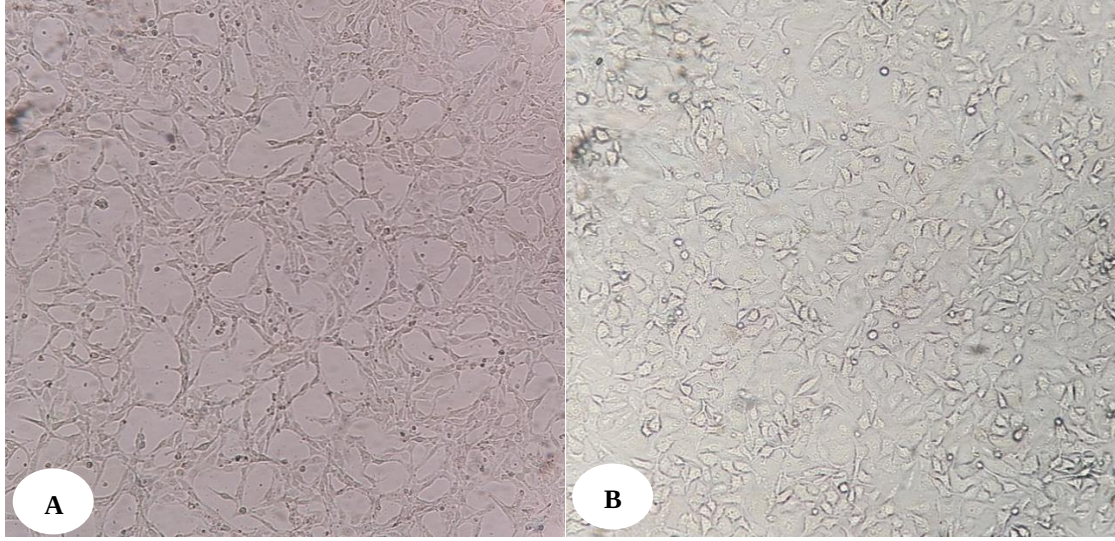
Deney süresince hücre morfolojisinde meydana gelebilecek değişiklikler faz kontrast mikroskop ile düzenli olarak kontrol edildi (Resim 3.4).



Resim 3.2. Laminar akımlı kabin



Resim 3.3. İnkübatörde kültüre edilen hücreler



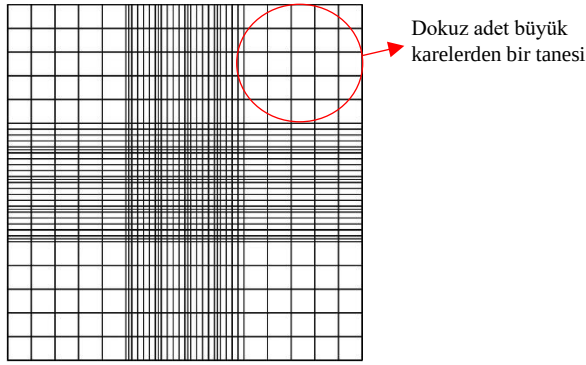
Resim 3.4. Hücrelerinin faz kontrast mikroskop görüntüleri A.Beas-2B; B. A549

Hücre sayımı

Hücre sayımında 9 adet büyük kare bulunan bir hemositometre (Neubauer) kullanıldı (Şekil 3.7). T25 kültür kaplarında çoğalan hücreler tripsin-EDTA solüsyonu ile tutundukları yüzeyden ayrıldı. Santrifüj işleminin ardından çöken hücrelerin üzerine besiyeri ilave edilerek süspande edildi. Hücre süspansiyonundan bir miktar eppendorf tüpüne alındı ve üzerine eşit hacimde tripan mavisini eklendi. Boya ile karıştırılan örnek, Neubauer lamına aktarıldı ve mikroskop altında sayım gerçekleştirildi (Resim 3.5). Tripan mavisini hücre içine alan mavi renkli hücreler ölü, boyayı içine almamış parlak hücreler canlı kabul edildi. Hemositometrede 16 kareden oluşan büyük karelerden 4 set canlı hücreler yönünden sayıldı. Her setten ortalama hücre sayısı alınarak orijinal hücre süspansiyonundaki canlı hücre sayısı/mL ve yüzde hücre canlılığı hesaplandı.

Sayım işleminin ardından hücre sayısı Eş. 3.1'e göre hesaplandı.

$$\text{Hücre/mL} = (\text{Toplam canlı hücre sayısı} \times \text{Dilüsyon faktörü} \times 10^4) / \text{Sayım yapılan kare sayısı} \quad (3.1)$$



Şekil 3.7. Hemositometre çizgileri



Resim 3.5. Neubauer lamı

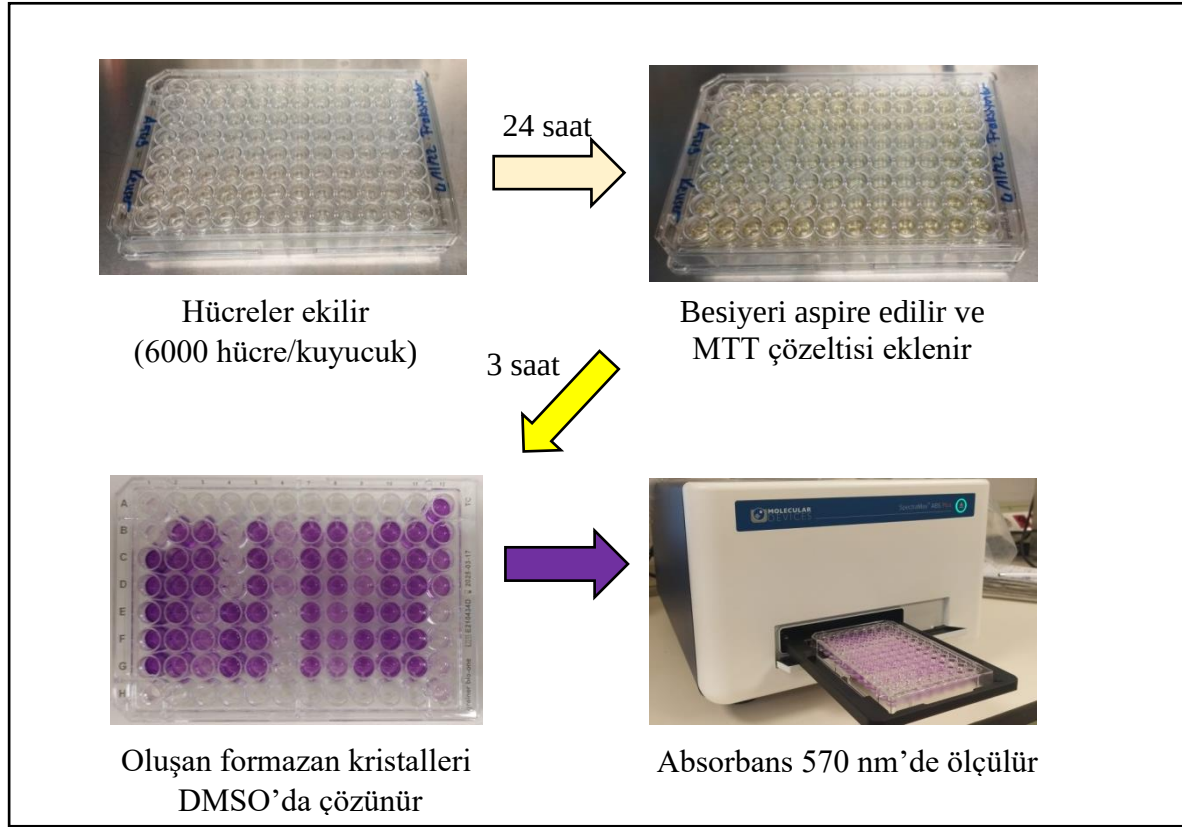
Dozların hazırlanması

Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü'nün *in vitro* antikanser ilaç buluş taraması protokolüne göre, bitkisel ekstre ve fraksiyonlarda, en yüksek 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyona kadar çalışma yapılması önerilmektedir (Boyd, 1997). Hücre kültürü çalışmalarında 4 $\mu\text{g/mL}$ dozda veya daha altındaki dozlarda sitotoksik aktivite gösteren izole bileşiklerin, hayvan modellerinde kemoterapötik ajan olarak araştırılması için iyi adaylar olduğu bildirilmiştir (Likhitwitayawuid ve diğerleri, 1993). Bu nedenle, çalışmamızda ekstre ve fraksiyonlarda 100 $\mu\text{g/mL}$; izole edilecek saf bileşikler için 50 μM en yüksek konsantrasyon olacak şekilde yarı-logaritmik dilüsyon ile 5 farklı konsantrasyonda değerlendirme yapıldı. Hücrelere ekstre, alt ekstre ve fraksiyonlar 100/31,6/10/3,2/1 $\mu\text{g/mL}$; saf maddeler 50/15,8/5/1,6/0,5 μM konsantrasyonda uygulandı. Ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve saf madde dozları %0,2 DMSO ile çözülüp seyreltilerek hazırlandı.

Sitotoksosite deneyi

Çalışmalarda sitotoksik etkinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan enzimatik yöntemlerden biri olan MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemi kullanıldı (Ayaz ve diğerleri, 2019; Emerce ve diğerleri, 2019; Fort ve diğerleri, 2018; Wang ve diğerleri, 2020). Bu yöntemde, MTT canlı hücelere aktif olarak absorbe olur ve reaksiyon mitokondriyal süksinat dehidrogenaz tarafından katalize edilerek mavi-mor renkli, suda çözünmeyen formazana indirgenir. Formazan oluşumu, yalnızca aktif mitokondrinin bulunduğu hücrelerde görülmektedir. Bu da hücre canlılığının bir belirteci olarak kabul edilmektedir.

Yeterli konfluent düzeyine ulaşan hücreler sayılarak sayım yapılarak 96 kuyucuklu mikrolakada her bir kuyucuğa 6×10^3 hücre olacak şekilde ekildi. 24 saat inkübasyonun ardından hücelere belirlenen dozlarda ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve saf madde uygulaması yapıldı. Deneyde çözücü kontrol olarak %0,2 DMSO, pozitif kontrol olarak doksorubisin (10/3/1/0,3 μ M) kullanıldı. Hücreler 48 saat boyunca deney numuneleri ile muamele edildi. İnkübasyon süresinin sonunda hücrelerin besiyeri değiştirilerek her bir kuyucuğa 1 g/L konsantrasyonda MTT çözeltisi eklendi ve 3 saat inkübasyona bırakıldı. Ardından kuyucuklara DMSO ilave edildi ve oluşan formazan kristallerinin çözülmesi sağlandı. Mikrolaka okuyucuda 570 nm'de absorbans değerleri okundu. MTT testinin yapılışı Şekil 3.8'de özetlenmiştir.



Şekil 3.7. MTT testi

Ön aktivite çalışmaları

E. orientalis, *L. cretica*, *O. hispidus*, *P. isaurica* subsp. *isaurica*, *S. connatum* ve *T. ucranica* 'nın metanollü ekstrelerinin maksimum dozda (100 µg/mL) A549, HeLa, HepG2, MCF-7 ve Beas-2B hücre hatlarında sitotoksik etkisi araştırıldı. Maksimum dozda sitotoksik etki gösteren ekstreler üzerinde alt doz tarama çalışmalarına geçildi.

Doz tarama çalışmaları

Yüzde Canlılık değeri 50'nin altında olan ve büyümeyi %50'den fazla inhibe eden *L. cretica*, *O. hispidus* ve *P. isaurica* subsp. *isaurica* ekstreleri üzerinde doz tarama çalışmaları yapıldı. % Canlılık değeri Eş. 3.2' e göre hesaplandı.

$$\% \text{ Canlılık} = \frac{\text{Absorbans (numune)} - \text{Absorbans (kör)}}{\text{Absorbans (kontrol)} - \text{Absorbans (kör)}} \times 100 \quad (3.2)$$

İstatistiksel analiz

Ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve saf maddelerin IC₅₀ değerleri GraphPad 8.0.1 software (San Diego, CA, USA, demo versiyon) yardımıyla hesaplandı.

Sitotoksik aktivite deneyi her örnek için 3 kez, her seferinde en az ikili tekrar yapılarak çalışıldı.

Seçicilik indeksi

Ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve bileşiklerin normal hücrelere ve kanser hücrelerine olan etkileri arasındaki seçiciliği gösteren seçicilik indeksi (SI) değerleri belirlendi. SI değerleri 1'den büyük olan test bileşiklerinin kanser hücrelerine kanserli olmayan hücrelerden daha fazla toksik etki gösterdiği bilinmektedir (Badisa ve diğerleri, 2009). SI değeri Eş.3.3'e göre hesaplandı.

$$SI = (\text{Normal hücrelerin IC}_{50} \text{ değeri}) / (\text{Kanser hücrelerinin IC}_{50} \text{ değeri}) \quad (3.3)$$

In silico Analizler

İzole edilen bileşikler *in silico* tahmin analizleri ile başta antikanser aktivite olmak üzere farklı biyolojik aktiviteler yönünden değerlendirildi. Bu amaçla PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) programından yararlanıldı (Filimonov ve diğerleri, 2014). Bu yazılım, organik ilaç benzeri moleküllerin genel biyolojik potansiyelini değerlendirmek için tasarlanmıştır ve 4000'den fazla aktivite türü için tahmin yaparak, söz konusu bileşiklerin belirli aktivitelere sahip olma olasılığını belirlemektedir. Ancak bu belirlemeler mevcut veri tabanındaki moleküllerin yapısal özellikleri ve biyolojik aktivitelerine ait bilgilerin varlığı göz önünde tutularak bulunmaktadır. Biyolojik aktivite bulguları Pa-Pi değerleri dikkate alınarak ve ilk 10 olası biyolojik aktivite temel alınarak sunuldu. Pa biyolojik aktivite için aktif olma olasılığını, Pi biyolojik aktivite için inaktif olma olasılığını göstermektedir. Ek olarak CLC-Pred (Hücre Hattı Sitotoksikite Tahmincisi) yazılımı kullanılarak, izole edilen bileşiklerin hangi kanser hücre hatlarında sitotoksikite gösterebileceği analiz edildi (Lagunin ve diğerleri, 2018). Bileşikler PASS yazılımına basitleştirilmiş moleküler girdi hattı giriş sistemi kullanılarak girildi.

4. BULGULAR

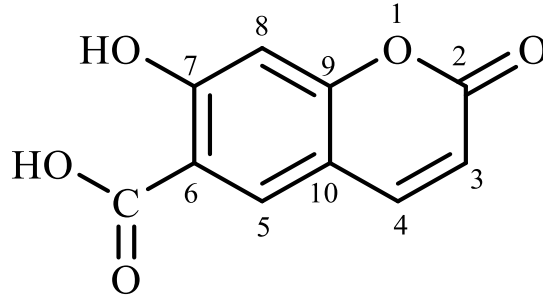
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

Akciğer kanseri hücre hattında belirgin sitotoksik etki gösteren *O. hispidus*'un tüm bitki kısımlarından hazırlanan *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstraktları ve fraksiyonları üzerinde tekrarlayan kromatografik yöntemler kullanılarak etkidenden sorumlu olduğu düşünülen bileşiklerin izolasyonu yapılmıştır. Bileşiklerin yapı analizleri spektroskopik yöntemler ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, COSY, HSQC, HMBC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalar sonucunda bitkiden iki basit kumarin (**1**, **2**), bir yeni β -hidroksidihidrochalkon (**3**) ve bir furanokumarin (**4**) izole edilmiş ve bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır.

4.1.1. İzole edilen bileşiklerin yapı tayinlerine ait bulgular

1 kodlu bileşiğe ait bulgular



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ_{H} 7,93 (1H, s, H-5); 7,91 (1H, d, $J=9,4$ Hz, H-4); 6,46 (1H, s, H-8); 6,04 (1H, d, $J=9,4$ Hz, H-3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ_{C} 170,4 (C-7); 169,7 (-COOH); 161,1 (C-2); 157,6 (C-9), 145,8 (C-4); 130,9 (C-5); 117,8 (C-6); 109,6 (C-3); 108,8 (C-10); 102,9 (C-8)

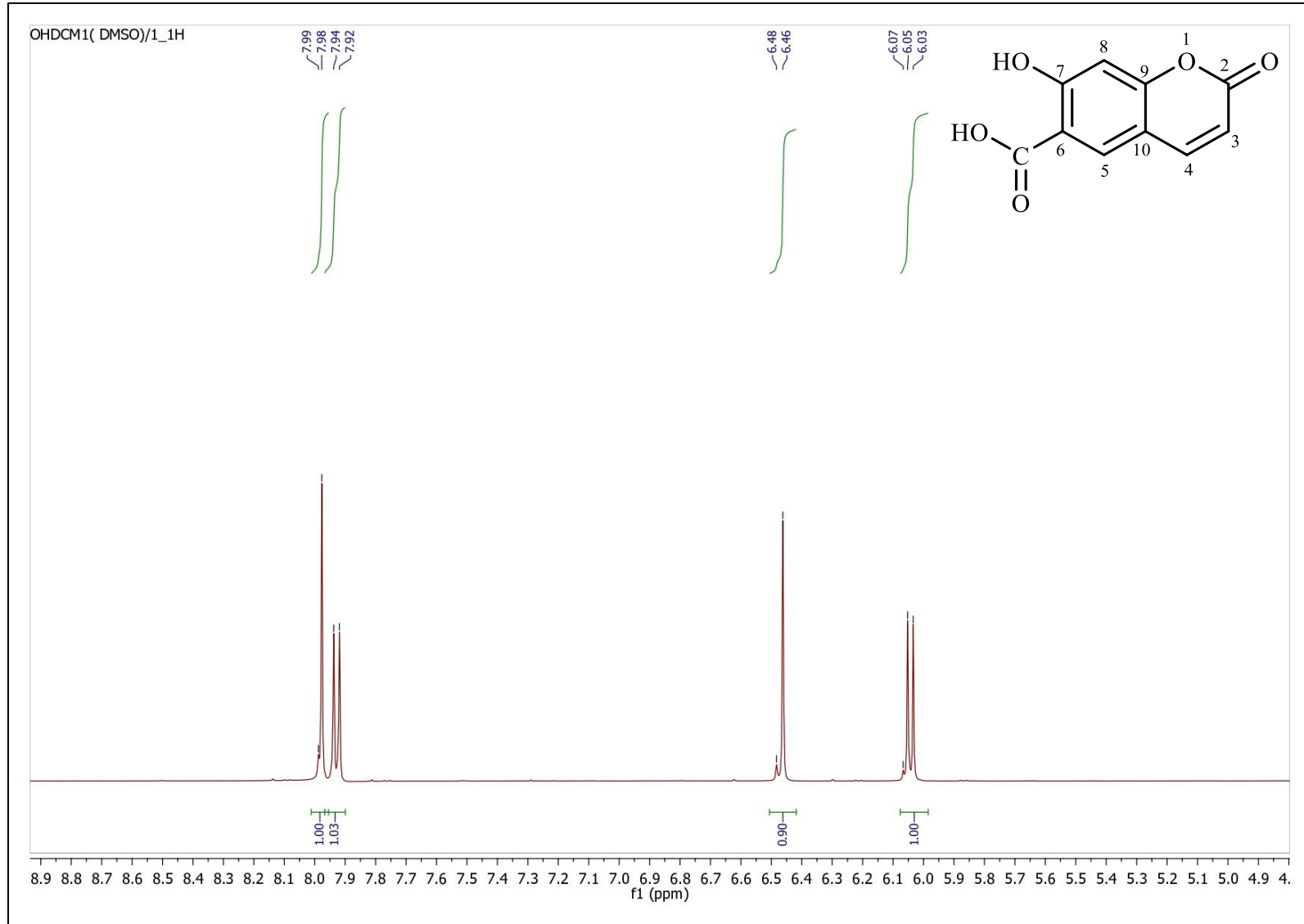
1 kodlu bileşik renksiz kristaller halinde izole edilmiştir. UV_{366} nm'de mavi floresan özelliğine sahip bileşik $\text{DMSO-}d_6$ ile çözülerek NMR spektrum analizleri gerçekleştirilmiştir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde, aşağı alanda 6,7-disüstitüe kumarin iskeletine karakteristik δ_{H} 7,91 (1H, d, $J=9,4$ Hz, H-4), δ_{H} 6,04 (1H, d, $J=9,4$ Hz,

H-3), δ_H 7,93 (1H, s, H-5) ve 6,46 ppm (1H, s, H-8) sinyalleri göze çarpmaktadır. δ_H 7,91 ve 6,04 ppm'de gözlenen sinyallerin aynı olan J değerleri (9,4 Hz) ve iki sinyalin de dublet olması sadece birbirleriyle etkileştiğini göstermektedir. AB sistemine ait bu dubletler bileşiğin 3. ve 4. konumda süstitüent taşımadığını göstermektedir (Şekil 4.1). ^{13}C -NMR spektrumunda toplam 10 adet karbon rezonansı belirlenmiştir. Bu rezonanslardan 8'i aromatik bölgeye ait sinyallerdir. δ_C 161,1 ve 169,7 ppm'de görülen rezonanslar yapıda iki karbonil grubunun bulunduğunu düşündürmüştür. δ_C 161,1 ppm'de rezonans gösteren sinyal kumarin karboniline aittir ve karbonil grubunun elektron çekici etkisi nedeniyle ^1H -NMR spektrumunda H-3 sinyali üzerinde elektron yoğunluğu daha fazladır ve perdelenme etkisi daha yüksektir. δ_C 169,7 ppm'de gözlenen sinyal 6. konumdan süstitüe olan karboksil grubuna aittir (Şekil 4.2). Bileşiğin ESI-MS verilerine göre moleköl ağırlığı 205,0146 m/z $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{10}\text{H}_5\text{O}_5$) olarak belirlenmiştir. Spektroskopik analiz sonuçları ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_5$ kapalı formülüne sahip umbelliferon 6-karboksilik asit olduğu tespit edilmiştir (Zhao ve diğerleri, 2012). Bileşiğe ait ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

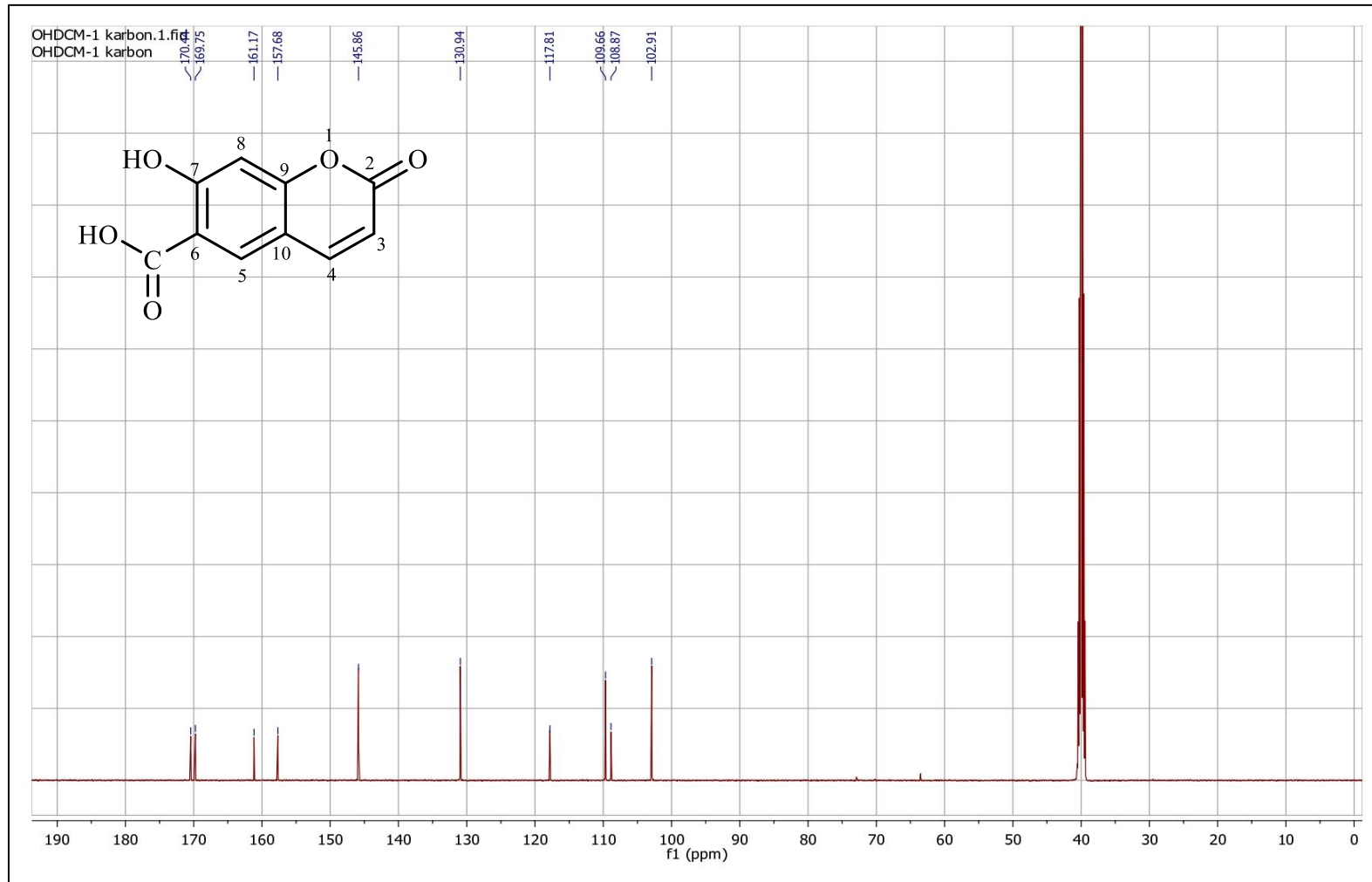
Çizelge 4.1. Umbelliferon 6-karboksilik asit (**1**) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri

	C/H	δ_C ppm	δ_H ppm, J (Hz)
2	C	161,1	-
3	CH	109,6	6,04 (1H, d, $J= 9,4$ Hz)
4	CH	145,8	7,91 (1H, d, $J= 9,4$ Hz)
5	CH	130,9	7,93 (1H, s)
6	C	117,8	-
7	C	170,4	-
8	CH	102,9	6,46 (1H, s)
9	C	157,6	-
10	C	108,8	-
1'	C	169,7	-

Umbelliferon 6-karboksilik asit (**1**) bileşiği $\text{DMSO}-d_6$ ile çözülerek NMR spektrum analizleri gerçekleştirilmiştir.

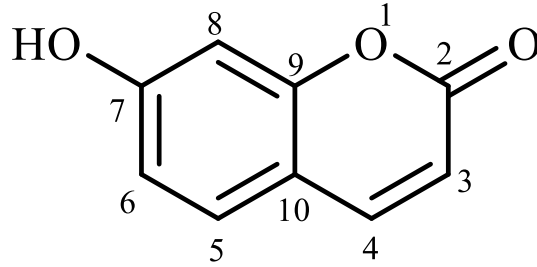


Şekil 4.1. Umbelliferon 6-karboksilik asit (**1**) bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 4.2. Umbelliferon 6-karboksilik asit (**1**) bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

2 kodlu bileşiğe ait bulgular



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7,87 (1H, d, $J = 9,4$ Hz, H-4); 6,20 (1H, d, $J = 9,4$ Hz, H-3); 7,47 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5); 6,81 (1H, dd, $J = 8,5$ ve 2,3 Hz, H-6); 6,73 (1H, s, H-8)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 162,4 (C-2); 110,8 (C-3); 102,0 (C-8); 111,6 (C-10); 155,8 (C-9); 144,7 (C-4); 161,9 (C-7); 129,2 (C-5); 113,2 (C-6)

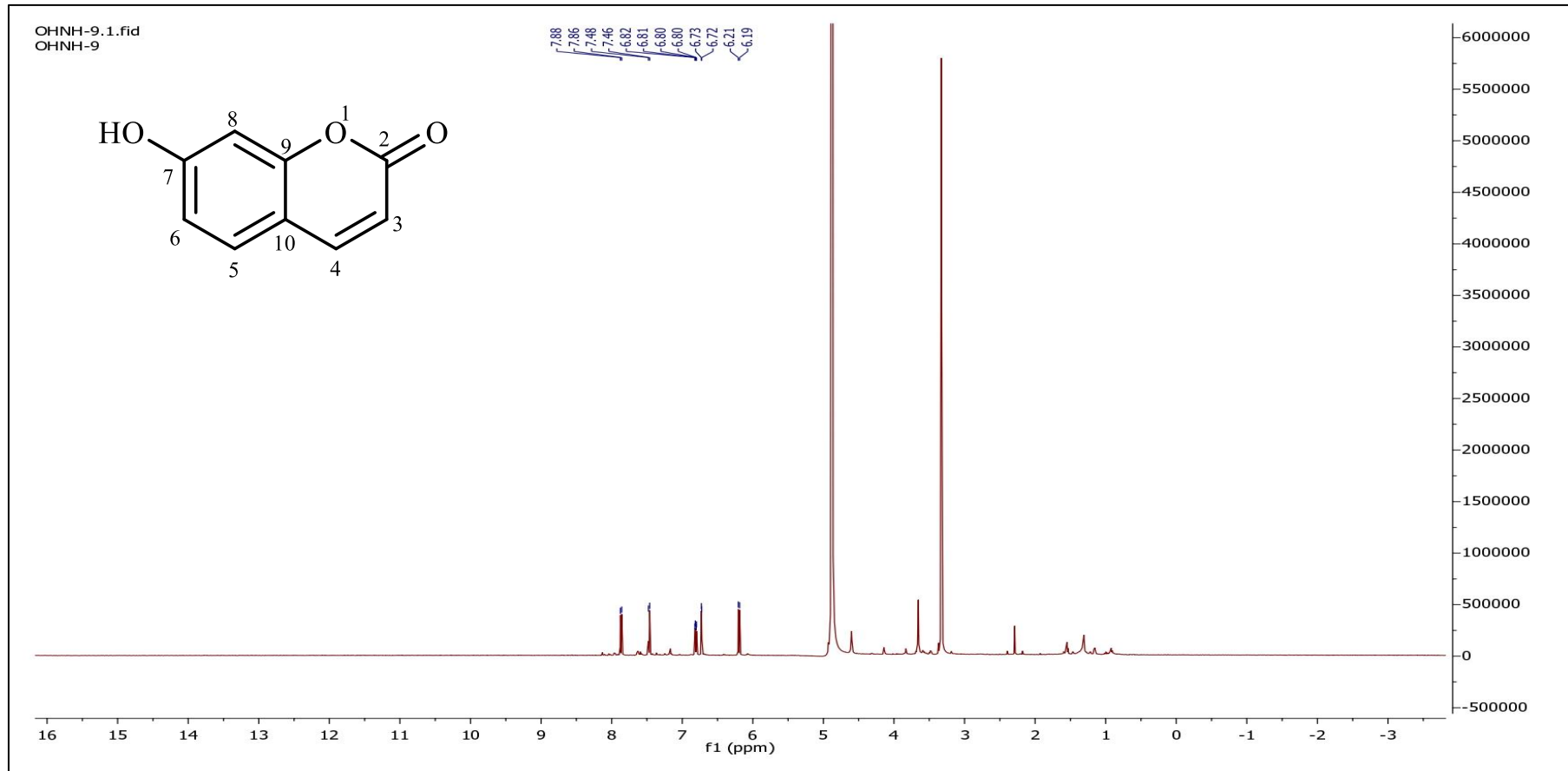
Sarımsı beyaz renkli toz olarak izole edilen 2 kodlu bileşik UV_{366} nm’de mavi renkli floresan özelliği göstermektedir. Bileşiğin yapısı CD_3OD çözücüsünde alınan NMR spektrumları ile belirlenmiştir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda aromatik alanda 5 proton sinyali bulunmaktadır. δ_{H} 6,20 (d, $J = 9,4$ Hz) ve 7,87 (d, $J = 9,4$ Hz)’te görülen rezonanslar kumarin iskeletinin tipik 3. ve 4. konumlarındaki dublet sinyallerini işaret etmektedir. δ_{H} 6,81 ppm (dd, $J = 8,5$ ve 2,3 Hz)’de rezonans gösteren sinyal ise 6. konumdaki protona aittir (Şekil 4.3).

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu, aşağı alanda bir karbonil (δ_{C} 162,4 ppm) ve sekiz aromatik karbon (δ_{C} 110,8; 144,7; 129,2; 113,2; 161,9; 102,0; 155,8; 111,6 ppm) ile toplam dokuz karbon rezonansı sergilemiştir (Şekil 4.4). Bileşiğin ESI-MS verilerine göre molekül ağırlığı 161,0243 m/z $[\text{M-H}]^-$ ($\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_3$) olarak belirlenmiştir. NMR sonuçları ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$ kapalı formülüne sahip 7-hidroksi kumarin (umbelliferon) olduğu sonucuna varılmıştır (Zhao ve diğerleri, 2012). Bileşiğe ait $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektroskopik değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

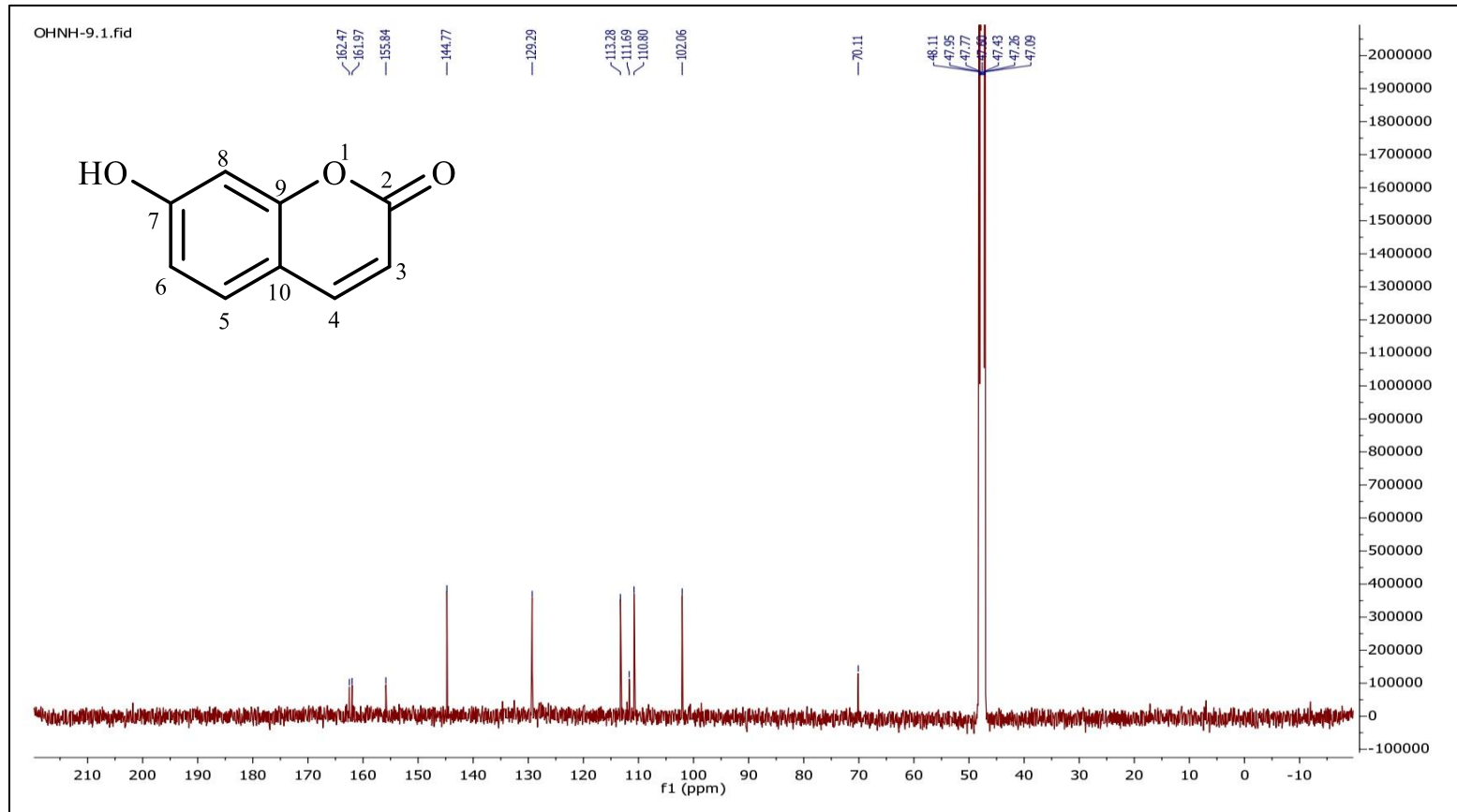
Çizelge 4.2. Umbelliferon (**2**) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri

	C/H	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm, J (Hz)
2	C	162,4	-
3	CH	110,8	6,20 (1H, d, $J = 9,4$ Hz)
4	CH	144,7	7,87 (1H, d, $J = 9,4$ Hz)
5	CH	129,2	7,47 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)
6	CH	113,2	6,81 (1H, dd, $J = 8,5$ ve 2,3 Hz)
7	C	161,9	-
8	CH	102,0	6,73 (1H, s)
9	C	155,8	-
10	C	111,6	-

*Umbelliferon (**2**) bileşiği CD_3OD ile çözülerek NMR spektrum analizleri gerçekleştirilmiştir.*

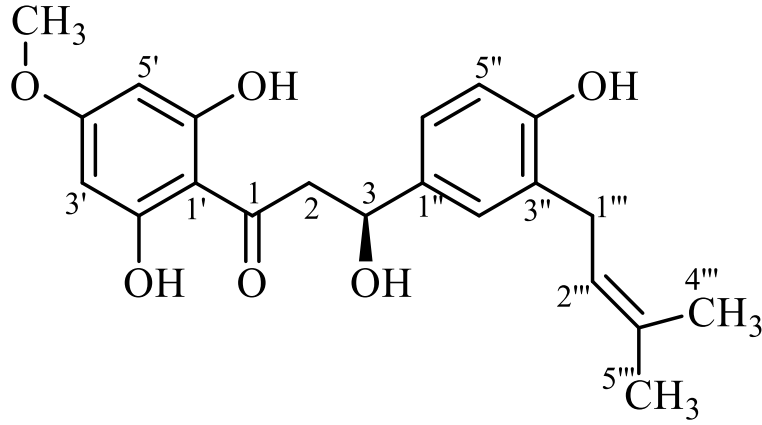


Şekil 4.3. Umbelliferon (**2**) bileşiğine ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 4.4. Umbelliferon (**2**) bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

3 kodlu bileşiğe ait bulgular



3 kodlu bileşik sarımsı beyaz renkli toz olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizinde UV₂₅₄ nm’de koyu renk ve vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtülüp ısıtılması sonucunda turuncu renk gözlenmiştir.

¹H NMR spekturumunda δ_H 3,01 (dd, $J=17,1$; 12,6 Hz; H-2a) ve δ_H 2,62 (dd, $J=17,1$; 3,1 Hz H-2b)’de gözlenen iki dubletin dubleti rezonansları metilen grubuna ait iki diastereotopik proton varlığına işaret etmektedir (Şekil 4.5). Ayrıca ¹³C-NMR spekturumunda δ_C 196,9 (C=O), 42,6 (C-2) ve 79,4 (C-3)’de görülen karbon sinyalleri bileşiğin bir β -hidroksidihidrokalon iskeletine sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.6). ¹H-NMR ve ¹H-¹H COSY spektrumları yapıda iki aromatik halkanın varlığını düşündürmüştür (Şekil 4.5, 4.8). Aromatik halkalardan ilki 2,4,6-trisüstitüe benzen yapısındadır. Bu durum, δ_H 5,94 (d, $J=2,3$ Hz, H-5’) ve δ_H 5,92 (d, $J=2,4$ Hz, H-3’) sinyalleri ile doğrulanmıştır. İkinci aromatik halkanın protonlarında görülen δ_H 7,06 (d, $J=2,2$ Hz, H-2’), 7,02 (dd, $J=8,2$ ve 2,3 Hz, H-6’’) ve 6,67 (d, $J=8,2$ Hz, H-5’’) sinyaller ABX sistemini işaret etmektedir. Ayrıca, δ_H 1,61 ve 1,63 proton sinyalleri ile δ_C 131,8 ve 122,3 karbon sinyalleri yapıda α,α -dimetilallil grubunun bulunduğunu göstermektedir. Bileşiğin ¹³C NMR spekturumu, bir karbonil (δ_C 196,9 ppm), iki metilen (δ_C 42,6 ve 27,9 ppm), bir hidroksil grubu taşıyan karbon (δ_C 79,4 ppm) sinyalleri görülmektedir. Ayrıca dimetilallil grubuna ait (δ_C 131,8; 122,3; 24,5; 16,5 ppm), bir metoksil grubuna ait (δ_C 54,9 ppm) ve 168,1; 163,8; 163,3; 155,3; 129,4; 128,2; 127,6; 124,9; 114,4; 102,7; 94,3 93,5’de rezonans gösteren aromatik karbonlarla toplam 21 karbon rezonansı sergilemiştir (Şekil 4.6). C-1''' ve C-2''' ve C-2 ve C-3 arasındaki bağlantı COSY spekturumu ile tespit edilmiştir (Şekil 4.10). Metoksi ve dimetilallil gruplarının bağlı pozisyonu HMBC

korelasyonlarının gözlemlenmesiyle tespit edilmiştir (Şekil 4.10). HMBC spektrumu, δ_H 3,21 (H-1'')'deki metilen sinyalinin C-3" (δ_C 128,2), C-4" (δ_C 155,3), C-2" (δ_C 122,3) ve C-3''' (δ_C 131,8) sinyalleri ile ilişkili olduğunu ve dimetilallil grubunun C-3'' ile bağlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, δ_H 3,70 (4'-OCH₃) metoksi sinyalinin C-4' (δ_C 168,1) ile ilişkili olması metoksi grubunun C-4' bağlı olduğunu düşündürmüştür. ESI Kütle Spektrumunda gözlenen m/z 371,1457 [M-H]⁻ iyon piki temelinde bileşiğin kapalı formülü C₂₁H₂₄O₆ olarak belirlenmiştir (C₂₁H₂₃O₆ için 371,1495 olarak hesaplanmıştır) (Şekil 4.11).

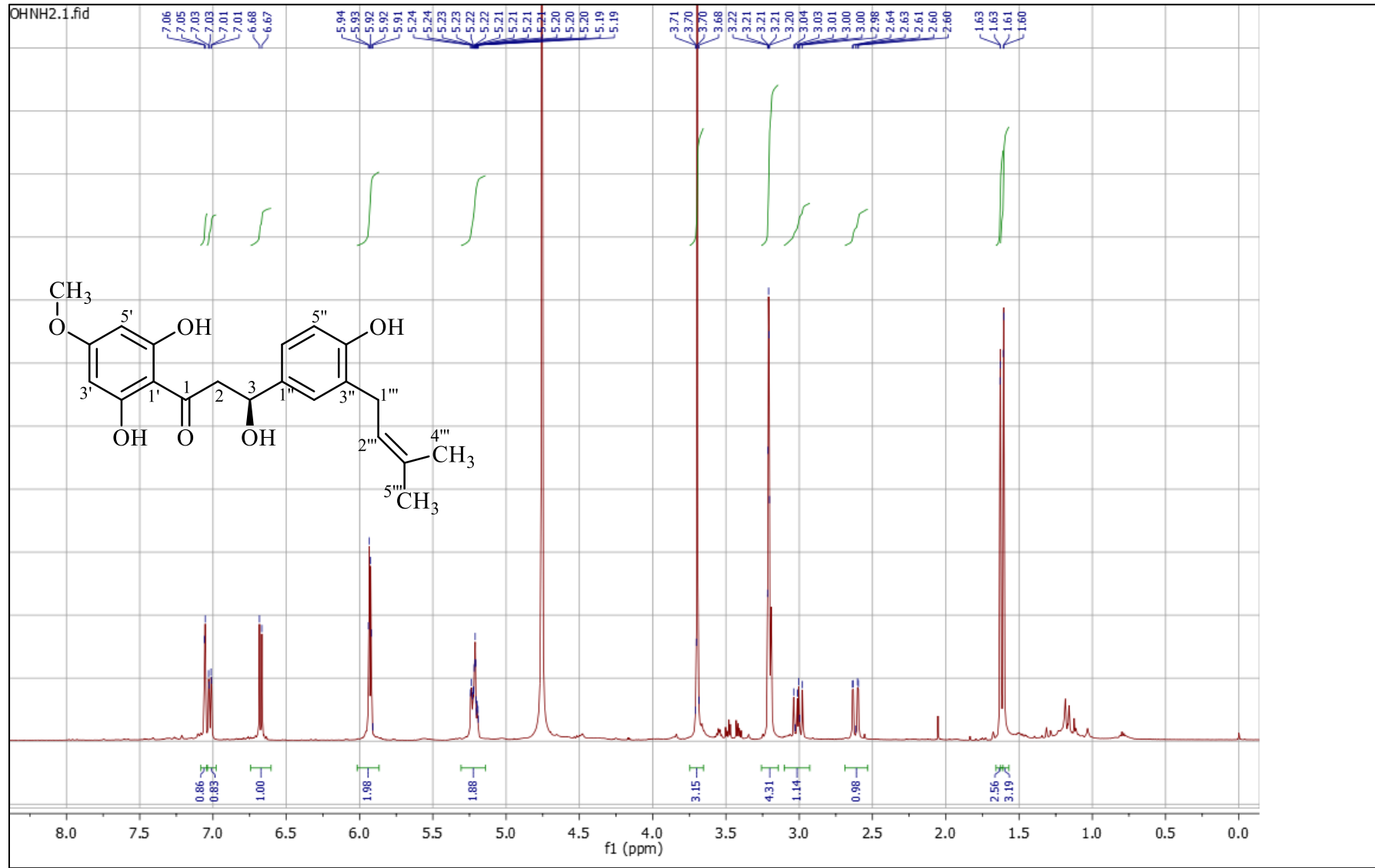
Yukarıdaki analizlerden bileşiğin yeni bir β -hidroksidihidrokalon türevi olduğu tespit edilmiştir. Bileşik, **2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalon** olarak tarafımızca isimlendirilmiştir. Bileşiğe ait ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik değerleri Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (**3**) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri

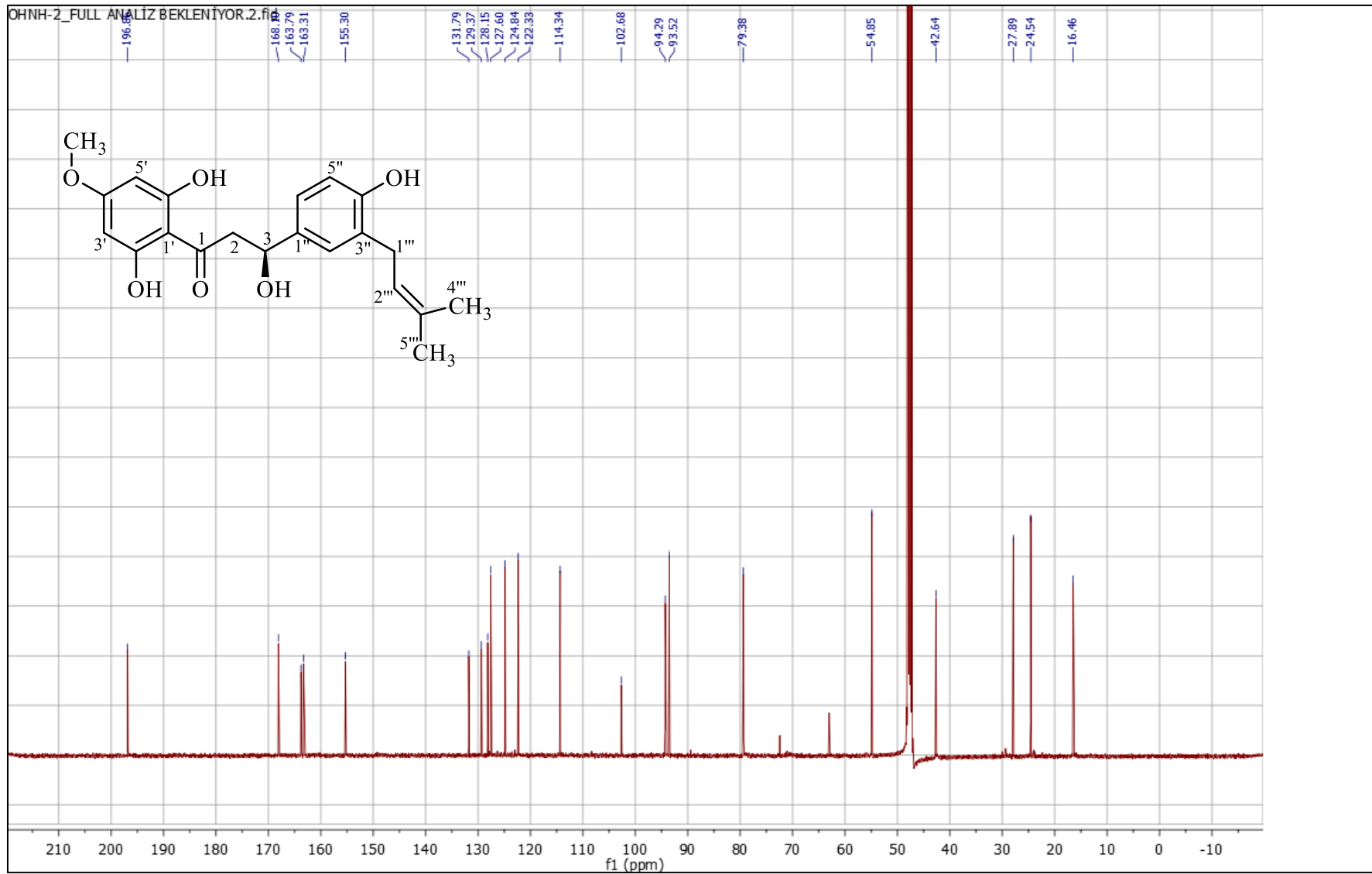
	C/H	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm, J (Hz)
1	C	196,9	-
2	CH ₂	42,6	3,01 (H-2a, dd, J = 17,1; 12,6 Hz)
			2,62 (H-2b, dd, J = 17,1; 3,1 Hz)
3	CH	79,4	5,27-5,16 (1H, m)
1'	C	102,7	-
2'	C	163,8	-
3'	CH	94,3	5,92 (1H, d, J = 2,4 Hz)
4'	C	168,1	-
5'	CH	93,5	5,94 (1H, d, J = 2,3 Hz)
6'	C	163,3	-
1''	C	129,4	-
2''	CH	127,6	7,06 (1H, d, J = 2,2 Hz)
3''	C	128,2	-
4''	C	155,3	-
5''	CH	114,4	6,67 (1H, d, J = 8,2 Hz)
6''	CH	124,9	7,02 (1H, dd, J = 8,2 ve 2,3 Hz)
1'''	CH ₂	27,9	3,23-3,17*
2'''	CH	122,3	5,27-5,16 (1H, m)
3'''	C	131,8	-
4'''	CH ₃	24,5	1,61 (3H, s)
5'''	CH ₃	16,5	1,63 (3H, s)
4'-OCH₃	CH ₃	54,9	3,70 (3H, s)

* Sinyal örtüşmesi sebebiyle J değerleri ölçülememiştir.

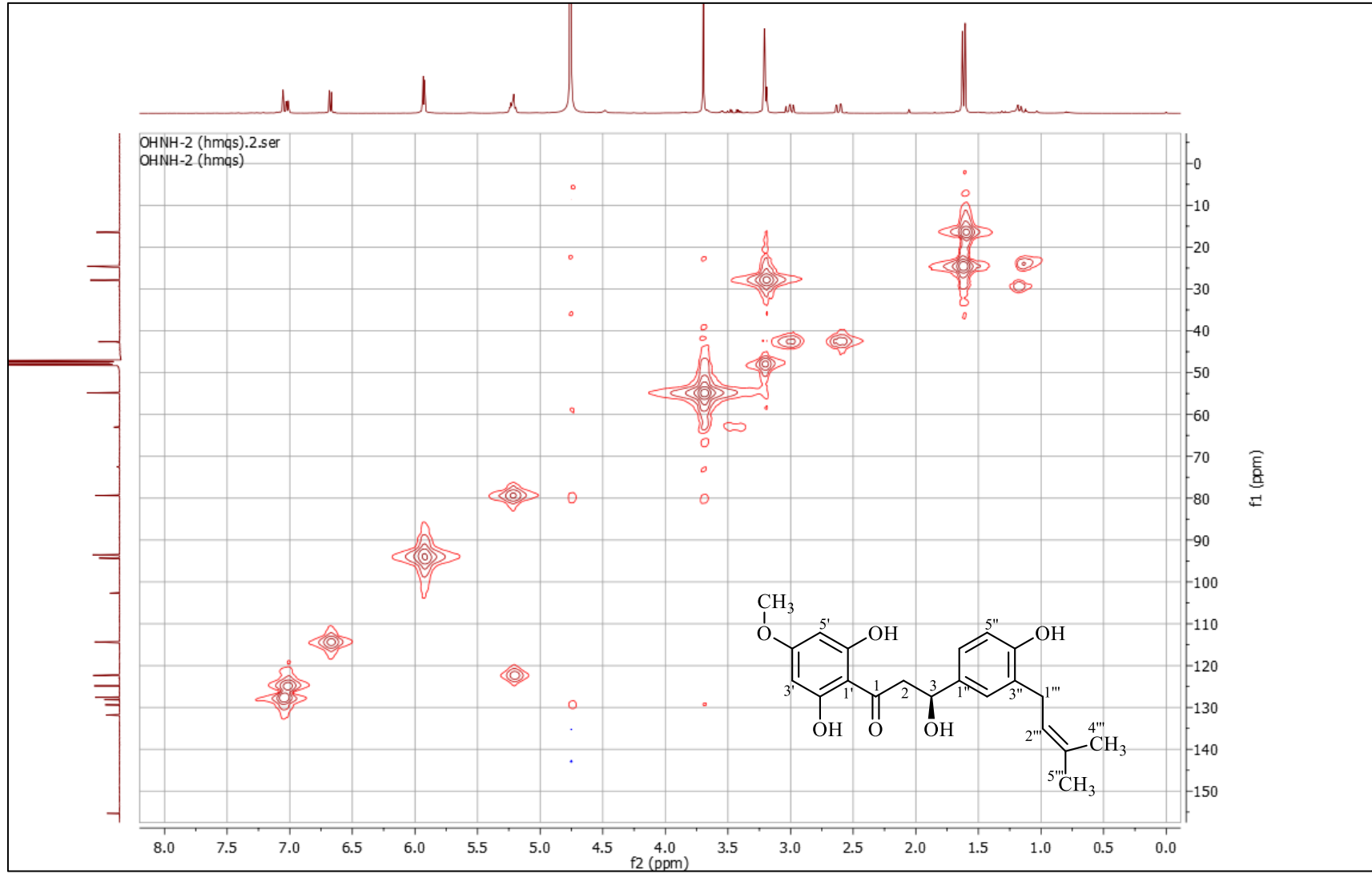
2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (**3**) bileşiği CD_3OD ile çözülerek NMR spektrum analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.5. 2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalikon (**3**) bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



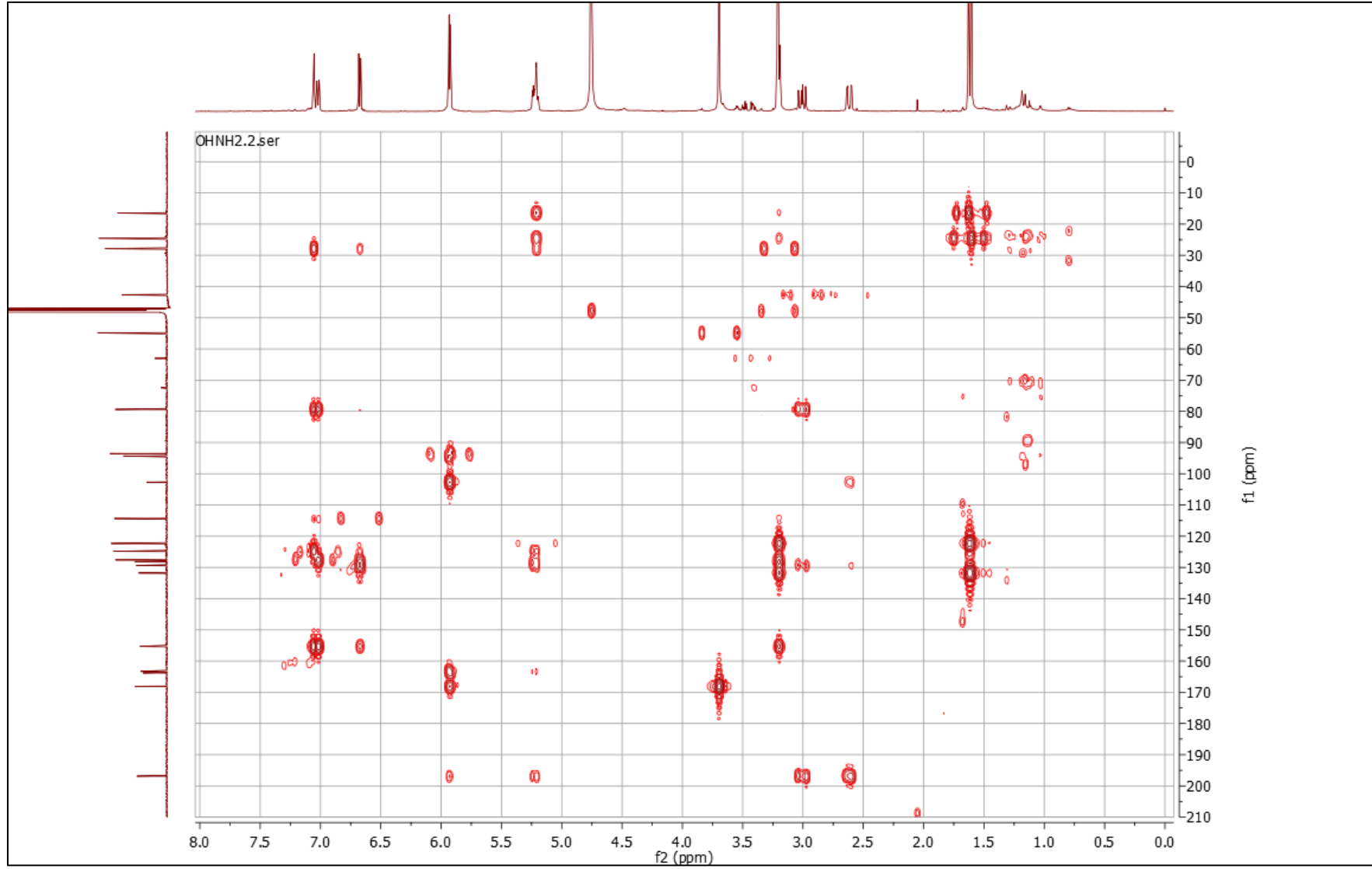
Şekil 4.6. 2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalon (**3**) bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



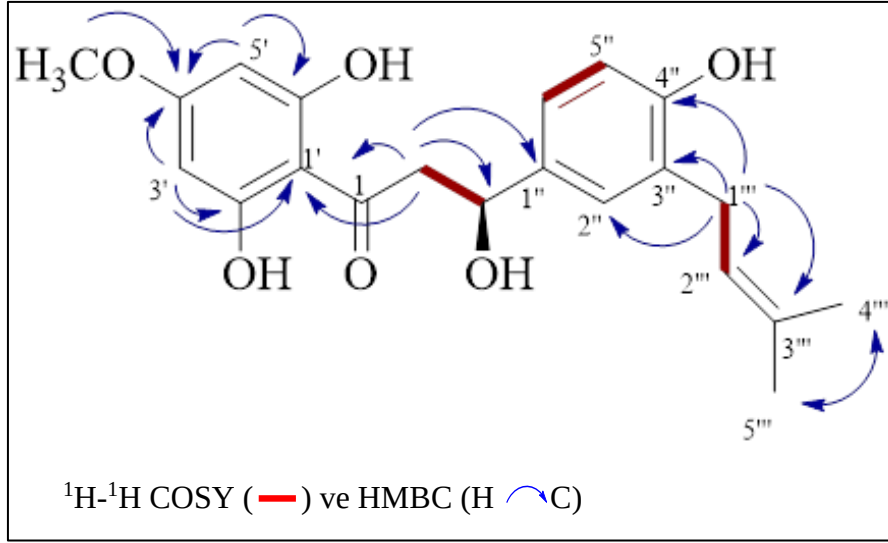
Şekil 4.7. 2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalon (**3**) bileşiğine ait HMQC spektrumu



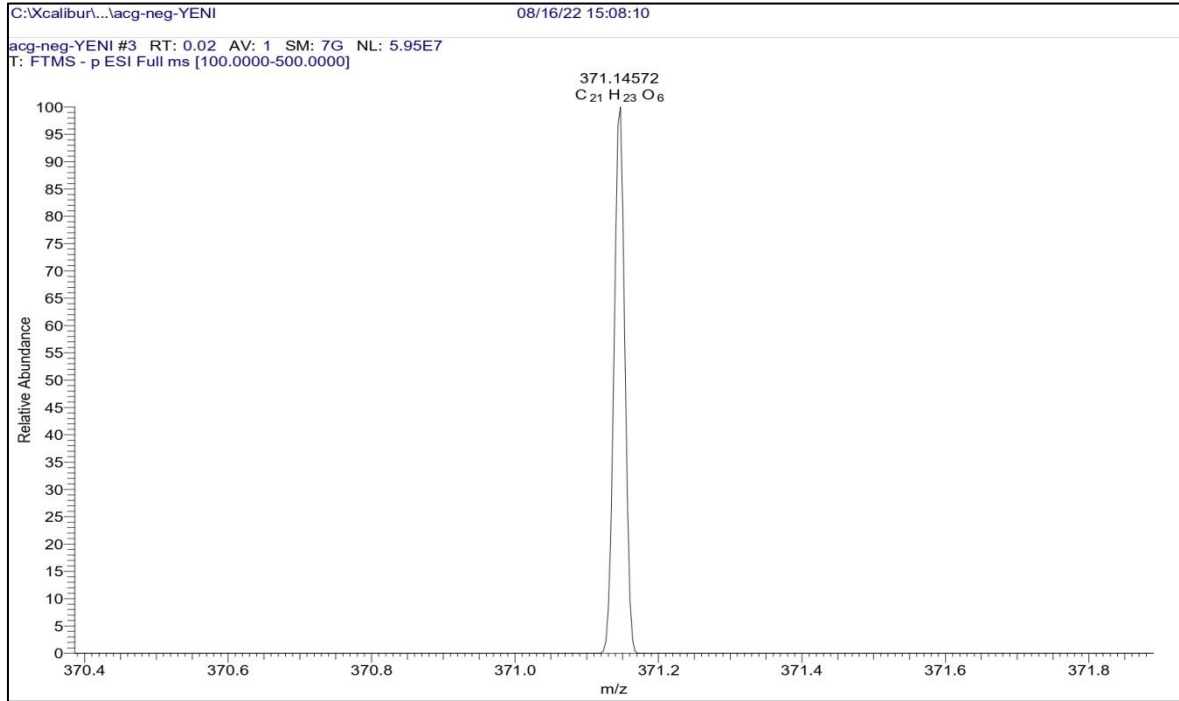
Şekil 4.8. 2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalon (**3**) bileşiğine ait COSY spektrumu



Şekil 4.9. 2',6'-Dihidroksi-4''metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalon (**3**) bileşiğine ait HMBC spektrumu

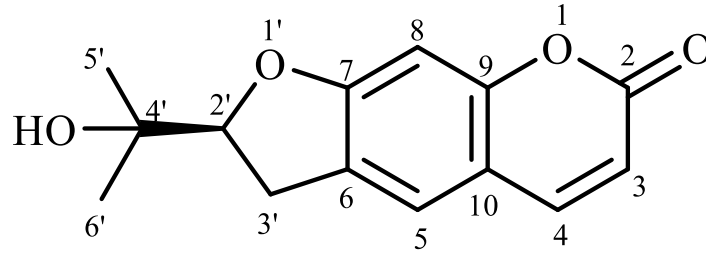


Şekil 4.10. 2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (**3**) bileşiğinin ^1H - ^1H COSY ve HMBC korelasyonu



Şekil 4.11. 2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidro kalkon (**3**) bileşiğinin ESI-MS spektrumu

4 kodlu bileşiğe ait bulgular



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7,74 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H, H-4); 7,29 (s, 1H, H-5); 6,62 (s, 1H, H-8); 6,09 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H, H-3); 4,65 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H, H-2'); 3,15 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, H-3'); 1,19 (s, 3H, H-6'); 1,13 (s, 3H, H-5')

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_3OD): δ_{C} 163,8 (C-7); 162,4 (C-2); 155,4 (C-9); 144,9 (C-4); 125,9 (C-6); 123,6 (C-5); 112,6 (C-10); 110,7 (C-3); 96,7 (C-8); 91,1 (C-2'); 70,9 (C-4'); 28,87 (C-3'); 23,9 (C-5'); 23,9 (C-6')

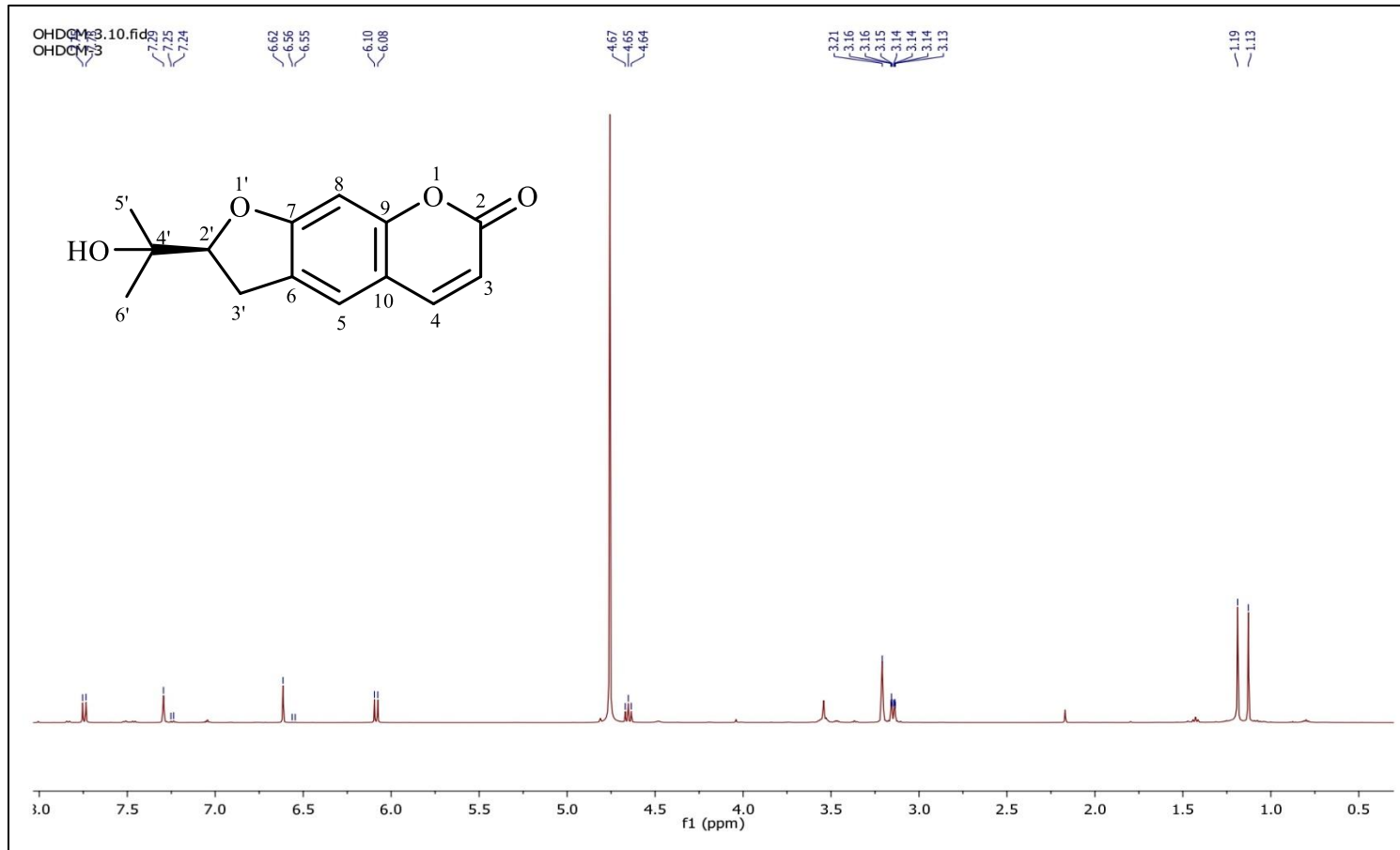
4 kodlu bileşik beyaz renkli toz olarak izole edilmiştir. Bileşik UV_{366} nm’de mavi floresan vermektedir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde δ_{H} 7,74 ve 6,09 ppm’de birer dublet ile δ_{H} 7,29 ve 6,62 ppm’de birer singlet sinyal bulunmaktadır. δ_{H} 7,74 ve 6,09 ppm’de gözlenen sinyallerin aynı olan J değerleri (9,5 Hz) kumarin yapısını işaret etmektedir. δ_{H} 7,29 ve 6,62 ppm’de görülen singlet sinyaller sırasıyla 5. ve 8. konuma ait olan protonlardır (H-5 ve H-8). δ_{H} 4,65 (t, $J = 8,7$ Hz) ve 3,15 (d, $J = 8,1$ Hz)’de bulunan rezonanslar kumarin halkasına 6. ve 7. konumdan bağlı dihidrofuran halkasındaki H-3’ ve H-2’ protonlarına ait sinyallerdir (Şekil 4.12).

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda 14 karbonlu olduğu görülmektedir. δ_{H} 1,19 ve 1,13 ppm’de bulunan 3H büyüklüğündeki sinyaller δ_{C} 23,9 ppm’de rezonans gösteren metil gruplarına ait 3 protonu göstermektedir (Şekil 4.13). Bileşiğin ESI-MS verilerine göre molekül ağırlığı 247,0967 m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_4\text{H}_{15}\text{O}_4$) olarak belirlenmiştir. Spektroskopik analiz sonuçları ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_4$ kapalı formülüne sahip furanokumarin yapısında “nodakenetin” olduğu tespit edilmiştir (Liu, Sun, Shi ve Kong, 2005). Bileşiğe ait $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektroskopik değerleri Çizelge 4.4’de gösterilmiştir.

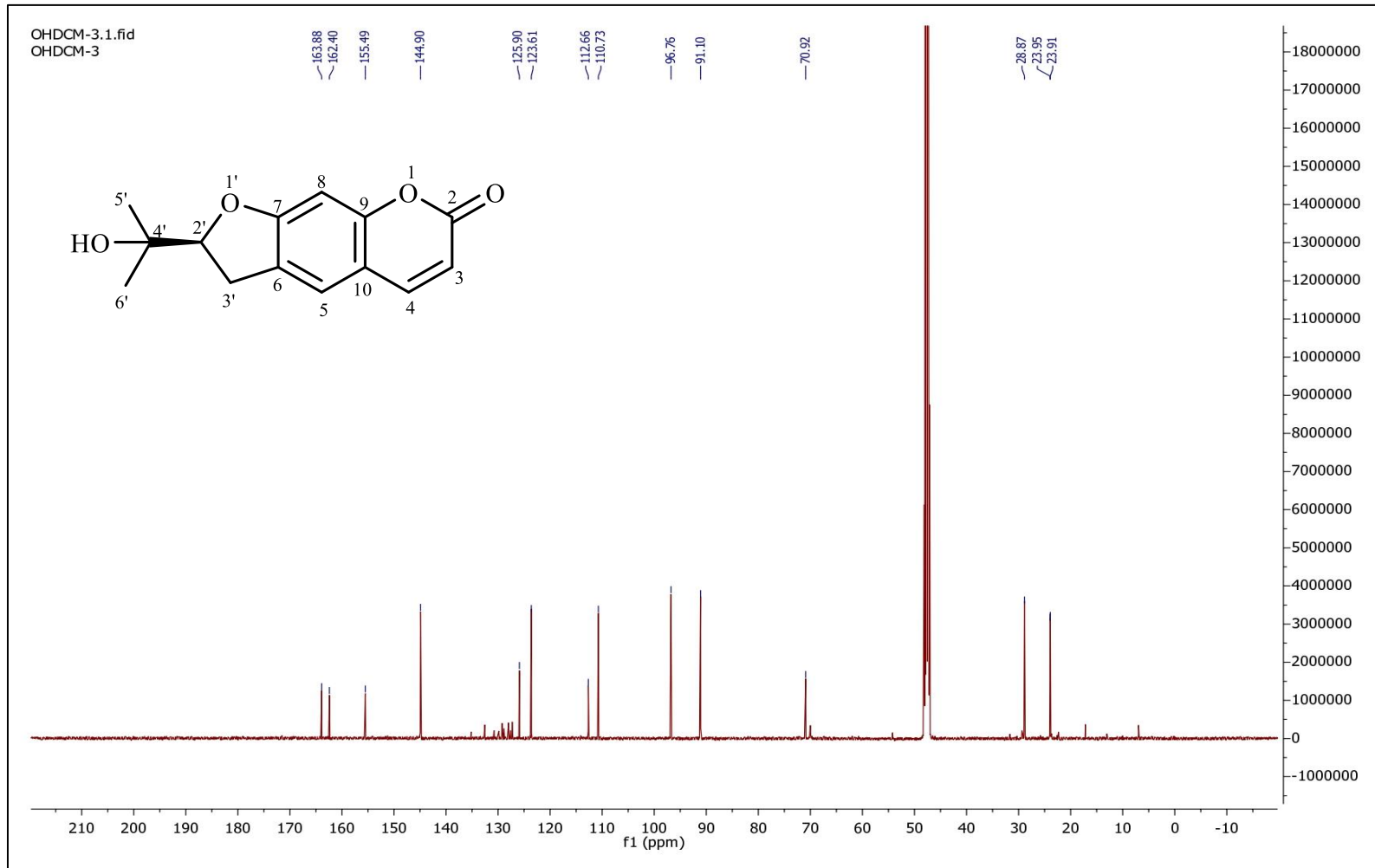
Çizelge 4.4. Nodakenetin (**4**) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri

	C/H	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm, J (Hz)
2	C	162,4	-
3	CH	110,7	6,09 (1H d, $J = 9,5$ Hz)
4	CH	144,9	7,74 (1H, d, $J = 9,5$ Hz)
5	CH	123,6	7,29 (1H, s)
6	C	125,9	-
7	C	163,8	-
8	CH	96,7	6,62 (1H, s)
9	C	155,4	-
10	C	112,6	-
2'	CH	91,1	4,65 (1H, t, $J = 8,7$ Hz)
3'	CH_2	28,9	3,15 (2H, d, $J = 8,1$ Hz)
4'	C	70,9	-
5'	CH_3	23,9	1,13 (3H, s)
6'	CH_3	23,9	1,19 (3H, s)

Nodakenetin (**4**) bileşiği CD_3OD ile çözülerek NMR spektrum analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.12. Nodakenetin (**4**) bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 4.13. Nodakenetin (**4**) bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Ön aktivite bulguları

Echinophora orientalis, *Lecokia cretica*, *Opopanax hispidus*, *Pimpinella isaurica* subsp. *isaurica*, *Smyrniurnum connatum* ve *Torilis ucranica* bitkilerinin metanollü ekstrelerinin 100 µg/mL konsantrasyonda %hücre canlılık değerleri Çizelge 4.5 ve Şekil 4.14’de verilmiştir.

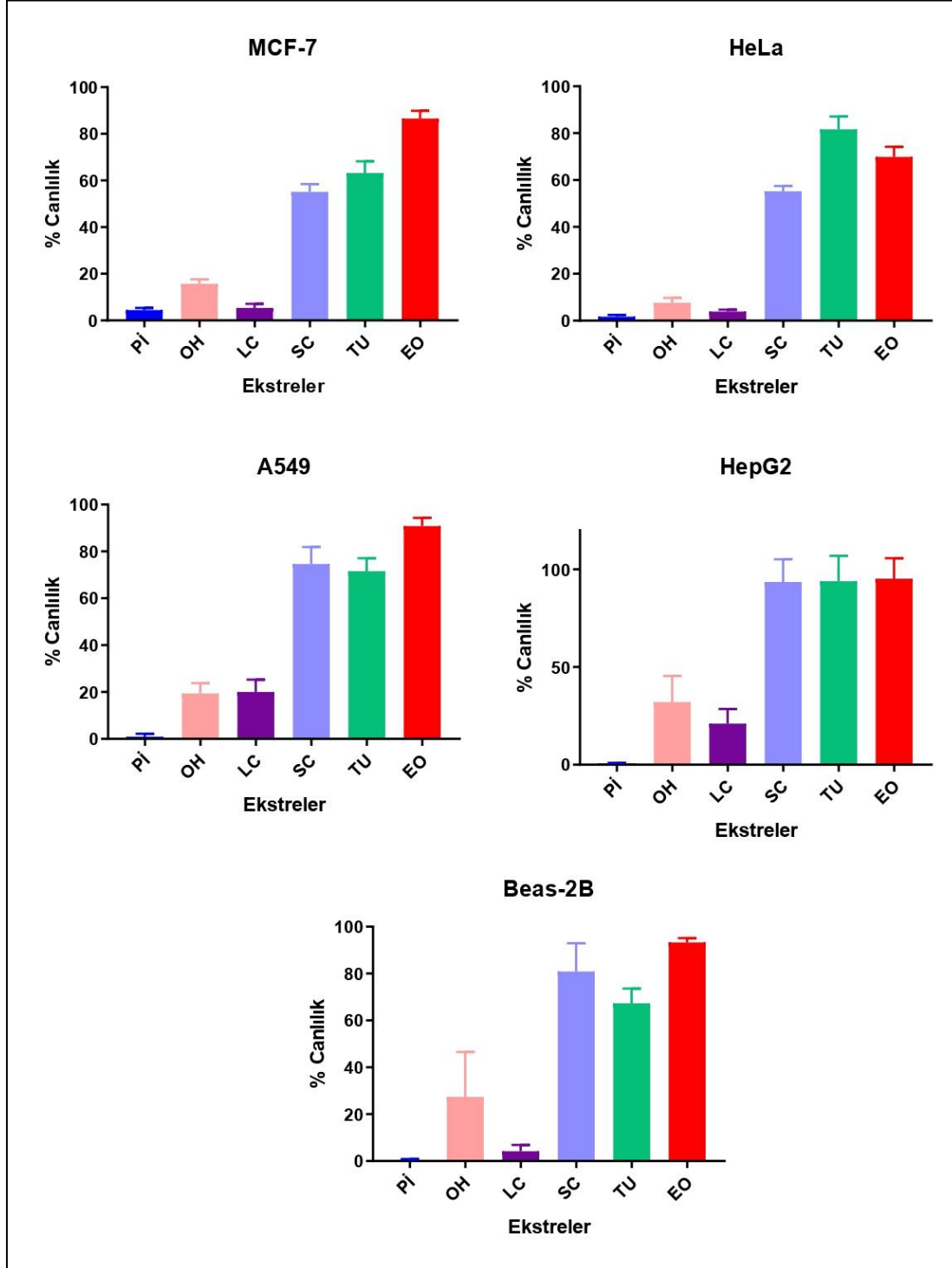
Çizelge 4.5. Apiaceae familyasına ait türlerin 100 µg/mL konsantrasyondaki %hücre canlılık değerleri

Bitki	%Hücre Canlılık ± SH				
	MCF-7	HeLa	A549	HepG2	Beas-2B
<i>E. orientalis</i>	86,50 ± 3,34	69,90 ± 4,33	90,80 ± 3,53	95,30 ± 10,4	93,30 ± 1,85
<i>L. cretica</i>	5,39 ± 1,73	3,87 ± 0,88	20,00 ± 1,77	21,00 ± 3,07	4,18 ± 0,95
<i>O. hispidus</i>	15,70 ± 1,98	7,61 ± 2,13	19,40 ± 1,46	32,10 ± 5,45	27,30 ± 6,77
<i>P. isaurica</i> subsp. <i>isaurica</i>	4,48 ± 0,93	1,67 ± 0,74	0,97 ± 0,40	0,64 ± 0,33	0,34 ± 0,18
<i>S. connatum</i>	55,10 ± 3,31	55,20 ± 2,20	74,70 ± 2,39	93,50 ± 5,84	80,80 ± 4,04
<i>T. ucranica</i>	63,20 ± 4,97	81,60 ± 5,55	71,50 ± 1,86	94,00 ± 6,47	67,30 ± 2,12

SH: Standart Hata

Maksimum konsantrasyonda tüm hücre hatlarında en fazla hücre azalması *P. isaurica* subsp. *isaurica*, *L. cretica* ve *O. hispidus* bitkilerinin ekstrelerinde gözlemlendi. MCF-7 hücre hattında *P. isaurica* subsp. *isaurica* %4,48; *L. cretica* %5,39; *O. hispidus* %15,70; HeLa hücre hattında *P. isaurica* subsp. *isaurica* %1,67; *L. cretica* %3,87; *O. hispidus* %7,61; A549 hücre hattında *P. isaurica* subsp. *isaurica* %0,97; *L. cretica* %20; *O. hispidus* %19,40; HepG2 hücre hattında *P. isaurica* subsp. *isaurica* %0,64; *L. cretica* %21; *O. hispidus* %32,10 hücre canlılığı ile antiproliferatif etki gösterdi. *S. connatum* MCF-7 ve HeLa hücre hatlarında sırasıyla %55,10 ve %55,20 hücre canlılık sonucu ile meme kanseri ve serviks kanseri hücrelerine karşı orta dereceli etki gösterirken A549 ve HepG2 hücre hatlarında belirgin hücre azalması kaydedilmedi. *E. orientalis* ve *T. ucranica* bitki ekstrelerinde ise araştırılan hücre hatlarına karşı 100 µg/mL konsantrasyonda kayda değer bir sitotoksik etki görülmedi.

Ön aktivite deneylerinden elde edilen bulgulara göre, *P. isaurica* subsp. *isaurica*, *L. cretica* ve *O. hispidus* bitkilerinde alt doz tarama çalışmalarının gerçekleştirilmesine karar verildi.



PI: *Pimpinella isaurica* subsp. *isaurica*; OH: *Opopanax hispidus*; LC: *Lecokia cretica*; SC: *Smyrniurn connatum*; TU: *Torilis ucranica*; EO: *Echinophora orientalis*

Şekil 4.14. Apiaceae familyasına ait seçilen türlerin metanollü ekstrelerinin 100 µg/mL konsantrasyondaki % hücre canlılık değerleri

4.2.2. *L. cretica*, *O. hispidus* ve *P. isaurica*'nın ana ekstrelerinin sitotoksik aktivite bulguları

L. cretica, *O. hispidus* ve *P. isaurica*'nın metanollü ekstrelerinin 100/31,6/10/3,2/1 µg/mL konsantrasyonlarına ait doz tarama çalışma sonuçları ve pozitif kontrol doksorubisinin (10/3/1/0,3 µM) test edilen hücre hatlarındaki sitotoksik aktiviteleri, IC₅₀ değerleri olarak Çizelge 4.6, Şekil 4.15, 4.16 ve 4.17'de gösterilmiştir. Ana ekstrelerin kanser hücrelerine karşı seçicilikleri Çizelge 4.7'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. *L. cretica*, *O. hispidus* ve *P. isaurica*'nın metanollü ekstrelerinin ve doksorubisinin sitotoksik aktivite bulguları

	IC ₅₀ ± SH (µg/mL)				
	MCF-7	HeLa	A549	HepG2	Beas-2B
LC MeOH	13,50 ± 1,54	52,07 ± 4,13	29,75 ± 2,71	62,39 ± 5,01	12,58 ± 1,26
OH MeOH	21,44 ± 2,01	49,53 ± 2,77	40,78 ± 2,54	77,68 ± 5,84	36,82 ± 2,01
Pİ MeOH	5,36 ± 0,52	12,19 ± 1,24	15,57 ± 1,06	7,62 ± 0,80	6,42 ± 0,49
Doksorubisin*	1,89 ± 0,27	0,55 ± 0,06	0,82 ± 0,13	3,02 ± 0,37	0,34 ± 0,02

* Doksorubisine ait bulgular IC₅₀ ± SH (µM) olarak ifade edilmiştir.

LC: *L. cretica*; OH: *O. hispidus*; Pİ: *P. isaurica* subsp. *isaurica*; SH: Standart Hata

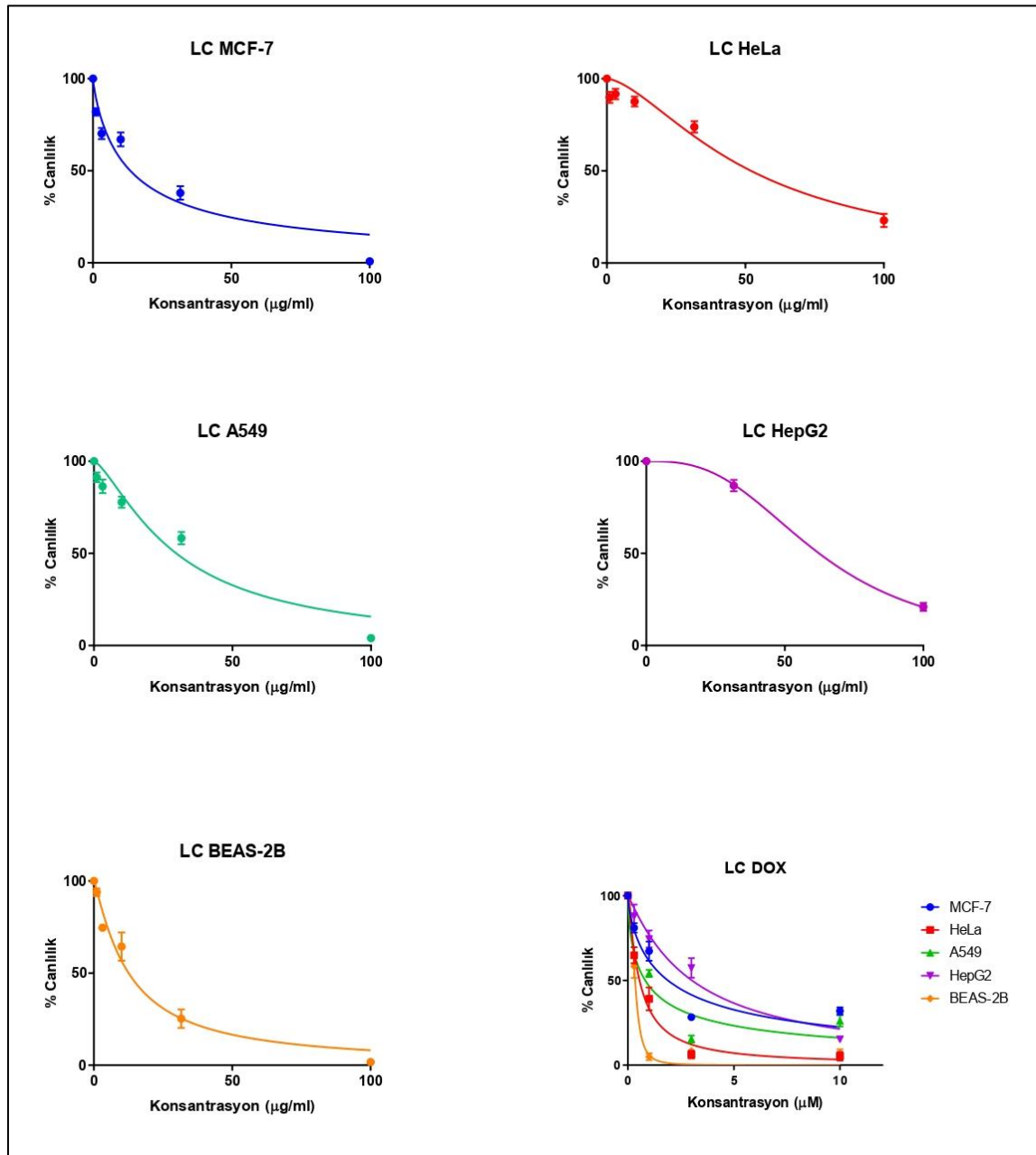
Çizelge 4.7. *L. cretica*, *O. hispidus* ve *P. isaurica*'nın metanollü ekstrelerinin ve doksorubisinin test edilen kanser hücre hatlarına karşı seçicilik indeksleri

	SI (IC ₅₀ Beas-2B/ IC ₅₀ kanser hücreleri)			
	MCF-7	HeLa	A549	HepG2
LC MeOH	0,93	0,24	0,42	0,20
OH MeOH	1,72	0,74	0,90	0,47
Pİ MeOH	1,20	0,53	0,41	0,84
Doksorubisin	0,20	0,62	0,41	0,11

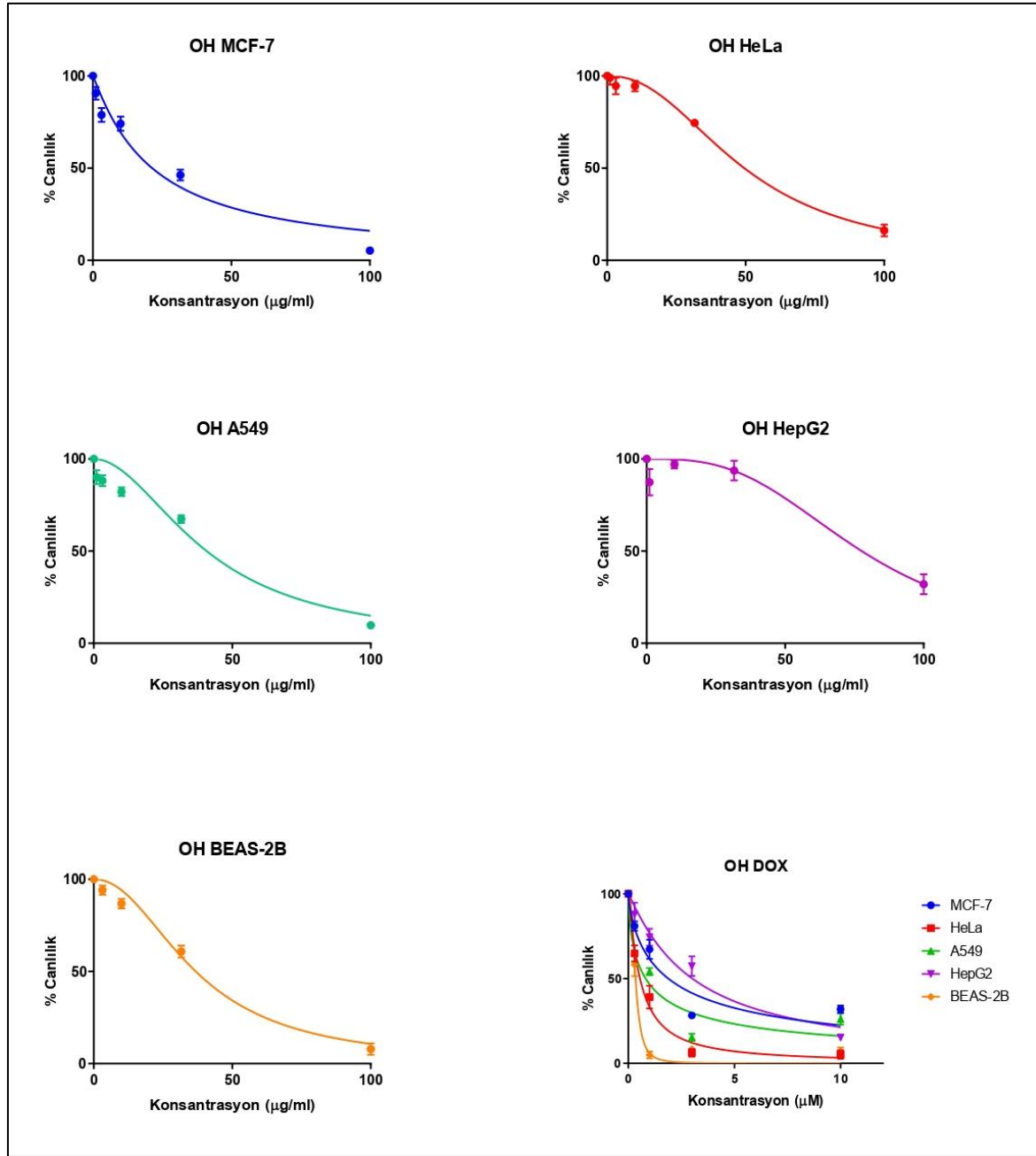
SI: Seçicilik indeksi; LC: *L. cretica*; OH: *O. hispidus*; Pİ: *P. isaurica* subsp. *isaurica*

Çalıştığımız bitki ana ekstrelerinin en duyarlı olduğu kanser hücre hattının MCF-7 olduğu belirlendi (IC₅₀ değerleri *L. cretica* için 13,50 µg/mL; *O. hispidus* için 21,44 µg/mL; *P. isaurica* subsp. *isaurica* için 5,36 µg/mL). *O. hispidus* için 1,72 ve *P. isaurica* subsp. *isaurica* için 1,20 olarak hesaplanan seçicilik indeksi değerleri, bitki ana ekstrelerinin meme kanseri hücrelerinde kısmi seçici olduğunu gösterdi. *P. isaurica* subsp. *isaurica* ana

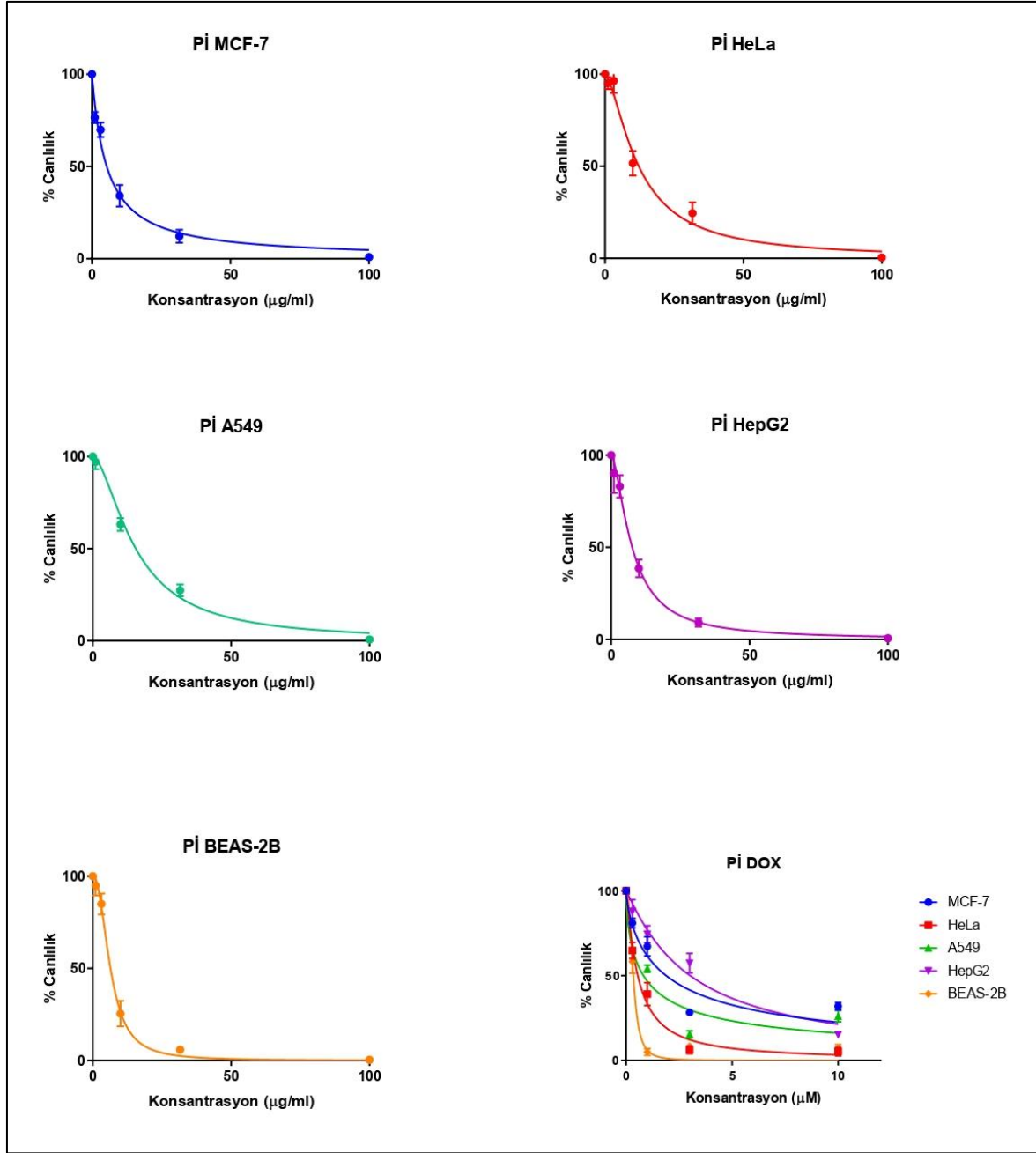
ekstresi, test edilen tüm hücre hatlarında güçlü sitotoksikite gösterdi (IC_{50} = 5,36-15,57 μ g/mL). Öte yandan, IC_{50} değerlerine göre *L. cretica* ve *O. hispidus*'un metanollü ekstrelerinin en az duyarlı olduğu kanser hücre hattı HepG2 iken, *P. isaurica* subsp. *isaurica*'nın metanollü ekstresinin en az duyarlı olduğu hücre hattı A549 olarak belirlendi. Pozitif kontrol doksorubisinin IC_{50} değerleri meme, serviks, akciğer ve karaciğer kanseri hücre hatlarında sırasıyla 1,89 μ M, 0,55 μ M, 0,82 μ M ve 3,02 μ M olarak hesaplandı.



Şekil 4.15. *L. cretica*'nın metanollü ekstresi ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) LC: *L. cretica*; Dox: Doksorubisin; SH: Standart Hata



Şekil 4.16. *O. hispidus*'un metanollü ekstresi ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) OH: *O. hispidus*; Dox: Doksorubisin; SH: Standart Hata



Şekil 4.17. *P. isaurica*'nın metanollü ekstresi ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) *Pi*: *P. isaurica* subsp. *isaurica*; *Dox*: Doksorubisin; *SH*: Standart Hata

4.2.3. *L. cretica*, *O. hispidus* ve *P. isaurica*'nın metanollü ekstrelerinden elde edilen alt ekstrelerin sitotoksik aktivite bulguları

L. cretica, *O. hispidus* ve *P. isaurica* subsp. *isaurica*'nın metanollü ekstrelerinden sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği ile hazırlanan farklı polaritedeki alt ekstrelerinin (*n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, *n*-butanol ve su) sitotoksik aktiviteleri, her üç bitkinin de en

duyarlı olduğu meme ve akciğer kanseri hücre hatlarında 100/31,6/10/3,2/1 µg/mL konsantrasyonlarda değerlendirilmiştir.

L. cretica'nın alt ekstrelerinin sitotoksik aktivite bulguları

L. cretica'nın *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, *n*-butanol, su alt ekstreleri ve pozitif kontrol doksorubisinin test edilen hücre hatlarındaki sitotoksik aktiviteleri, IC₅₀ değerleri olarak Çizelge 4.8 ve Şekil 4.18'de gösterilmiştir. *L. cretica*'nın alt ekstrelerinin akciğer ve meme kanseri hücrelerine karşı seçicilik indeksleri Çizelge 4.9'da sunulmuştur.

Çizelge 4.8. *L. cretica* 'nın alt ekstrelerinin sitotoksik aktivite bulguları

<i>L. cretica</i>	IC ₅₀ ± SH (µg/mL)		
	MCF-7	A549	Beas-2B
LCNH	9,43 ± 0,49	15,47 ± 0,86	5,52 ± 0,40
LCDCM	14,38 ± 1,56	21,09 ± 1,53	11,68 ± 0,55
LCEtOAc	>100	>100	>100
LCBuOH	>100	>100	>100
LCH ₂ O	>100	>100	>100
Doksorubisin*	1,89 ± 0,27	0,82 ± 0,13	0,34 ± 0,02

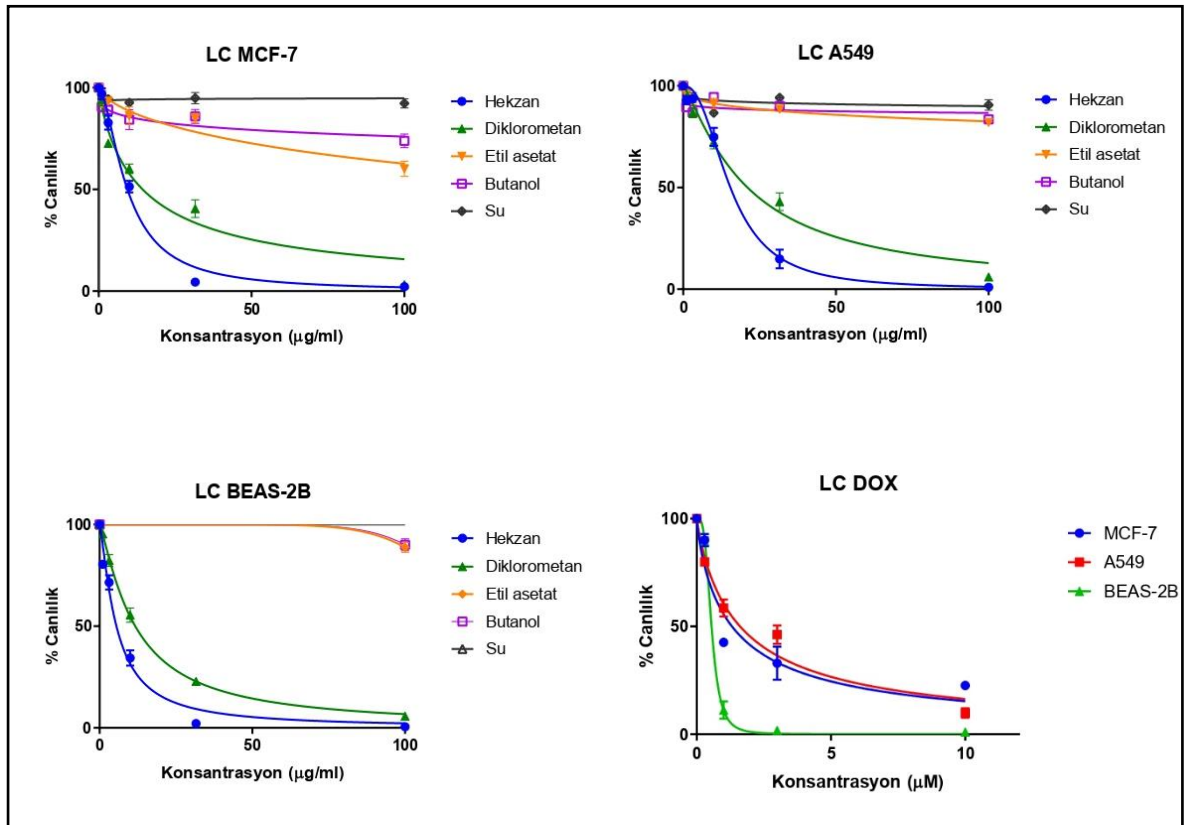
* Doksorubisine ait bulgular IC₅₀ ± SH (µM) olarak ifade edilmiştir. LCNH: *L. cretica* *n*-hekzan alt ekstesi; LCDCM: *L. cretica* diklorometan alt ekstresi; LCEtOAc: *L. cretica* etil asetat alt ekstresi; LCBuOH: *L. cretica* *n*-butanol alt ekstresi; LCH₂O: *L. cretica* su alt ekstresi

Çizelge 4.9. *L. cretica*'nın alt ekstrelerinin ve doksorubisinin A549 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı seçicilik indeksleri

<i>L. cretica</i>	SI (IC ₅₀ Beas-2B/ IC ₅₀ kanser hücreleri)	
	MCF-7	A549
LCNH	0,59	0,36
LCDCM	0,81	0,55
LCEtOAc	-	-
LCBuOH	-	-
LCH ₂ O	-	-
Doksorubisin	0,20	0,41

LCNH: *L. cretica* *n*-hekzan alt ekstesi; LCDCM: *L. cretica* diklorometan alt ekstresi; LCEtOAc: *L. cretica* etil asetat alt ekstresi; LCBuOH: *L. cretica* *n*-butanol alt ekstresi; LCH₂O: *L. cretica* su alt ekstresi

Alt ekstreler arasında *n*-hekzan ve diklorometanın doz bağımlı olarak A549 ve MCF-7 hücre hatlarında önemli sitotoksik etki gösterdiği belirlendi (Şekil 4.18). IC₅₀ değerleri *n*-hekzan alt ekstresinde MCF-7 ve A549 hücre hattında sırasıyla 9,43 µg/mL ve 15,47 µg/mL; diklorometan alt ekstresinde sırasıyla 14,38 µg/mL ve 21,09 µg/mL olarak kaydedildi. Etil asetat, *n*-butanol ve su ekstrelerinde ise herhangi bir antiproliferatif etki gözlenmedi. Doksorubisinin IC₅₀ değerleri meme ve akciğer kanseri hücrelerinde 1,89 ve 0,82 µM olarak hesaplandı. Öte yandan, aktif alt ekstrelerin (*n*-hekzan ve diklorometan), Beas-2B hücrelerine karşı sırasıyla 5,52 µg/mL ve 11,68 µg/mL IC₅₀ değerleri ile güçlü sitotoksikite gösterdiği ve *L. cretica*'nın *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstrelerinin kanser hücrelerine karşı seçicilik göstermediği tespit edildi.



Şekil 4.18. *L. cretica*'nın alt ekstrelerinin ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) LC: *L. cretica*; Dox: Doksorubisin; SH: Standart Hata

O. hispidus'un alt ekstrelerinin sitotoksik aktivite bulguları

O. hispidus *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, *n*-butanol, su alt ekstreleri ve doksorubisinin test edilen hücre hatlarındaki sitotoksik aktiviteleri IC₅₀ değerleri olarak

Çizelge 4.10 ve Şekil 4.19’de gösterilmiştir. *O. hispidus*’un alt ekstralarının akciğer ve meme kanseri hücrelerine karşı seçicilik indeksleri Çizelge 4.11’de sunulmuştur.

Çizelge 4.10. *O. hispidus*’un alt ekstralarının sitotoksik aktivite bulguları

<i>O. hispidus</i>	IC₅₀ ± SH (µg/mL)		
	MCF-7	A549	Beas-2B
OHNH	10,90 ± 0,41	9,77 ± 0,57	6,42 ± 0,32
OHDCM	8,47 ± 0,95	7,10 ± 0,78	2,16 ± 0,19
OHetOAc	>100	>100	>100
OHBuOH	>100	>100	>100
OHH₂O	>100	>100	>100
Doksorubisin*	1,89 ± 0,27	0,82 ± 0,13	0,34 ± 0,02

* Doksorubisine ait bulgular IC₅₀ ± SH (µM) olarak ifade edilmiştir. OHNH: *O. hispidus* *n*-hekzan alt ekstesi; OHDCM: *O. hispidus* diklorometan alt ekstresi; OHetOAc: *O. hispidus* etil asetat alt ekstresi; OHBuOH: *O. hispidus* *n*-butanol alt ekstresi; OHH₂O: *O. hispidus* su alt ekstresi; SH: Standart Hata

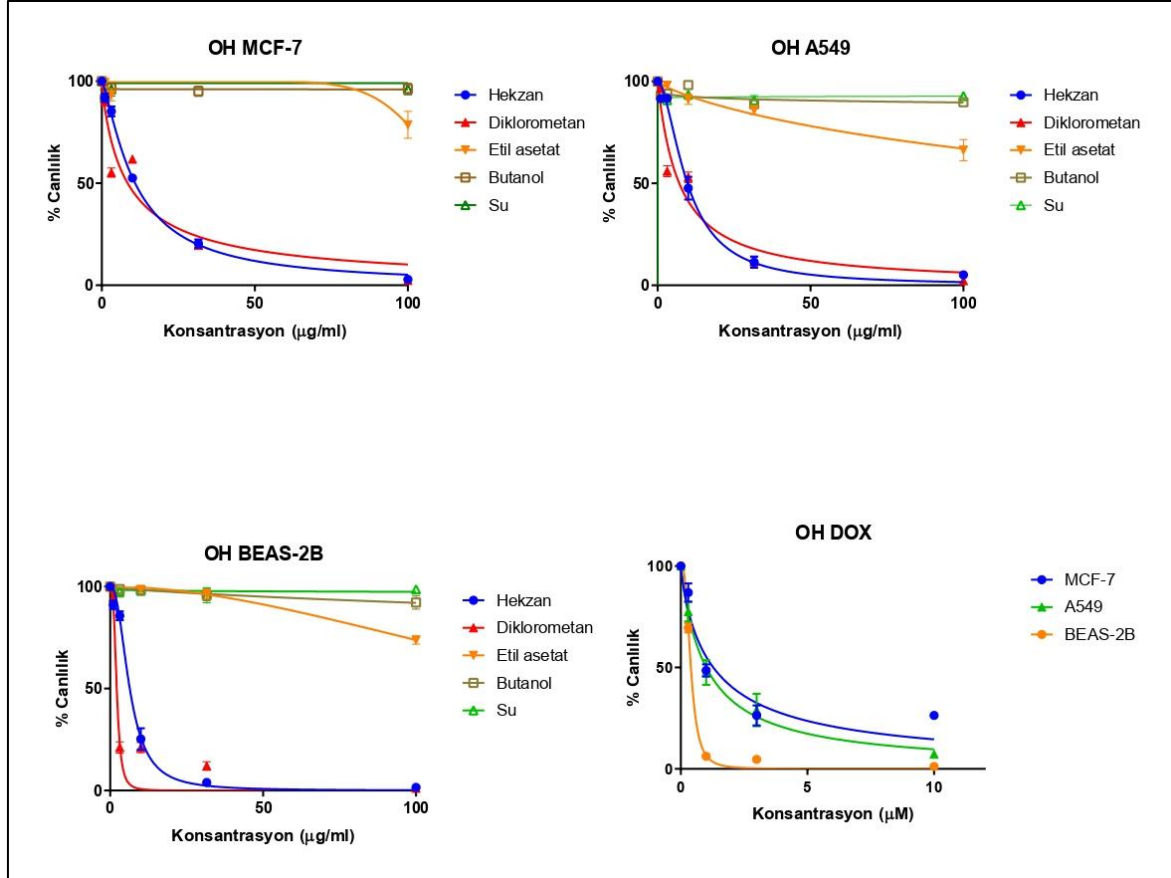
Çizelge 4.11. *O. hispidus*’un alt ekstralarının ve doksorubisinin A549 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı seçicilik indeksleri

<i>O. hispidus</i>	SI (IC₅₀ Beas-2B/ IC₅₀ kanser hücreleri)	
	MCF-7	A549
OHNH	0,59	0,66
OHDCM	0,26	0,30
OHetOAc	-	-
OHBuOH	-	-
OHH₂O	-	-
Doksorubisin	0,20	0,41

OHNH: *O. hispidus* *n*-hekzan alt ekstesi; OHDCM: *O. hispidus* diklorometan alt ekstresi; OHetOAc: *O. hispidus* etil asetat alt ekstresi; OHBuOH: *O. hispidus* *n*-butanol alt ekstresi; OHH₂O: *O. hispidus* su alt ekstresi; SI: Seçicilik indeksi

O. hispidus’un *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstraları doz bağımlı olarak akciğer ve meme kanseri hücre hatlarında önemli sitotoksik aktivite gösterdi (Şekil 4.19). İki alt ekstrenin hem meme hem de akciğer kanseri hücrelerinde 20 µg/mL’den düşük IC₅₀ değerine sahip olduğu tespit edildi. IC₅₀ değerleri *n*-hekzan alt ekstresi için MCF-7 ve A549 hücre hattında sırasıyla 10,90 µg/mL ve 9,77 µg/mL iken; diklorometan alt ekstresi için 8,47 µg/mL ve 7,10 µg/mL olarak kaydedildi. Etil asetat, *n*-butanol ve su alt ekstralarında ise sitotoksik aktivitenin bulunmadığı tespit edildi. Pozitif kontrol olan doksorubisinin IC₅₀ değerleri ise meme ve akciğer kanseri hücre hatlarında sırasıyla 1,89

ve 0,82 μM olarak hesaplandı. *O. hispidus*'un *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstralarının IC_{50} değerleri sağlıklı hücre hattı olan Beas-2B üzerinde de sırasıyla 6,42 $\mu\text{g/mL}$ ve 2,16 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandığından, her iki alt ekstrenin de kanser hücrelerine karşı seçicilik göstermediği tespit edildi.



Şekil 4.19. *O. hispidus*'un alt ekstralarının ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) OH: *O. hispidus*; Dox: Doksorubisin; SH: Standart Hata

P. isaurica subsp. *isaaurica*'nın alt ekstralarının sitotoksik aktivite bulguları

P. isaurica subsp. *isaaurica*'nın *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, *n*-butanol, su alt ekstraları ve doksorubisinin test edilen hücre hatlarındaki sitotoksik aktiviteleri IC_{50} değerleri olarak Çizelge 4.12 ve Şekil 4.20'da gösterilmiştir. *P. isaurica*'nın alt ekstralarının akciğer ve meme kanseri hücrelerine karşı seçicilik indeksleri Çizelge 4.13'de sunulmuştur.

Çizelge 4.12. *P. isaurica* subsp. *isaurica*'nın alt ekstrelerinin sitotoksik aktivite bulguları

<i>P. isaurica</i>	IC₅₀ ± SH (µg/mL)		
	MCF-7	A549	Beas-2B
PİNH	9,95 ± 0,94	23,26 ± 1,83	5,99 ± 0,30
PİDCM	13,51 ± 1,00	25,06 ± 1,30	13,04 ± 0,67
PİEtOAc	38,31 ± 3,43	60,58 ± 3,94	50,05 ± 2,15
PİBuOH	>100	>100	>100
PİH₂O	>100	>100	>100
Doksorubisin*	1,89 ± 0,27	0,82 ± 0,13	0,34 ± 0,02

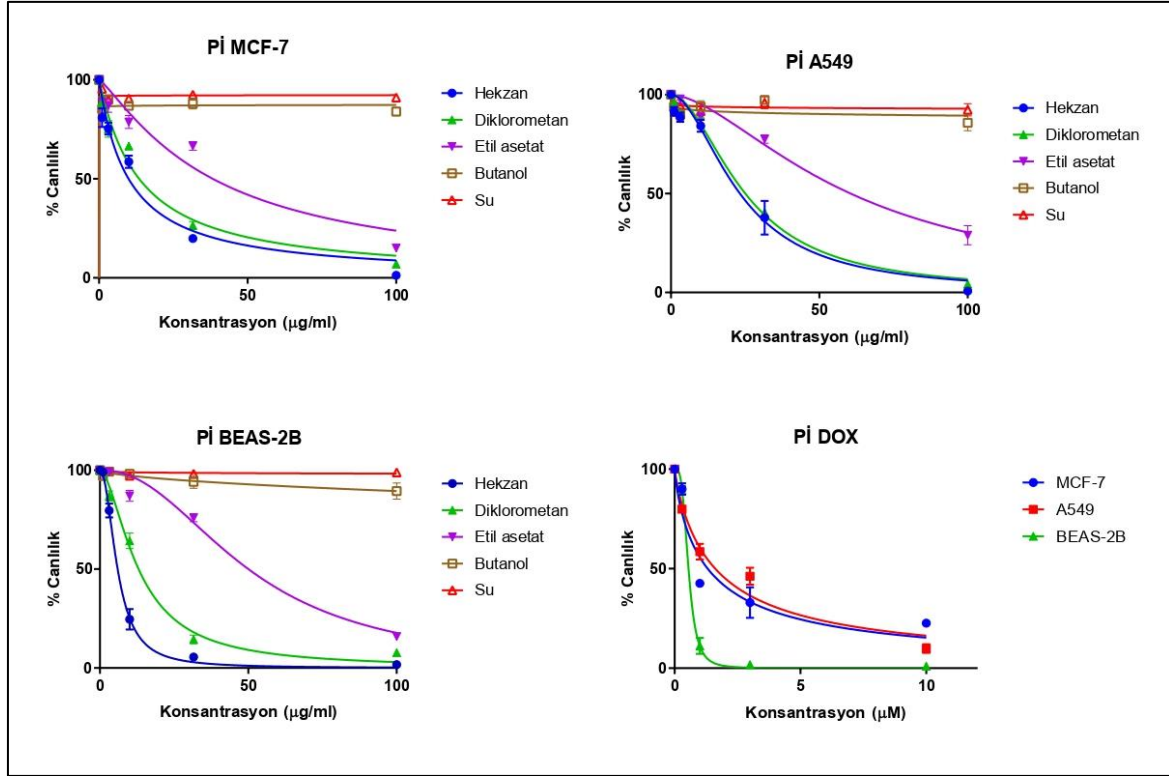
* Doksorubisine ait bulgular IC₅₀ ± SH (µM) olarak ifade edilmiştir. PİNH: *P. isaurica* subsp. *isaurica* n-hekzan alt ekstesi; PİDCM: *P. isaurica* subsp. *isaurica* diklorometan alt ekstresi; PİEtOAc: *P. isaurica* subsp. *isaurica* etil asetat alt ekstresi; PİBuOH: *P. isaurica* subsp. *isaurica* n-butanol alt ekstresi; PİH₂O: *P. isaurica* subsp. *isaurica* su alt ekstresi; SH: Standart Hata

Çizelge 4.13. *P. isaurica* subsp. *isaurica*'nın alt ekstrelerinin ve doksorubisinin A549 ve MCF-7 hücre hatlarına hatlarına karşı seçicilik indeksleri

<i>P. isaurica</i> subsp. <i>isaurica</i>	SI (IC₅₀ Beas-2B/ IC₅₀ kanser hücreleri)	
	MCF-7	A549
PİNH	0,60	0,26
PİDCM	0,97	0,52
PİEtOAc	1,31	0,83
PİBuOH	-	-
PİH₂O	-	-
Doksorubisin	0,20	0,41

PİNH: *P. isaurica* subsp. *isaurica* n-hekzan alt ekstesi; PİDCM: *P. isaurica* subsp. *isaurica* diklorometan alt ekstresi; PİEtOAc: *P. isaurica* subsp. *isaurica* etil asetat alt ekstresi; PİBuOH: *P. isaurica* subsp. *isaurica* n-butanol alt ekstresi; PİH₂O: *P. isaurica* subsp. *isaurica* su alt ekstresi; SI: Seçicilik indeksi

P. isaurica subsp. *isaurica*'nın alt ekstreleri arasında en güçlü sitotoksik etki doz bağımlı olarak n-hekzan ve diklorometan ekstrelerinde tespit edildi. n-Hekzan ve diklorometan alt ekstrelerinin IC₅₀ değerleri MCF-7 hücre hattında sırasıyla 9,95 ve 23,26 µg/mL; A549 hücre hattında sırasıyla 23,26 ve 25,06 µg/mL olarak kaydedildi. Öte yandan, etil asetat alt ekstresi meme ve akciğer kanseri hücrelerine karşı 38,31 ve 60,58 µg/mL IC₅₀ değerleri ile orta derecede sitotoksik aktivite gösterdi. Ayrıca, etil asetat alt ekstresi 1,31 SI değeri ile meme kanseri hücrelerinde seçiciliğe sahipti. Pozitif kontrol olan doksorubisinin IC₅₀ değeri ise meme ve akciğer kanseri hücrelerinde 1,89 ve 0,82 µM olarak hesaplandı.



Şekil 4.20. *P. isaurica* subsp. *isaurica*'nın alt ekstrelerinin ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) *Pİ*: *P. isaurica*; *Dox*: Doksorubisin; *SH*: Standart Hata

4.2.4. *O. hispidus*'un alt ekstrelerinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktivite bulguları

Akciğer kanseri hücrelerine karşı aktivite yönlendirmeli fraksiyonlanma ve izolasyon çalışmaları, A549 hücre hattına en fazla duyarlılık gösteren *O. hispidus*'un *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstreleri üzerinden yürütüldü.

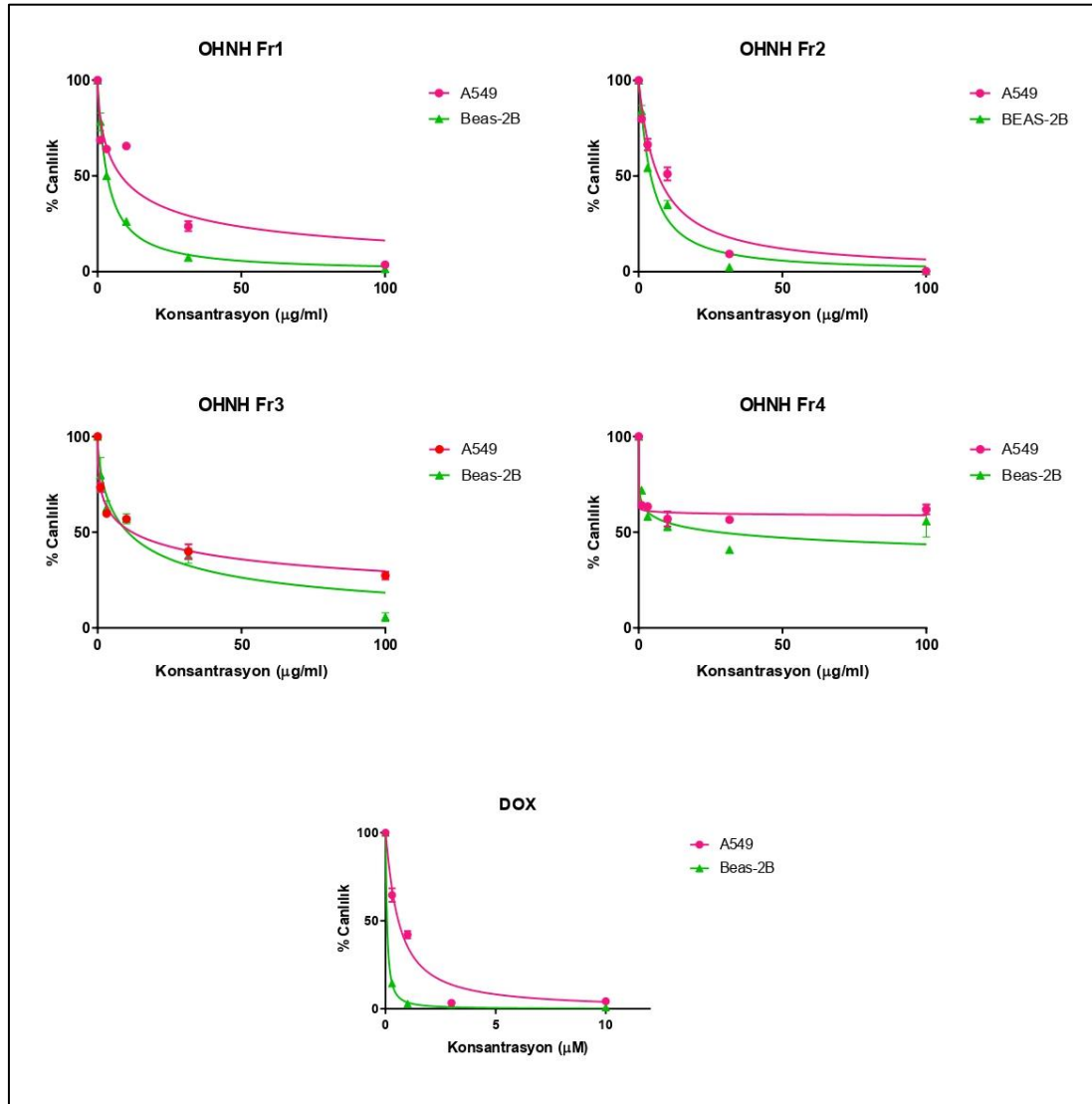
O. hispidus'un *n*-hekzan alt ekstrelerinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktivite bulguları

O. hispidus'un *n*-hekzan alt ekstresi üzerinde yürütülen aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmalarının ilk aşamasında, Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi kullanılarak fraksiyonlar elde edildi. Elde edilen fraksiyonların (OHNH Fr1-4) aktivite çalışmaları 100/31,6/10/3,2/1 µg/mL konsantrasyonda A549 ve Beas-2B hücre hatlarında gerçekleştirildi. Fraksiyonların sitotoksik aktivite bulguları ve seçicilik indeksleri Çizelge 4.14 ve Şekil 4.21'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. *O. hispidus*'un *n*-hekzan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktiviteleri ve seçicilik indeksleri

OHNH	IC ₅₀ ± SH (µg/mL)		SI
	A549	Beas-2B	
OHNH Fr1	8,20 ± 1,28	3,37 ± 0,20	0,41
OHNH Fr2	6,89 ± 0,63	4,23 ± 0,33	0,61
OHNH Fr3	12,05 ± 1,36	10,50 ± 1,24	0,87
OHNH Fr4	>100	28,03 ± 11,91	-
Doksorubisin*	0,59 ± 0,05	0,07 ± 0,017	0,12

* Doksorubisine ait bulgular IC₅₀ ± SH (µM) olarak ifade edilmiştir. OHNH: *O. hispidus* *n*-hekzan alt ekstresi; SI: Seçicilik indeksi; SH: Standart Hata; SI: Seçicilik indeksi



Şekil 4.21. *O. hispidus*'un *n*-hekzan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı ± SH) Dox: Doksorubisin; SH: Standart Hata

O. hispidus'un *n*-hekzan fraksiyonlarından ONHH Fr4 dışında diğer üç fraksiyon 20 µg/mL'den düşük IC₅₀ değerleri ile akciğer kanseri hücrelerinde önemli sitotoksik etki gösterdi. Pozitif kontrol olan doksorubisinin IC₅₀ değeri 0,59 µM olarak hesaplandı. Fraksiyonların arasında en etkili olanın, 6,89 µg/mL IC₅₀ değeri ile OHNH Fr2 olduğu belirlendi.

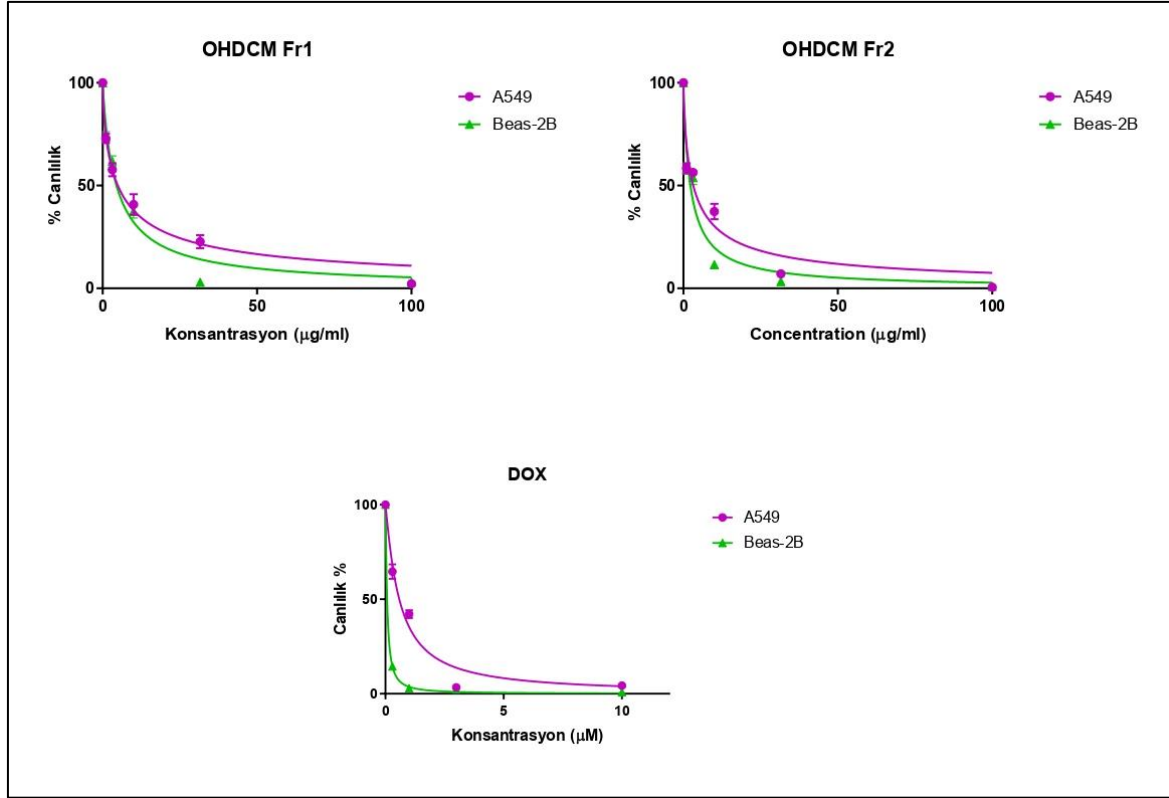
O. hispidus'un diklorometan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktivite bulguları

O. hispidus'un diklorometan alt ekstresi üzerinde yürütülen aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmalarının ilk aşamasında, Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi kullanılarak fraksiyonlar elde edildi. Elde edilen fraksiyonların (OHDCM Fr1 ve 2) aktivite çalışmaları 100/31,6/10/3,2/1 µg/mL konsantrasyonda A549 ve Beas-2B hücre hatlarında gerçekleştirildi. Fraksiyonların sitotoksik aktivite bulguları ve seçicilik indeksleri Çizelge 4.15 ve Şekil 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. *O. hispidus*'un diklorometan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların sitotoksik aktiviteleri ve seçicilik indeksleri

OHDCM	IC ₅₀ ± SH (µg/mL)		SI
	A549	Beas-2B	
OHDCM Fr1	4,92 ± 0,52	4,49 ± 0,39	0,91
OHDCM Fr2	3,20 ± 0,41	2,28 ± 0,28	0,71
Doksorubisin*	0,59 ± 0,05	0,07 ± 0,017	0,12

* Doksorubisine ait bulgular IC₅₀ ± SH (µM) olarak ifade edilmiştir. OHDCM: *O. hispidus* diklorometan alt ekstresi; SI: Seçicilik indeksi; SH: Standart Hata



Şekil 4.22. *O. hispidus*'un diklorometan alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) OHDCM: *O. hispidus* diklorometan alt ekstresi; Dox: Doksorubisin; SH: Standart Hata

O. hispidus'un diklorometan fraksiyonları akciğer kanseri hücre hattına karşı 4,92 ve 3,20 µg/mL IC₅₀ değerleri ile doza bağlı güçlü sitotoksiste gösterdi. Pozitif kontrol olan doksorubisinin IC₅₀ değeri 0,59 µM olarak hesaplandı.

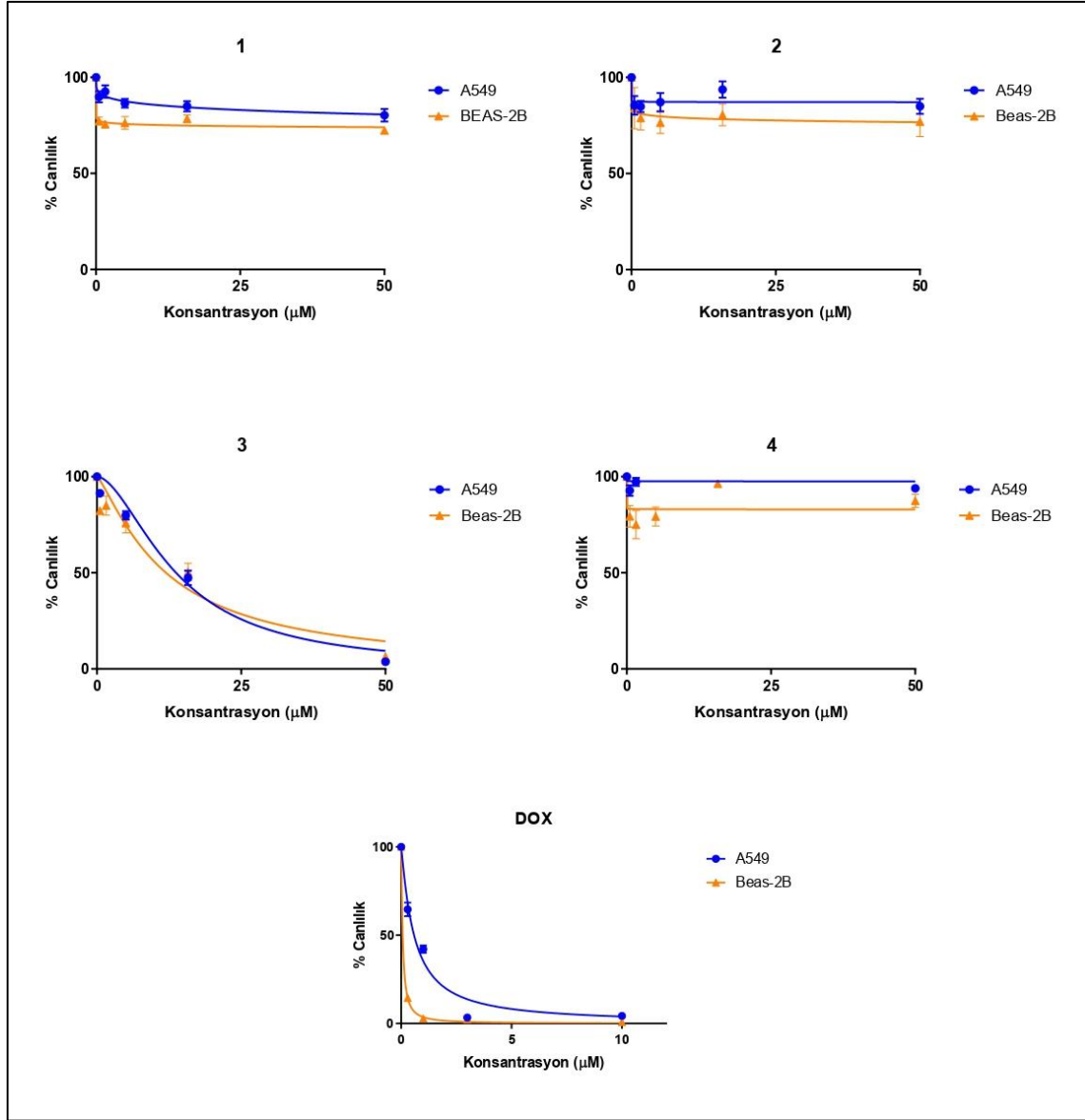
4.2.5. *O. hispidus*'un aktif fraksiyonlarından izole edilen bileşiklerin sitotoksik aktivite bulguları

O. hispidus'un aktif fraksiyonları olan OHNH Fr2 ve OHDCM Fr2'den çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak izole edilen umbelliferon 6-karboksilik asit (**1**), umbelliferon (**2**), 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3"-(γ,γ -dimetilallil)-4"hidroksi β -hidroksidihidrokalon (**3**) ve nodakenetin (**4**) sitotoksik etkileri A549 ve Beas-2B hücre hatlarında 50/15,8/5/1,6/0,5 µM konsantrasyonda MTT yöntemi ile araştırıldı. İzole edilen bileşiklerin sitotoksik aktivite bulguları ve seçicilik indeksleri Çizelge 4.16 ve Şekil 4.23'de verilmiştir.

Çizelge 4.16. *O. hispidus*'un aktif fraksiyonlarından izole edilen bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri ve seçicilik indeksleri

Bileşikler	IC ₅₀ ± SH (µM)		SI
	A549	Beas-2B	
1	>50	>50	-
2	>50	>50	-
3	13,72 ± 0,80	11,97 ± 1,5	0,87
4	>50	>50	-
Doksorubisin	0,59 ± 0,05	0,07 ± 0,017	0,12

1: Umbelliferon 6-karboksilik asit; 2: Umbelliferon; 3: 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalon; 4: Nodakenetin; SH: Standart Hata; SI: Seçicilik indeksi



Şekil 4.23. *O. hispidus*'un aktif fraksiyonlarından izole edilen bileşiklerin ve doksorubisinin test edilen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (% ortalama hücre canlılığı $\pm$ SH) Dox: Doksorubisin; 1:Umbelliferon 6-karboksilik asit; 2: Umbelliferon; 3: 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalon; 4: Nodakenetin; SH: Standart Hata

O. hispidus'un diklorometan alt ekstresi OHDCM Fr2 fraksiyonundan izole edilen 3 kodlu bileşiğin akciğer kanseri hücre hattında 13,72 μ M IC₅₀ değeri ile etkili olduğu tespit edildi. Bileşiğin kanser hücresine seçiciliği 0,87 olarak hesaplandı.

4.3. *In silico* Analiz Bulguları

In silico biyolojik aktivite taramasında, izole edilen bileşikler için tahmin edilen aktiviteler arasında ilk 10 yüksek tahmin puanına sahip aktiviteler Çizelge 4.17'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. *O. hispidus*'tan izole edilen bileşikler için *in silico* aktivite tayin bulguları

Bileşikler	Biyolojik aktiviteler	Olasılık (Paktif-Pinaktif)
Umbelliferon 6-karboksilik asit	4-Nitrofenol 2-monooksijenaz inhibitörü	0,936 - 0,001
	CYP2C12 substratı	0,938 - 0,005
	Klordekon redüktaz inhibitörü	0,926 - 0,004
	Antiüremik	0,917 - 0,002
	CYP2A11 substratı	0,912 - 0,002
	Antiseptik	0,903 - 0,003
	Glukan endo-1,6-beta-glukosidaz inhibitörü	0,900 - 0,003
	Aril-alkol dehidrojenaz (NADP+) inhibitörü	0,896 - 0,002
	UGT1A6 substratı	0,893 - 0,003
	Kolestantriol 26-monooksijenaz inhibitörü	0,885 - 0,003
Umbelliferon	CYP2C12 substratı	0,976 - 0,002
	CYP2A11 substratı	0,941 - 0,001
	Klordekon redüktaz inhibitörü	0,936 - 0,003
	Membran bütünlüğü agonisti	0,937 - 0,004
	Aspulvinon dimetilallil transferaz	0,933 - 0,004
	4-Nitrofenol 2-monooksijenaz inhibitörü	0,928 - 0,002
	CYP2B5 substratı	0,915 - 0,002
	CYP2A4 substratı	0,914 - 0,001
	Kardiyovasküler analeptik	0,908 - 0,003
	Aril-alkol dehidrojenaz (NADP+) inhibitörü	0,906 - 0,002

Çizelge 4.17. (devam) *O. hispidus*'tan izole edilen bileşikler için in silico aktivite tayin bulguları

Bileşikler	Biyolojik aktiviteler	Olasılık (Paktif-Pinaktif)
2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(γ,γ-dimetilallil)-4''hidroksi β-hidroksidihidrokalon	CDP-gliserol gliserofosfotransferaz inhibitörü	0,881 - 0,013
	Membran bütünlüğü agonisti	0,866 - 0,020
	Ubikinol-sitokrom-c redüktaz inhibitörü	0,836 - 0,021
	CYP2D6 substratı	0,817 - 0,005
	UDP-glukuronosiltransferaz substratı	0,804 - 0,006
	UDP-glukuronosiltransferaz substratı	0,804 - 0,006
	Aspulvinon dimetilalliltransferaz inhibitörü	0,785 - 0,038
	İndirgeyici	0,740 - 0,005
	Laktaz inhibitörü	0,733 - 0,005
	Koleretik	0,720 - 0,004
Nodakenetin	CYP2C12 substratı	0,912 - 0,009
	Antiiskemik, serebral	0,871 - 0,007
	CYP2A11 substratı	0,855 - 0,003
	Spazmolitik	0,773 - 0,005
	Anti-enflamatuvar	0,759 - 0,009
	Spazmolitik, üriner	0,755 - 0,006
	4-Nitrofenol 2-monooksijenaz inhibitörü	0,751 - 0,005
	CYP2A4 substratı	0,722 - 0,005
	CYP2F1 substratı	0,703 - 0,005
	CYP2A6 substratı	0,694 - 0,010

İzole edilen dört bileşğin farklı insan hücre hatlarına karşı sitotoksitesini tahmin eden CLC-Pred yazılımında ise umbelliferon 6-karboksilik asitin herhangi bir hücre hattında sitotoksik aktivite göstermeyeceği değerlendirilmiştir. Umbelliferonun ise oligodendroglioma ($P_a = 0,618$; $P_i = 0,021$) ve meme karsinomuna ($P_a = 0,504$; $P_i = 0,051$) karşı sitotoksik aktivitesinin olabileceği raporlanmıştır. Nodakenetinin promyeloblast lösemi ($P_a = 0,524$; $P_i = 0,024$) ve küçük hücreli akciğer karsinomuna ($P_a = 0,508$; $P_i = 0,013$) karşı sitotoksikite tahmini yapılmıştır. 2',6'-Dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidrokalikon bileşğinde ise sitotoksik aktivite küçük hücreli akciğer karsinomlarına ($P_a = 0,547$; $P_i = 0,007$) karşı belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Kanser tarih boyunca, insanlarda ve hayvanlarda görülen ve görülme sıklığı her geçen gün artan önemli bir sağlık sorunudur. Günümüzde önemi giderek artan, tanı ve tedavisi zor, kişisel bir hastalıktır. Normal hücre büyümesinde ve homeostazda meydana gelen birtakım değişiklikler, hücresel düzeyde artan proliferasyona, apoptozun inhibisyonuna ve metastaz gelişimine neden olmaktadır. Mutasyonlar, tümörün malign fenotipe dönüşümüne neden olabilir. Malign tümörler, metastaza ve sonuç olarak ölüme neden olur (Weinberg ve Hanahan, 2000).

Kanser görülme sıklığı kalıtsal ya da çevresel faktörlere bağlı olarak, bölgelere ve ülkelere göre değişmektedir. Kanser görülme sıklığı ve kanser türleri, cinsiyete göre farklılık göstermekle birlikte, 2020 yılında her iki cinsiyette dünya genelinde en fazla ölüme neden olan kanser türünün akciğer kanseri (%18) olduğu rapor edilmiştir. Akciğer kanserini kolon (%9,4), karaciğer (%8,3), mide (%7,7) ve meme kanseri (%6,9) izlemektedir (Şekil 2.3). Kadınlarda en fazla görülen ilk beş kanser türü, meme, kolon, akciğer, serviks ve tiroit kanserleri iken; erkeklerde insidansı en yüksek olan kanser türleri akciğer, prostat, kolon, mide ve karaciğer kanserleridir (Ferlay ve diğerleri, 2021).

Kanser tedavisinde cerrahi girişim, radyoterapi, kemoterapi ve hormonal terapi uygulanmaktadır, ancak günümüzde kanser tedavisinde istenilen hedefe ulaşamamıştır. İlaç tedavilerine direnç geliştiren bazı kanser hücrelerinin çoğalmaya devam etmeleri veya seçici sitotoksik etkiye sahip olmayan ilaçların sağlıklı hücrelere zarar vermeleri kanser kemoterapisi uygulanan hastalarda tedaviyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle, kanser tedavisinde, antikanser etki potansiyeline sahip yeni bileşiklerin keşfi ve etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olan ihtiyaç devam etmektedir.

Doğal bileşikler, ilaç araştırma ve geliştirme çalışmalarında en önemli ve en verimli kaynaklardır. Doğal kaynaklardan izole edilen bileşiklerin bir kısmı doğrudan klinikte kullanılmak üzere ilaçlara dönüştürülürken, bir kısmı daha etkili türevlerinin sentezlenmesi için model görevi görmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan mevcut ilaçların yaklaşık %50'si doğal kaynaklardan izole edilen bileşikler veya bu bileşiklerin yarı sentez yoluyla geliştirilmiş türevleridir (Newman ve Cragg, 2012). Bitkilerden antikanser etkili

bileşiklerin araştırılması, 1950'lerde vinka alkaloidleri, vinblastin ve vinkristinin keşfedilmesi ve podofilotoksinlerin izolasyonu ile başlamıştır. Bu gelişmeleri takiben taksanlar ve kamptotesinler de dahil olmak üzere sitotoksik aktiviteye sahip birçok yeni bileşik keşfedilmiştir (Newman ve Cragg, 2007). Günümüzde klinik kullanımı olan bitkisel kaynaklı antikanser bileşiklere örnek olarak vinkristin, vinblastin, podofilotoksin, etopozit, tenipozit, paklitaksel, dosetaksel, irinotekan, topotekan, homoharringtonin ve elliptinyum örnek olarak verilebilir (Zishan ve diğerleri, 2017).

Yukarıda verilen örneklerde de görüldüğü gibi, doğal kaynakların antikanser bileşiklerin keşfi ve geliştirilmesindeki rolü büyüktür. Bu doğrultuda, çalışmamızda, sitotoksik etki potansiyeli bulunan doğal bileşiklerin araştırılması amaçlanmıştır. Ekonomik ve tıbbi değeri yüksek çok sayıda taksonu barındıran Apiaceae familyası bitkileri flavonoidler, kumarinler, seskiterpen laktonlar, asetilenik yapıda bileşikler ve uçucu yağ taşımaktadır (Crowden, Harborne ve Heywood, 1969; Gershenzon ve Mabry, 1983). Literatürde Apiaceae familyası bitkilerinde bulunan flavonoid, piranokumarin, furanokumarin ve seskiterpen lakton yapısındaki bazı bileşiklerin çeşitli kanser hücre hatlarında sitotoksik etkili olduğu gösterilmiştir (Acharya ve diğerleri, 2019; Ahmed ve diğerleri, 2020; Iranshahy ve diğerleri, 2019; Küpeli Akkol ve diğerleri, 2020; Mao ve diğerleri, 2009; Shahzadi ve diğerleri, 2020).

Çalışmamızda, daha önce üzerinde sitotoksik aktivite çalışmaları bulunmayan, ancak yapmış olduğumuz literatür tarama çalışmaları kapsamında, taşıdıkları bileşik gruplarının yapıları bakımından sitotoksik etkili olabilecekleri hipotez edilen, ülkemizde doğal olarak yetişen Apiaceae familyasına ait bitkiler (*L. cretica*, *S. connatum*, *O. hispidus*, *T. ucranica*, *E. orientalis* ve *P. isaurica*) seçilmiş ve çalışmamızın deney materyalleri olarak belirlenmiştir.

Echinophora L. türlerinin çeşitli kanser hücre hatlarında önemli antiproliferatif etkiye sahip olduğu bildirilmiş olmakla birlikte, *Echinophora orientalis* Hedge & Lamond türü üzerinde detaylı bir sitotoksikite ve fitokimya çalışması bulunmamaktadır (Birjandian, Motamed ve Yassa, 2018; Entezari, Dabaghian ve Hashemi, 2014; Fraternali ve diğerleri, 2013; Kaska ve Mammadov, 2018; Rashidipour, Ashrafi, Hadavand, Beyranvand ve Zareivenovel, 2020; Shahneh, Baradaran, Majidi ve Babaloo, 2014; Shahneh ve diğerleri, 2013). Çalışmamıza konu olan bir diğer Apiaceae familyasına ait bitki *Smyrnum*

connatum Boiss. & Kotschy seskiterpen lakton yapısında bileşikler taşımaktadır (Gören ve Ulubelen, 1987). Bu bileşikler sitotoksik etki de dahil olmak üzere önemli biyolojik aktivitelere sahip sekonder metabolitlerdir. Başka bir *Smyrnum* türü olan *Smyrnum olusatrum* L.'den izole edilen izofuranodienin, prostat adenokarsinoma (PC3) hücre hattında apoptotik hücre ölümünü uyarak güçlü antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir (Buccioni ve diğerleri, 2014). Ancak literatürde *S. connatum*'un sitotoksitesinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. *Lecokia* DC., Apiaceae familyasına ait dünya genelinde sadece *Lecokia cretica* (Lam.) DC. ile temsil edilen monotipik bir cinstir (Menemen, 2012; Stevens, 1972). Cinsin fitokimyasal ve farmakolojik değerlendirmesi, monotipik karakteri nedeniyle sınırlıdır. Filogenetik sınıflandırmada *Lecokia*, *Smyrnum* L., *Trachydium* Lindl., ve *Prangos* Lindl cinslerini de içeren Smyrnieae tribusunda yer almaktadır (Katz-Downie ve diğerleri, 1999). *Smyrnum* L. ve *Prangos* Lindl türlerinden izole edilen sekonder metabolitlerin antikanser etkiye sahip olması ve *L. cretica*'nın belirtilen cinsler ile filogenetik akrabalığı, bitkinin sitotoksik etkili yeni bileşiklerin keşfinde önemli bir kaynak olabileceğini düşündürmüştür (Albayrak, Demir, Kose ve Baykan, 2021; El-Gamal, 2001; Farooq ve diğerleri, 2014; Quassinti ve diğerleri, 2013; Quassinti ve diğerleri, 2014; Shokoohinia, Sajjadi, Gholamzadeh, Fattahi ve Behbahani, 2014). *Opopanax chironium* Koch'dan elde edilen oleogumrezin ile hazırlanan merhemın Geleneksel İslam Tıbbında çeşitli kanserlere karşı kullanıldığı rapor edilmiştir (Javadi ve diğerleri, 2015). Bununla birlikte, Appendino ve diğerleri (2004) *O. chironium*'da bulunan furanokumarin yapısındaki heraklenin ve imperatorin isimli bileşiklerin lösemi hücrelerinde apoptozu uyardığı ve bu bileşiklerin kanser hücrelerinde seçici sitotoksik aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Diğer taraftan, *Opopanax* cinsinin bir başka türü olan ve çalışmalarımızda yer alan *O. hispidus* üzerinde, literatürde sınırlı sayıda biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışma bulunmaktadır. *O. hispidus* üzerinde yapılan bir izolasyon çalışmasında, bitkinin toprak üstü kısımlarından kumarin türevi yedi bileşik (3'-izobutiril-3'-hidroksimarmesin, oreoselon, pösedanın, offisinalin, smirniorin, 4'-asetil-3'-izobütiril-3'-hidroksimarmesin, 3'-hidroksiprantşimgin) izole edilmiştir (Ghasemi ve Habibi, 2014). Çalışmamızda yer alan bir diğer tür endemik *Pimpinella isaurica* V.A. Matthews'dir ve *P. isaurica* V.A. Matthews supsp. *isaurica* ve *P. isaurica* subsp. *sumbuliana* Göktürk olmak üzere iki alt türle temsil edilmektedir (Güner ve diğerleri, 2012). Literatürde diğer *Pimpinella* L. türlerinin sitotoksik etkili bulunması ve *Pimpinella isaurica* subsp. *isaurica*'nın belirtilen türler ile taksonomik ilişkisi antiproliferatif etki ihtimalini kuvvetlendirmektedir (Kadan, Rayan ve Rayan, 2013;

Mukunda, Pynadath, Kadar ve Mohan, 2020; Tabanca ve diğerleri, 2016; Tepe ve Tepe, 2015). *Torilis* L. cinsine ait *Torilis japonica* (Houtt.) DC. bitkisinin sitotoksik etkiye sahip olduğunun daha önceki çalışmalarda tespit edilmiş olması nedeniyle, bu cinsin başka bir türü olan *Torilis ucranica* Spreng.'in de potansiyel sitotoksik etkili bileşikler taşıma ihtimalini düşündürmüştür (Kim ve diğerleri, 2010; Park ve diğerleri, 2006). Literatürde bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın GC-FID ve GC/MS analizi dışında, yeterli sayıda biyolojik aktivite ve fitokimya çalışması bulunmamaktadır (Özek, Özek, Pimenov, Kljuykov ve Baser, 2009).

Literatürde, bugüne kadar çalışmalarımızda yer alan Apiaceae bitkilerinden *P. isaurica* üzerinde bir adet sitotoksik aktivite çalışmasına rastlanmıştır. Söz konusu çalışmada, *P. isaurica* uçucu yağından izole edilen 4-(2-propenil)-fenil anjelat, 4-(1-propenil)-fenil tiglat ve (+)-4-metoksi-2-(3-metiloksiranil)-fenil anjelat bileşikleri sitotoksik aktivite yönünden araştırılmıştır. Ancak bileşiklerin SKMEL (malign melanom), KB (oral epidermal karsinom), BT-549 (meme duktal karsinomu), SK-OV3 (over karsinomu) ve VERO hücreleri (memeli böbrek fibroblastı) üzerinde sitotoksitesinin bulunmadığı belirlenmiştir (Tabanca ve diğerleri, 2003).

Bahsi geçen literatür bilgileri ışığında, çalışmamızın bitkisel materyalleri olarak seçilen *L. cretica*, *S. connatum*, *O. hispidus*, *T. ucranica*, *E. orientalis* ve *P. isaurica* ile yürütülen Farmakognozok araştırmalarımızda, tüm bitki ekstrelerinin sitotoksik etkileri 4 farklı kanser (A549, MCF-7, HepG2 ve HeLA) ve 1 sağlıklı hücre hattı (Beas-2B) üzerinde incelenmiştir. Çalışmamızda hedeflediğimiz kanser türleri, 2020 yılında dünya genelinde kadın ve erkeklerde insidans/mortalite verilerine göre ilk 5 sırada yer alan akciğer, meme, karaciğer ve serviks kanserleridir. Tez kapsamında seçilen bitkiler arasından, *O. hispidus*'un akciğer kanseri hücre hattına karşı sergilediği güçlü sitotoksik etkiden dolayı, bitkinin A549 hücre hattındaki sitotoksik aktivitesinden sorumlu olan sekonder metabolitlerin izolasyonu hedeflenmiş ve bu doğrultuda yapılan deneyler, aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları doğrultusunda yürütülmüştür.

Çalışmalarımızda, hücre canlılığının belirlenmesinde boyama yöntemlerinden tripan mavisi yöntemi; sitotoksitesinin belirlenmesinde ise kolorimetrik yöntemlerden MTT testi kullanılmıştır. Antikanser etkili yeni moleküllerin keşfinde, moleküllerin kanser hücrelerine karşı seçicilik göstermeleri klinikte kullanımları açısından önemli olduğundan,

çalışmamızda sitotoksik etkili bulunan ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve izole edilen bileşikler sağlıklı hücre hattı (Beas-2B) üzerinde de sitotoksik seçicilik yönünden incelenmiştir.

ABD Ulusal Kanser Enstitüsünün *in vitro* antikanser ilaç araştırma protokolüne göre, bitkisel ekstre ve fraksiyonlar için çalışılması önerilen en yüksek konsantrasyonun 100 µg/mL olduğu bildirilmiştir (Boyd, 1997). Bu doğrultuda, öncelikle bitkisel materyallerin tüm kısımlarından (çiçekli toprak üstü ve toprak altı) hazırlanan metanollü ekstralarının sitotoksik etkileri, 100 µg/mL konsantrasyonda MCF-7, HeLa, HepG2, A549 ve Beas-2B hücrelerinde MTT yöntemi ile taranmıştır. Maksimum konsantrasyonda tüm hücre hatlarında en yüksek antiproliferatif etkinin *P. isaurica* subsp. *isaaurica*, *L. cretica* ve *O. hispidus* ekstraları ile sağlandığı tespit edilmiştir. *S. connatum*, *T. ucranica* ve *E. orientalis* bitkilerinde ise önemli bir antiproliferatif etki gözlenmemiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.14). Hücre canlılık yüzdesi sonuçlarına göre maksimum dozda sitotoksik aktivite gösteren bitkiler olan *P. isaurica* subsp. *isaaurica*, *L. cretica* ve *O. hispidus* üzerinde alt doz tarama çalışmaları (100/31,6/10/3,2/1 µg/mL) gerçekleştirilmiştir. *P. isaurica* subsp. *isaaurica*, *L. cretica* ve *O. hispidus*'un belirgin sitotoksik aktivite gösterdiği ortak hücre hatları A549 ve MCF-7 hücre hatları olarak belirlenmiştir. (Çizelge 4.6). Ardından 3 aktif türün sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği ile alt ekstraları (*n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, *n*-butanol ve su) hazırlanmış ve alt ekstraların aktiviteleri A549, MCF-7 ve Beas-2B hücre hatlarında incelenmiştir. Aktivite sonuçlarına göre, üç bitkinin de non-polar ekstralarında (*n*-hekzan ve diklorometan) güçlü antiproliferatif etki kaydedilirken etil asetat, *n*-butanol ve su ekstralarında sitotoksikite gözlenmemiştir (Çizelge 4.8; 4.10; 4.12).

P. isaurica subsp. *isaaurica*'nın metanollü ekstresinin, denenen tüm hücre hatlarında 5,36-15,57 µg/mL değer aralığındaki IC₅₀ değerleri ile önemli sitotoksik aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Öte yandan, *P. isaurica* subsp. *isaaurica*'nın metanollü ekstresinin ve bu ekstreten hazırlanan alt ekstralarının sitotoksikite sonuçları incelendiğinde, bitkinin fraksiyonlanmasını takiben aktivitede bir miktar azalma gözlenmiştir. İleri fraksiyonlama ve izolasyon çalışmalarına, en etkili bulunan ve fraksiyonladıkça sitotoksik etkinliğin arttığı fraksiyonlar üzerinde devam edilmesi hedeflendiğinden, *P. isaurica* üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar tez kapsamı dışında tutulmuştur. Bununla birlikte, *P. isaurica*'nın metanollü ekstresi üzerinde eş zamanlı olarak HPLC-DAD yöntemi kullanılarak kromatografik çalışmalar yürütülmüş ve ekstrede apigenin-7-*O*-glukozit (0.098 g/100 g) ve luteolin-7-*O*-glukozit (0.078 g/100 g) bulunduğu tespit edilmiştir.

Anılan flavonoit yapısındaki bileşiklerin, daha önce yapılan çalışmalarda da ortaya konulduğu gibi, sitotoksik etkiden sorumlu olabileceği sonucuna varılmıştır (Taban Akça ve diğerleri, 2022).

Diğer taraftan, *L. cretica* ve *O. hispidus*'un *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstralarında ana ekstreya göre aktivitede belirgin bir artış kaydedilmiştir.

L. cretica'nın metanollü ekstresi MCF-7 ve A549 hücre hatlarında sırasıyla 13,50 µg/mL ve 29,75 µg/mL IC₅₀ değeri ile etkili bulunurken, alt ekstralardan *n*-hekzan ve diklorometan ekstralarının sitotoksik etkinliğinde artış görülmüştür. LCNH alt ekstresinin IC₅₀ değerlerinin, MCF-7 ve A549 hücrelerine karşı sırasıyla 9,43 µg/mL ve 15,47 µg/mL; LCDCM alt ekstresinin IC₅₀ değerlerinin ise MCF-7 ve A549 hücrelerinde sırasıyla 14,38 µg/mL ve 21,09 µg/mL olduğu kaydedilmiştir. Öte yandan, tez kapsamı dışında, bitkinin fitokimyasal içeriğinin aydınlatılması amacıyla *n*-butanol alt ekstresi üzerinde fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş ve iki yeni ödesman tipi seskiterpen glikoziti (1 α ,6 β ,9 β -trihidroksi-ödesm-4(15)-en-1,6-*O*- β -diglukopiranozit ve 1 α ,6 β ,9 β -trihidroksi-ödesm-3-en-1,6-*O*- β -diglukopiranozit) ve bilinen bileşikler olan 1 α ,6 β ,9 β -trihidroksi-5,10-bis-epi-ödesm-3-en-6-*O*- β -D-glukopiranozit, klorojenik asit, luteolin 7-*O*-rutinozit ve luteolin 7-*O*-glukozit bileşikler izole edilmiştir. Ayrıca izole edilen üç ödesmanolit bileşiğinin sitotoksik etkinlikleri incelenmiş ve 100 µM konsantrasyonda üç bileşik için de belirgin bir sitotoksikite kaydedilmemiştir (Taban Akça ve diğerleri, 2022).

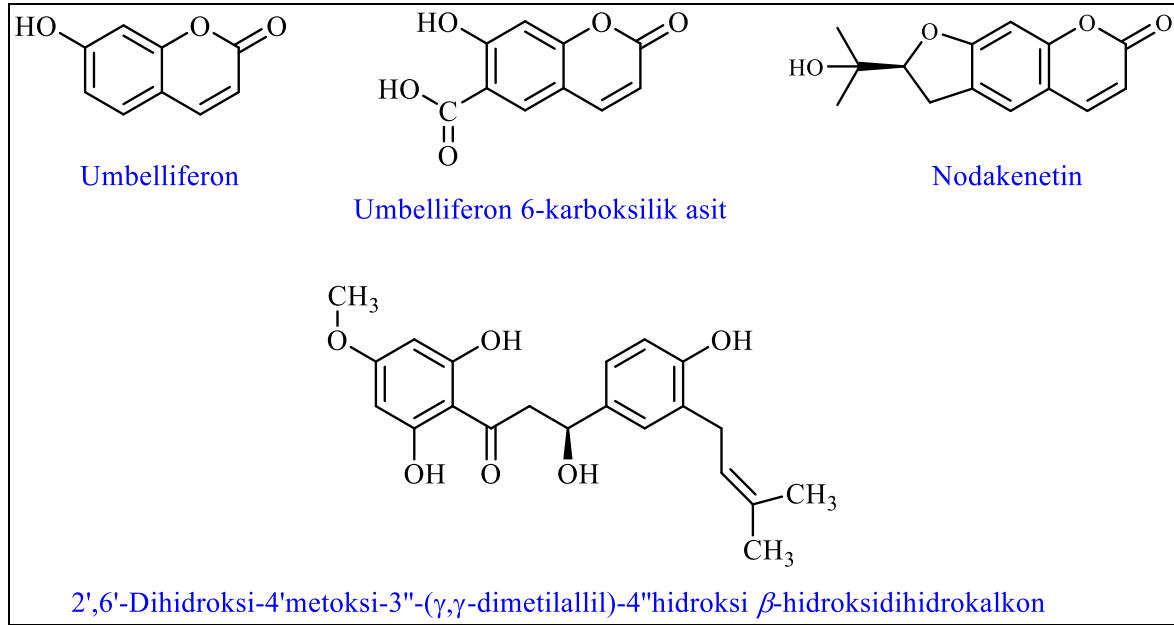
Tez kapsamındaki ileri fitokimyasal çalışmalara, sitotoksik aktivite çalışmalarında görece daha potent olduğu belirlenen *O. hispidus* türü üzerinden devam edilmiştir. MCF-7 hücre hattında IC₅₀ değerleri OH MeOH için 21,44 µg/mL; OHNH ve OHDCM alt ekstralarında sırasıyla 10,90 ve 8,47 µg/mL olarak hesaplanmıştır. A549 hücre hattında IC₅₀ değerleri OH MeOH için 40,78 µg/mL iken OHNH ve OHDCM alt ekstralarında ise sırasıyla 9,77 ve 7,10 µg/mL olarak kaydedilmiştir. 3 Türün alt ekstraları arasında akciğer kanseri hücre hattında en duyarlı olan ekstraların OHNH ve OHDCM ekstraları olduğu tespit edilmiştir.

DSÖ raporuna göre, 2020 yılında mortalite oranı en yüksek olan ve en fazla tanı konulan kanser türü sıralamasında ikinci sırada yer alan kanser türü akciğer kanseridir (Ferlay vd., 2021). Bu bağlamda, akciğer kanserinin tedavisinde yeni stratejilerin ve yeni bileşiklerin

keşfedilme ihtiyacı önemini korumaktadır. Bu nedenle, akciğer kanserine karşı sitotoksik etkili potansiyel bileşiklerin belirlenmesi amacıyla, tez çalışmamızdaki ileri araştırmalar *O. hispidus*'un *n*-hekzan (OHNH) ve diklorometan (OHDCM) alt ekstreleri üzerinde A549 ve Beas-2B hücre hatları kullanılarak yürütülmüştür.

OHNH ve OHDCM üzerinde planlanan aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmalarında, alt ekstreler Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak fraksiyonlanmıştır. *n*-Hekzan alt ekstresi 4 (OHNH Fr1-4), diklorometan alt ekstresi 2 (OHDCM Fr1-2) alt fraksiyona ayrılmıştır. Herbir fraksiyon sitotoksik aktivite yönünden A549 ve Beas-2B hücre hatlarına karşı incelenmiştir. *O. hispidus*'un *n*-hekzan alt ekstresinin fraksiyonlarından OHNH Fr4 dışında diğer üç fraksiyon 20 µg/mL'den daha düşük IC₅₀ değerleri ile akciğer kanseri hücrelerinde önemli sitotoksik etki göstermiştir (Çizelge 4.14) Fraksiyonlar arasında en etkili olanının, 6,89 µg/mL IC₅₀ değeri ile OHNH Fr2 olduğu tespit edilmiştir. *O. hispidus*'un diklorometan alt ekstresinin fraksiyonları olan OHDCM Fr1 ve OHDCM Fr2'nin ise akciğer kanseri hücre hattına karşı sırasıyla 4,92 ve 3,20 µg/mL IC₅₀ değerleri ile doz bağımlı güçlü sitotoksosite gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.15).

En yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olan OHNH Fr2 ve OHDCM Fr2 fraksiyonları üzerinde gerçekleştirilen kromatografik çalışmalarda (Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi, silika jel kolon kromatografisi, ters faz orta basınçlı sıvı kromatografisi ve preparatif İTK) 1 tanesi yeni olmak üzere toplam 4 bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (¹H-NMR, ¹³C-NMR, COSY, HSQC, HMBC) kullanılarak aydınlatılmış ve bileşikler kumarin iskeletine sahip umbelliferon, umbelliferon 6-karboksilik asit, nodakenetin ve kalkon türevi 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3'-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidroalkon olarak tanımlanmıştır (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. *O. hispidus*'tan izole edilen bileşikler

Çalışmamızın devamında, *O. hispidus* bitkisinden izole ettiğimiz saf bileşiklerin 50/15,8/5/1,6/0,5 μM konsantrasyonlarda sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bileşikler için dozların belirlenmesinde literatür verilerinden yola çıkılmıştır. Literatürde, sitotoksik aktivite çalışmalarının saf bileşikler üzerinde 100 μM konsantrasyona kadar yapıldığı görülmekle birlikte (Xin ve diğerleri, 2017; Zaki ve diğerleri, 2013; Zidorn ve diğerleri, 2005), moleküllerin potent antikanser ajan olarak değerlendirilebilmesi hususu göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda maksimum doz 50 μM olarak belirlenmiştir (Almeida ve diğerleri, 2022). Sitotoksik aktivite çalışmalarımız sonucunda, *O. hispidus* bitkisinden izole edilen kumarin iskeletine sahip umbelliferon, umbelliferon 6-karboksilik asit ve nodakenetin bileşikler belirlenen konsantrasyonlarda belirgin antiproliferatif etkiye sahip değilken, literatürde ilk kez tarafımızdan izole edilip yapısı aydınlatılan ve 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3''-(γ,γ-dimetilallil)-4''hidroksi β-hidroksidihidroalkon bileşiği akciğer kanseri hücrelerine karşı 13,72 μM olan IC_{50} değeri ile önemli sitotoksik etki göstermiştir. Yapılan *in silico* sitotoksik aktivite tahmin sonuçları da, bileşiğin akciğer kanseri üzerinde aktivitesinin olabileceğini doğrulamıştır.

Umbelliferon, bitkilerde yaygın olarak bulunan bir kumarin bileşiğidir. Kumarin adı, 1820'de ilk kez izole edildiği hint baklası bitkisinin (*Dipteryx odorata* Willd, Fabaceae) yerel adı olan “coumarou” isminden gelmektedir (Bruneton, 1999). Umbelliferon ise Apiaceae familyasının önceki ismi olan Umbelliferae'den türetilmiştir. Umbelliferon, 7-

hidroksikumarin, yapısal basitliği nedeniyle daha kompleks kumarinlerin sentezinde başlangıç bileşiği olarak kabul edilmekte ve bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır (Kim, Ko, Son, Shin ve Kim, 2001; Murray, Mendez ve Brown, 1982). Bileşiğin daha önce izole edildiği bitkiler Çizelge 5.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 5.1. Önceki çalışmalarda umbelliferon bileşiğinin izole edildiği bitkiler

Bitki adı	Familyası	Kullanılan kısım	Kaynak
<i>Acacia nilotica</i> (L.) Delile	Fabaceae	Kabuk	(Singh ve diğerleri, 2010)
<i>Angelica archangelica</i> L.	Apiaceae	Kök	Kylin (2010)
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav.	Apiaceae	Kök	Hata ve Sano (1966)
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav.	Apiaceae	Tüm bitki	Ali ve diğerleri (2017)
<i>Artemesia tridentata</i> subsp. <i>vaseyana</i> (Rydb.) Beetle	Asteraceae	Tüm bitki	Brown, Asplund ve McMahon (1975)
<i>Balsamocitrus camerunensis</i> Letouzey	Rutaceae	Gövde kabuğu	Fouotsa ve diğerleri (2013)
<i>Bassia eriophora</i> (Schrud.) Asch	Amaranthaceae	Tüm bitki	Al Mouslem, Khalil, Emeka ve Alotaibi (2022)
<i>Citrus sphaerocarpa</i> Hort. ex Tanaka	Rutaceae	Meyve	Shimada, Ueno, Inagaki ve Yoshimitsu (2022)
<i>Citrus x natsudaoidai</i> (Yu.Tanaka) Hayata	Rutaceae	Tüm bitki	Murakami ve diğerleri (1997)
<i>Citrus x paradisi</i> Macfad.	Rutaceae	Gövde kabuğu	Essombe Malolo ve diğerleri (2022)
<i>Conocarpus erectus</i> L.	Combretaceae	Yaprak	Tawfeeq, Jasim ve Nasser (2020)
<i>Diospyros oocarpa</i> Thwaites	Ebenaceae	Kök	Dev ve Rajarajeshwari (2013)
<i>Diplostephium foliosissimum</i> S.F.Blake	Asteraceae	Yaprak	Morikawa ve diğerleri (2011)
<i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd.	Fabaceae	Tohum	Sullivan (1982)
<i>Dystaenia takesimana</i> (Nakai) Kitag.	Apiaceae	Kök	Kim ve diğerleri (2006)
<i>Edgeworthia gardneri</i> (Wall.) Meisn.	Thymelaeaceae	Çiçek	Gao ve diğerleri (2015)
<i>Eriostemon apiculatus</i> Paul G.Wilson	Rutaceae	Toprak üstü	Sarker, Armstrong, Gray ve Waterman (1994)
<i>Ferula assa-foetida</i> L.	Apiaceae	Rizom reçinesi	Kajimoto, Yahiro ve Nohara (1989)
<i>Ferula communis</i> L.	Apiaceae	Çiçek sapı	Abdel-Mogib ve Basaif (2004)
<i>Ferulago cassia</i> Boiss.	Apiaceae	Kök	DEMİRKAYA ve diğerleri (2021)
<i>Ferulago cassia</i> Boiss.	Apiaceae	Kök	Songül Karakaya ve diğerleri (2019)
<i>Ferulago pauciradiata</i> Boiss. & Heldr.	Apiaceae	Kök	Kutlu ve diğerleri (2020)
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Fabaceae	Rizom	Kaur, Kumar, Singh, Kumar ve Kaur (2012)

Çizelge 5.1. (devam) Önceki çalışmalarda umbelliferon bileşiğinin izole edildiği bitkiler

<i>Haplopappus deserticola</i> Phil.	Asteraceae	Toprak üstü	Zdero, Bohlmann ve Niemeyer (1990)
<i>Haplophyllum patavinum</i> (L.) G.Don	Rutaceae	Toprak üstü ve kök	Filippini, Piovan, Innocenti, Caniato ve Cappelletti (1998)
<i>Haplophyllum villosum</i> G.Don	Rutaceae	Toprak üstü	Parhoodeh, Rahmani, Hashim, Sukari ve Cheng Lian (2011)
<i>Harbouria trachypleura</i> (A. Gray) J.M. Coult. & Rose	Apiaceae	Toprak üstü	Guz, Lorenz ve Stermitz (2001)
<i>Hydrangea chinensis</i> Maxim.	Hydrangeaceae	Yaprak	Khalil ve diğerleri (2003)
<i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser.	Hydrangeaceae	Yaprak	Suzuki, Ikeda, Matsumoto ve Noguchi (1977)
<i>Leiotulus dasyanthus</i> (K. Koch) Pimenov & Ostr.	Apiaceae	Kök	Karakaya, Koca, Sytar ve Duman (2020)
<i>Melicope glabra</i> (Blume) T.G. Hartley	Rutaceae	Kabuk	(Kassim ve diğerleri, 2013)
<i>Melicope glabra</i> (Blume) T.G. Hartley	Rutaceae	Gövde kabuğu	Quek ve diğerleri (2021)
<i>Musa</i> spp. var. Nanjangud rasa bale	Musaceae	Çiçek	Ramu, Shirahatti, Zameer, Ranganatha ve Prasad (2014)
<i>Peucedanum morisonii</i> Besser	Apiaceae	Meyve ve kök	Olennikov (2022)
<i>Peucedanum praeruptorum</i> Dunn	Apiaceae	Kök	Kong, Li, Min, Li ve Zhu (1996)
<i>Picea abies</i> (L.) H.Karst.	Pinaceae	Yaprak	Esterbauer, Schwarzl ve Grill (1980)
<i>Plumbago auriculata</i> Lam.	Plumbaginaceae	Toprak üstü	Sherif, Amen ve Shimizu (2022)
<i>Poa huecu</i> Parodi	Poaceae	Tüm bitki	Rofi ve Pomilio (1985)
<i>Potentilla evestita</i> Th.Wolf	Rosaceae	Tüm bitki	Rauf, Khan, Khan, Pervez ve Pirzada (2014)
<i>Prangos uechtrizii</i> Boiss & Hausskn	Apiaceae	Kök	Albayrak, Demir, Koyu ve Baykan (2022)
<i>Rhododendron lepidotum</i> Wall. ex G. Don	Ericaceae	Toprak üstü ve gövde	Khan, Bhat, Raja, Shawl ve Alam (2010); Tantry, Khan, Akbar, Shawl ve Siddiqui (2010)
<i>Saussurea eopygmaea</i> Hand.-Mazz.	Asteraceae	Tüm bitki	Zhang, Yuan ve Zhi-Xin (2011)
<i>Spathodea campanulata</i> P.Beauv.	Bignoniaceae	Yaprak	Wagh, Butle ve Raut (2021)
<i>Strychnos innocua</i> Delile	Loganiaceae	Kök	Uttu, Sallau, Iyun ve Ibrahim (2022)
<i>Symphyotrichum praealtum</i> (Poir.) G.L.Nesom (<i>Aster praealtus</i>)	Asteraceae	Toprak üstü ve kök	Wilzer, Fronczek, Urbatsch ve Fischer (1989)
<i>Typha domingensis</i> Pers.	Typhaceae	Toprak üstü	Vasconcelos ve diğerleri (2009)
<i>Zosima absinthifolia</i> Link	Apiaceae	Kök	Karakaya, Yilmaz-Oral, Kilic ve Gur (2019)

Apiaceae ve Rutaceae bitkilerinde yaygın olarak bulunduğu kayıtlı olan umbelliferon bileşiği, yapmış olduğumuz bu çalışmada, *Opopanax* cinsinden ilk kez izole edilmiştir.

Çalışmamızda izole edilen bir diğer bileşik doğada yaygın olarak bulunmayan kumarin türevi umbelliferon 6-karboksilik asittir. Literatürde şimdiye kadar *Angelica decursiva* (Miq.) Franch. & Sav. (Apiaceae), *Angelica gigas* Nakai (Apiaceae), *Peucedanum morisonii* Besser (Apiaceae), *Ficus exasperata* Vahl. (Moraceae) ve *Lythrum salicaria* L. (Lythraceae) bitkilerinin çeşitli kısımlarından izole edildiği kaydedilmiştir (Ali ve diğerleri, 2016; Hyun, Oh, Kwon ve Kim, 2013; Islam ve diğerleri, 2012; Lim ve diğerleri, 2014; Manayi ve diğerleri, 2013; Olennikov, 2022; Seong, Ali, Jung ve Choi, 2019; Tameye ve diğerleri, 2021; Zhao ve diğerleri, 2012). Daha önce yapılan çalışmalarda, umbelliferon 6-karboksilik asitin izole edildiği bitkiler Çizelge 5.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. Önceki çalışmalarda umbelliferon 6-karboksilik asit bileşiğinin izole edildiği bitkiler

Bitki adı	Familiya	Kullanılan kısım	Kaynak
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav.	Apiaceae	Tüm bitki	Ali ve diğerleri (2016); Islam ve diğerleri (2012); Lim ve diğerleri (2014); Seong ve diğerleri (2019); Zhao ve diğerleri (2012)
<i>Angelica gigas</i> Nakai	Apiaceae	Kök	(Hyun ve diğerleri, 2013)
<i>Ficus exasperata</i> Vahl.	Moraceae	Gövde kabuğu	Tameye ve diğerleri (2021)
<i>Lythrum salicaria</i> L.	Lythraceae	Toprak üstü	Manayi ve diğerleri (2013)
<i>Peucedanum morisonii</i> Besser	Apiaceae	Meyve	Olennikov (2022)

Umbelliferon 6-karboksilik asit *Opopanax* cinsinden tarafımızca ilk kez izole edilmiş ve bu sayede umbelliferon 6-karboksilik asit içeren bitkiler arasına *O. hispidus* da eklenmiştir.

O. hispidus bitkisinden izole edilen bir diğer bileşik genellikle Apiaceae familyası bitkilerinde bulunan furanokumarin yapısında nodakenetindir. Önceki çalışmalarda *Aegle marmelos* (L.) Corrêa (Rutaceae), *Angelica decursiva* (Miq.) Franch. & Sav. (Apiaceae), *Angelica gigas* Nakai (Apiaceae), *Angelica glauca* Edgew. (Apiaceae), *Angelica pubescens* Maxim. (Apiaceae), *Ficus tsiangii* Merr. ex Corner (Moraceae), *Notopterygium incisum* K.C.Ting ex H.T.Chang (Apiaceae), *Peucedanum decursivum* (Miq.) Maxim

(Apiaceae) ve *Taraxacum coreanum* Nakai (Asteraceae) bitkilerinin çeşitli kısımlarından izole edildiği bildirilmiştir. Nodakenetin daha önce izole edildiği bitkiler Çizelge 5.3’de özetlenmiştir.

Çizelge 5.3. Önceki çalışmalarda nodakenetin bileşiğinin izole edildiği bitkiler

Bitki adı	Familiya	Kullanılan kısım	Kaynak
<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corrêa	Rutaceae	Kabuk	Chatterjee ve Mitra (1949)
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav.	Apiaceae	Tüm bitki	Yousof Ali, Jung ve Choi (2015); Zhao ve diğerleri (2012)
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav.	Apiaceae	Kök	Lim ve diğerleri (2014)
<i>Angelica gigas</i> Nakai	Apiaceae	Tüm bitki	Dschang Jong Jung ve Huneck (1991)
<i>Angelica gigas</i> Nakai	Apiaceae	Kök	Lee, Shin, Kim, Oh ve Kang (2003)
<i>Angelica glauca</i> Edgew.	Apiaceae	Kök	Saeed ve Sabir (2008)
<i>Angelica pubescens</i> Maxim.	Apiaceae	Kök	Yang, Zhang ve Yang (2018)
<i>Ficus tsiangii</i> Merr. ex Corner	Moraceae	Gövde	Wang, Liang, Zhang, Cheng ve Yi (2014)
<i>Notopterygium incisum</i> K.C.Ting ex H.T.Chang	Apiaceae	Kök	Zhang ve Yang (2008)
<i>Peucedanum decursivum</i> (Miq.) Maxim	Apiaceae	Kök	Liu ve diğerleri (2005)
<i>Taraxacum coreanum</i> Nakai	Asteraceae	Kök	Mo ve diğerleri (2017)

Çalışmamızda, nodakenetin bileşiği *Opopanax* cinsinden ilk kez izole edilmiş ve bu sayede, nodakenetin izole edilen bitkiler arasına *O. hispidus* da eklenmiştir.

Umbelliferon, umbelliferon 6-karboksilik asit ve nodakenetin üzerinde daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, her üç bileşiğin de çeşitli biyoaktiviteler açısından *in vitro* ve *in vivo* deney modelleri kullanılarak araştırıldığı görülmektedir.

Umbelliferonun ratlarda 1,2-dimetilhidrazin-nedenli kolon kanseri modelinde, 5-fluorourasil ile sinerjik etki gösterdiği ve 5-fluorourasilin yan etkilerini azalttığı rapor edilmiştir (Muthu, Thangavel, Selvaraj, Ramalingam ve Vaiyapuri, 2013). Kielbus ve diğerleri (2013) 7-sübstitüe kumarinlerin larinks kanseri tedavisinde terapötik potansiyele sahip olduğunu ve 7-hidroksi kumarin olan umbelliferonun 100 µM konsantrasyonda RK33 lariks kanser hücrelerinde hücre göç ve canlılığını azalttığını bildirmiştir. *Ferula*

communis L. bitkisinden izole edilen umbelliferonun, HepG2 hücre hatlarına karşı sitotoksik etki yönünden araştırıldığı çalışmada, bileşiğin 5, 25, 50 μ M konsantrasyonlarda apoptoz ve DNA fragmentasyonunun uyarılması ile hücre döngüsünün durdurulması yoluyla sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Yu, Hu ve Zhang, 2015). Umbelliferonun, farelerde oluşturulan Sarcoma 180 deneysel tümör modelinde, tümör büyümesini inhibe ettiği ve hayvanların hayatta kalma süresini uzattığı belirlenmiştir. Bileşik tek başına (50 mg/kg) veya LPS ile birlikte murin makrofaj göç aktivitesini, nitrit üretimini ve IL-12 salınımını artırarak antikanser etki göstermiştir. Söz konusu çalışmanın sonucunda, umbelliferonun bir adjuvan olarak, toksik olmayan LPS dozları ile kombine edilmek suretiyle antikanser bir ajan olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Stefanova, Nikolova, Toshkova ve Neychev, 2007). Öte yandan, Rayar ve Manivannan (2015) *Coriandrum sativum* L.'dan izole edilen umbelliferonun sitotoksik etkisini MTT yöntemini kullanarak akciğer, kolon, serviks ve sinüs kanseri hücre hatlarında araştırmıştır. Umbelliferonun 500 ve 1000 μ g/mL konsantrasyonlarda hücre canlılığını kontrole kıyasla %62,5'e kadar azaltığı tespit edilmiştir. Ancak hücre büyümesinin %50 oranında engellenmesi için gerekli olan dozun tüm hücre hatlarına karşı 1000 μ g/mL'den fazla olduğu vurgulanmıştır. Yapmış olduğumuz bu çalışmada, umbelliferonun 50 μ M konsantrasyonda A549 hücre hatlarında antiproliferatif etki göstermemesi, bahsi geçen çalışmadaki bulgular ile paralellik göstermektedir.

Angelica decursiva (Miq.) Franch. & Sav. bitkisinden izole edilen umbelliferon 6-karboksilik asitin güçlü antioksidan ve anti-enflamatuvar etkiye sahip olduğu ve anti-enflamatuvar etkisini NF- κ B aktivasyon yolunu inhibe ederek ve enflamatuvar mediyatörlerin üretimini engelleyerek gösterdiği bildirilmiştir (Islam ve diğerleri, 2012; Zhao ve diğerleri, 2012). Başka bir çalışmada, *Angelica gigas* Nakai köklerinden izole edilen umbelliferon 6-karboksilik asit, 158,35 μ M IC₅₀ değeri ile anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) üzerinde doz bağımlı inhibitör etki sergilemiştir (Hyun ve diğerleri, 2013). Ali ve diğerleri (2016) umbelliferon 6-karboksilik asit'in asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE) ve beta sekretaz (BACE₁) enzim inhibitör etkilerini incelemiş ve bileşiğin Alzheimer tedavisinde potansiyel olabileceğini bildirmiştir (BChE enzim inhibitör etki IC₅₀ 27,19 μ M; BACE₁ inhibitör etki IC₅₀ 0,34 μ M). Diğer taraftan, bileşiğin *in vitro* nöroprotektif etkisi, monoamin oksidaz (MAO) enzimi üzerindeki inhibitör aktivitesi bakımından araştırılmış, ancak umbelliferon 6-karboksilik asit MAO enzimi üzerinde inhibitör etki göstermemiştir (Seong ve diğerleri, 2019). Yousof Ali ve

diğerleri (2015), umbelliferon 6-karboksilik asidin α -glukozidaz ve protein tirozin fosfataz 1B (PTP₁B) enzim aktivitesini inhibe ettiğini ve diyabet tedavisi için aday molekül olarak değerlendirilebileceğini rapor etmiştir. Literatürde bileşiğin sitotoksik etkisi üzerinde sadece bir çalışmaya rastlanmaktadır. *Lythrum salicaria* L.'den izole edilen umbelliferon 6-karboksilik asitin sitotoksik etkisi lösemi (K-562), kolon (HT-29) ve meme kanseri (T47D) hücre hatlarında MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Metotreksatin pozitif kontrol olarak kullanıldığı çalışmada, izole bileşikler 1,9-1000 μ g/mL konsantrasyon aralığında taranmış ve umbelliferon 6-karboksilik asit, denenen hücre hatlarında belirgin bir sitotoksik aktivite göstermemiştir (Manayi ve diğerleri, 2013). Benzer şekilde, deney bulgularımız umbelliferon 6-karboksilik asitin sitotoksik etkili olmadığını ortaya koymuştur.

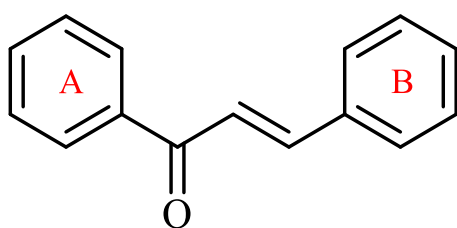
Daha önce yapılan çalışmalarda, nodakenetin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu görülmektedir. Nodakenetin, *in vivo* complete Freund's adjuvant (CFA)-nedenli iltihabi ağrıyı hafifletmiş ve anti-enflamatuvar etkisini NF- κ B sinyal yolağının modülasyonu ile göstermiştir (Lin, Chen, Zeng ve Li, 2022). Başka bir çalışmada aralarında nodakenetin de bulunduğu 18 kumarin bileşiği Zebra balığı pentilentetrazol (PTZ) deney modelinde antiepileptik aktivite yönünden araştırılmıştır. Nodakenetin 100-400 μ M konsantrasyonlarda doz bağımlı olarak belirgin antiepileptik etki gösterirken, glikozit formu olan nodakenin bileşiği aktivite göstermemiştir (Kozioł ve diğerleri, 2021). Lee ve diğerleri (2003) *Angelica gigas* Nakai bitkisinden izole ettikleri nodakenetin, 0,62-200 μ g/mL konsantrasyonlarda *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermis* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antibakteriyel etkisinin bulunmadığını bildirmiştir. *Angelica decursiva* (Miq.) Franch. & Sav.'dan izole edilen nodakenetin, α -glukozidaz, PTP₁B, AChE, BChE ve BACE₁ enzimlerine karşı inhibitör etki göstermiştir (Yousof Ali ve diğerleri, 2015).

Lei, Liao, Chen ve Zhou (2019) nodakenetin akut lenfositik lösemi HL-60 hücre hattına karşı sitotoksik potansiyelinin araştırdığı çalışmada, bileşiğin lösemi hücrelerinin çoğalmasını önemli ölçüde önlediği bildirilmiştir. Nodakenetin'in HL-60 hücre hattına karşı sitotoksik aktivitesi, G2/M hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun indüklenmesi ile ilişkilendirilmiştir. Bileşiğin antikanser etkisi ksenograft fare modellerinde *in vivo* olarak da araştırılmış ve ksenograft tümörlerin büyümesini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Öte yandan, *Angelica glauca* Edgew. köklerinden izole edilen

nodakenetinin albino fareler üzerindeki irritan etkisi ve tuzlu su karidesi testi ile *Artemia salina* larvaları üzerindeki sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Nodakenetin, farelerin kulaklarına uygulandığında referans grubuna kıyasla daha az tahriş edici etki oluşturmuştur. Ayrıca tuzlu su karidesi testi sonuçlarına göre bileşik 249,289 mg/mL LC₅₀ değeri ile zayıf sitotoksik etki göstermiştir (Saeed ve Sabir, 2008).

Flavonoitler bitkilerde yaygın olarak bulunan benzo- γ -piron iskeletine sahip önemli bir sekonder metabolit grubudur. Antioksidan, anti-enflamatuvar, antimikrobiyal, antialerjik, antikanserojenik, antimutajenik, antiobezite, antispazmodik, diüretik, diyaforetik, hepatoprotektif, östrojenik/antiöstrojenik, antiplatelet, antitrombojenik, nöroprotektif etkilerin yer aldığı geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir (Karak, 2019; Kumar ve Pandey, 2013; Panche, Diwan ve Chandra, 2016). Merkezi piran halkasının doyunluk düzeyine ve halkanın açılmasına göre flavonlar, flavonoller, izoflavonlar, flavanoller, flavanonlar, antosiyanidinler, kalkonlar, auronlar ve biflavonoitler olarak sınıflandırılırlar (Harborne ve Williams, 2000).

Kalkon, (E)-1,3-difenil-2-propen-1-on, açık zincirli flavonoit bileşiğidir ve temel flavonoit iskelet yapısında C halkası bulunmamaktadır (Şekil 5.2) Sarı renkli bileşiklerdir, alkali ortamda renkleri kırmızıya döner. Halka kapama reaksiyonu ile kolayca flavanonlara dönüşebilirler.



Şekil 5.2. Kalkon yapısı

β -Hidroksidihidrochalkonlar bitkilerde nadir bulunan bileşiklerdir. Literatürde şimdiye kadar *Pimpinella rhodantha* Boiss. (Apiaceae) bitkisinden ziganin, (β R)- β ,3,4,2',6'-pentahidroksi-4'-O- β -D-glukozildihidrochalkon; *Myristica beddomei* subsp. *spherocarpa* W.J. de Wilde (Myristicaceae)'den 3-(S)-hydroxy-3-phenyl-1-(2',4',6'-trihidroksifenil)propan-1-on; *Balanophora laxiflora* Hemsl. (Balanophoraceae) bitkisinden balanokalkon; *Tephrosia elata* Deflers (Fabaceae)'den (S)-elatadihidrochalkon; *Tephrosia*

uniflora Pers. (Fabaceae)’den (S)-elatadihidrokalkon-2’-metil eter bileşikleri yeni β -hidroksidihidrokalkon türevleri olarak rapor edilmiştir (Chepkirui ve diğerleri, 2022; Muiva ve diğerleri, 2009; Neethu ve diğerleri, 2021; Özbek ve diğerleri, 2016; Quang ve diğerleri, 2018).

Kalkonlar basit kimyası ve sentez kolaylığı, türevlendirmeye uygun olmaları ve antidiyabetik (Mahapatra, Asati ve Bharti, 2015a), antihipertansif (Bukhari ve diğerleri, 2013), antiviral (Elkhalifa, Al-Hashimi, Al Moustafa ve Khalil, 2021), anti-enflamatuvar (Mahapatra, Bharti ve Asati, 2017), antihistaminik (Yazdan, Sagar ve Shaik, 2015), antioksidan (Anto ve diğerleri, 1995), antimalaryal (Chen ve diğerleri, 1997) ve antikanser (Mahapatra ve diğerleri, 2015a) etkiler gibi umut verici biyolojik aktiviteleri nedeniyle 21. yüzyılda araştırmacıların ilgisini çekmektedir. *Sansevieria cylindrica* Bojer ex Hook (Dracaenaceae)’dan izole edilen 2’,4’-dihidroksi-3’-metoksi-3,4-metilendioksi-8-hidroksimetilen dihidrokalkon bileşiği MCF-7 hücrelerine karşı orta dereceli sitotoksik etki göstermiştir ($IC_{50} = 34 \pm 1 \mu g/mL$) (Raslan ve diğerleri, 2017). *Eriosema glomeratum* (Guill. & Perr.) Hook.f. (Fabaceae)’den izole edilen erioskalkon A ve yarı sentetik türevi 4-(3-(4-metoksifenil)propanoil)-2-(3-metilbut-2-en-1-il)-1,3-fenilen diasetat A549, MCF-7 ve HeLA hücre hatlarında güçlü antiproliferatif etki sergilemiştir (Tabakam ve diğerleri, 2022). Özellikle yapısında prenil grubu taşıyan kalkon bileşikler kanser tedavisinde dikkat çekmektedir (Venturelli ve diğerleri, 2016). Prenil grubu, bileşiğin lipofilik özelliğini, hücre zarına bağlanmasını ve transmembran taşıma hızını artırmaktadır (Shen ve diğerleri, 2012). Prenilli kalkon bileşiklerinden en yaygın ve popüler olan ksantohumol, akut lösemi (Monteghirfo ve diğerleri, 2008), meme (Monteiro ve diğerleri), kolon (Pan, Becker ve Gerhäuser, 2005), ovaryum (Drenzek ve diğerleri, 2011), glioblastoma (Festa ve diğerleri, 2011), karaciğer (Dorn ve diğerleri) ve prostat kanserlerine (Venè ve diğerleri, 2012) karşı etkili bulunmuştur. *Eriosema montanum* Baker f. (Fabaceae) bitkisinden izole edilen prenilli dihidrokalkon yapısına sahip montakalkon A (2’,4’,6’ trihidroksi-4-metoksi-3,5-diprenildihidrokalkon) ve montakalkon B (2’,6’-dihidroksi-4,4’-dimetoksi-3,5-diprenildihidrokalkon) bileşiklerinin MCF-7 hücre hattında sırasıyla 7,0 ve 27,0 μM EC_{50} değerleri ile sitotoksik etkili olduğu tespit edilmiştir (Umereweneza ve diğerleri, 2021).

Kalkonların antikanser etki mekanizmaları araştırıldığında, ABCG2/P-gp/BCRP, 5α -redüktaz, aromataz, 17β -hidroksisteroit dehidrojenaz, HDAC/Situin-1, proteasome, VEGF, VEGFR-2 kinaz, MMP-2/9, JAK/STAT, CDC25B, tubulin, katepsin-K,

topoizomeraz-II, Wnt, NF- κ B, B-Raf ve mTOR gibi çeşitli moleküler hedeflerin inhibisyonunun rol oynadığı görülmektedir. Yapı etki çalışmaları incelendiğinde, aril halkasının elektron çeken/veren gruplarla ve/veya arilin heteroaril halkasıyla değiştirilmesinin antikanser etkinliği artırdığı düşünülmektedir (Çetinkaya, Akça ve Süntar, 2022; Mahapatra, Bharti ve Asati, 2015b).

Sitotoksik aktivite çalışmalarımız sonucunda, *O. hispidus* bitkisinden izole edilen kumarin iskeletine sahip umbelliferon, umbelliferon 6-karboksilik asit ve nodakenetin bileşikleri belirlenen konsantrasyonlarda belirgin antiproliferatif etkiye sahip değilken, literatürde ilk kez tarafımızdan izole edilip yapısı aydınlatılan ve 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3"-(α,α -dimetilallil)-4"hidroksi β -hidroksidihidrokalon bileşiği akciğer kanseri hücrelerine karşı 13,72 μ M IC₅₀ değeri ile önemli sitotoksik etki göstermiştir. Deneyde pozitif kontrol doksorubisinin akciğer kanseri hücrelerine karşı seçiciliği 0,12 iken; izole ettiğimiz yeni bileşiğin seçicilik indeksi 0,87 olarak hesaplanmıştır. Bu durum, 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3"-(α,α -dimetilallil)-4"hidroksi β -hidroksidihidrokalon'un sağlıklı hücrelere karşı sitotoksitesinin doksorubisine göre daha az ve seçiciliğinin görece yüksek olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmalarımızın sonucunda, Apiaceae familyasına ait, sitotoksik etki göstermesi muhtemel kimyasal grupları taşıyan 6 farklı cinsde ait 6 takson (*Echinophora orientalis* Hedge & Lamond, *Lecokia cretica* (Lam.) DC., *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb., *Pimpinella isaurica* V.A.Matthews subsp. *isaurica*, *Smyrniium connatum* Boiss. & Kotschy ve *Torilis ucranica* Spreng.) 2020 yılı DSÖ raporunda insidans ve mortalite verilerine göre öne çıkan kanser türlerinden akciğer, meme, karaciğer ve serviks kanseri hücre hatlarında sitotoksik etkileri yönünden incelenmiştir.

Türlerden *O. hispidus*'dan aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmaları ile bitkiden üç kumarin ve bir kalkon türevi bileşik izole edilmiştir. Aktif *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstraktlarından izole edilen kumarin türevleri, umbelliferon, umbelliferon 6-karboksilik asit ve nodakenetin, literatürde Apiaceae familyasına ait farklı cinslerden izole edilmiş olmakla birlikte *Opopanax* cinsinden izolasyonu, ilk kez bu çalışma ile rapor edilmiştir. Diklorometan alt ekstresinden izole edilen β -hidroksidihidroalkon kalkon türevi **2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidroalkon** yeni bileşik olarak bilimsel literatüre kazandırılmıştır.

Aktivite bulgularına göre umbelliferon, umbelliferon 6-karboksilik asit ve nodakenetin, denenen konsantrasyonlarda A549 hücre hattında belirgin antiproliferatif etki göstermezken, 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidroalkon akciğer kanseri hücre hattında önemli sitotoksik aktivite göstermiştir. Kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösteren bu yeni bileşiğin, sağlıklı hücrelere karşı sitotoksik etkisinin deneylerimizde referans ilaç olarak kullanılan doksorubisine göre daha düşük olduğunun ve dolayısıyla seçiciliğinin görece yüksek olduğunun tespit edilmesi, bileşiğin ileri antikanser araştırmalarında aday molekül olarak değerlendirilme potansiyelinin olduğunu göstermektedir.

Elde edilen bu bulgular ışığında, güçlü etki gözlemlediğimiz 2',6'-dihidroksi-4'metoksi-3''-(α,α -dimetilallil)-4''hidroksi β -hidroksidihidroalkon bileşiğinin miktarı artırılarak hücre ölümü mekanizması üzerine çalışmalar planlanmıştır. Bu sayede, bileşiğin sitotoksik etki mekanizması aydınlatılmış olacaktır. Bileşiğin potansiyel etkisi göz önüne alınarak farklı

kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etkileri araştırılabilir. Bileşiğin seçicilik indeksi değerinin doksorubisine kıyasla yüksek olmasına rağmen sağlıklı hücrelerdeki olası advers etkilerinin azaltılması ve etkinliğinin daha da arttırılması amacıyla eczacılık teknolojisi yöntemleri kullanılarak nano taşıyıcı sistemlerle hedeflendirme yapılabilir.

İzole edilen diğer bileşiklerin (umbelliferon 6-karboksilik asit, umbelliferon, nodakenetin) 50 µM konsantrasyonda antiproliferatif etki göstermemesi nedeniyle, belirtilen doz referans alınarak diğer biyolojik aktiviteler yönünden incelenebilir. Bileşikler üzerinde yapılan *in silico* analiz sonuçlarına göre etki gösterme potansiyeli olduğu belirlenen biyolojik aktiviteler yönünden araştırılabilir.

Tez kapsamında çalışılan türlerden *L. cretica* ve *P. isaurica* subsp. *isaurica*'nın *n*-hekzan ve diklorometan alt ekstreleri Amerika Ulusal Kanseri Enstitüsü protokollerine göre meme ve akciğer kanseri hücre hatlarında sitotoksik etki göstermiştir. Literatürde, yeterli sayıda fitokimya ve aktivite çalışması bulunmayan bu türler üzerinde, aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmalarının planlanması ile sitotoksik etkili yeni bileşiklerin keşfi ve bilim literatürüne kazandırılması muhtemeldir.

Ön aktivite deneylerinde *S. connatum*, *E. orientalis* ve *T. ucranica*'nın metanollü ekstrelerinin 100 µg/mL konsantrasyonda sitotoksik etkilerinin bulunmaması ve benzer şekilde, *O. hispidus*, *P. isaurica* subsp. *isaurica* ve *L. cretica*'nın *n*-butanol ve sulu alt ekstrelerinin kanser ve sağlıklı hücre hatlarında antiproliferatif etkilerinin bulunmaması, bu türlere ait ekstre ve alt ekstrelerin farklı biyolojik aktivite deneyleri için potansiyel araştırma materyalleri olarak değerlendirilebilmelerini de olanaklı kılmaktadır.

KAYNAKLAR

- A Baudino, T. (2015). Targeted cancer therapy: the next generation of cancer treatment. *Current Drug Discovery Technologies*, 12(1), 3-20.
- Abdel-Mogib, M., and Basaif, S. (2004). Drimane sesquiterpene-UMB ethers from the peduncles of *Ferula communis* L. *Journal of Saudi Chemical Society*, 8, 121-124.
- Abolhasanzadeh, Z., Ashrafi, H., Badr, P., and Azadi, A. (2017). Traditional neurotherapeutics approach intended for direct nose to brain delivery. *Journal of Ethnopharmacology*, 209, 116-123.
- Acharya, R., Chacko, S., Bose, P., Lapenna, A., and Pattanayak, S.P. (2019). Structure based multitargeted molecular docking analysis of selected furanocoumarins against breast cancer. *Scientific Reports*, 9(1), 1-13.
- Aćimović, M.G., Rat, M.M., Tešević, V., and Dojčinović, N. (2018). Anticancer properties of Apiaceae. *Phytochemicals in Vegetables: A Valuable Source of Bioactive Compounds*, 236-255.
- Adams, M., Schneider, S.-V., Kluge, M., Kessler, M., and Hamburger, M. (2012). Epilepsy in the renaissance: a survey of remedies from 16th and 17th century German herbals. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(1), 1-13.
- Adan, A., Kiraz, Y., and Baran, Y. (2016). Cell proliferation and cytotoxicity assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(14), 1213-1221.
- Ahıskalı, M., Arı, Ç., and Selvi, S. (2012). Edible wild plants and their consumption during winter in a rural village on Kazdağı (Mount Ida). *Boccone*, 24, 195-198.
- Ahmed, S., Khan, H., Aschner, M., Mirzae, H., Küpeli Akkol, E., and Capasso, R. (2020). Anticancer potential of furanocoumarins: mechanistic and therapeutic aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5622.
- Akalın, E., Özhatay, N., Özhatay, E., and Serpil, Ü. (2011). Rare and endemic taxa of Apiaceae in Turkey and their conservation significance. *Journal of Faculty of Pharmacy of İstanbul University*, (40), 1-10.
- Al Mouslem, A.K., Khalil, H.E., Emeka, P.M., and Alotaibi, G. (2022). Investigation of the chemical composition, antihyperglycemic and antilipidemic effects of *Bassia eriophora* and its derived constituent, umbelliferone on high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecules*, 27(20).
- Albayrak, G., Demir, S., Kose, F.A., and Baykan, S. (2021). New coumarin glycosides from endemic *Prangos heyniae* H. Duman & MF Watson. *Natural Product Research*, 1-13.
- Albayrak, G., Demir, S., Koyu, H., and Baykan, S. (2022). Anticholinesterase compounds from endemic *Prangos uechtrizii*. *Chemistry & Biodiversity*, e202200557.

- Ali, M.Y., Jannat, S., Jung, H.A., Choi, R.J., Roy, A., and Choi, J.S. (2016). Anti-Alzheimer's disease potential of coumarins from *Angelica decursiva* and *Artemisia capillaris* and structure-activity analysis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(2), 103-111.
- Ali, M.Y., Seong, S.H., Reddy, M.R., Seo, S.Y., Choi, J.S., and Jung, H.A. (2017). Kinetics and molecular docking studies of 6-formyl umbelliferone isolated from *Angelica decursiva* as an inhibitor of cholinesterase and BACE1. *Molecules*, 22(10), 1604.
- Almeida, A.A., Cota, B.B., Rodrigues, L.A., Dutra, L.L., Kohlhoff, M., Bressan, G.C., Brandão, G.C., and Leite, J.P. (2022). Withalutin, a new cytotoxic withanolide from *Athenaea velutina* (Sendtn.) D'Arcy. *Natural Product Research*, 1-8.
- Alpinar, K., Ozyürek, M., Kolak, U., Guclu, K., Aras, Ç., Altun, M., Celik, S.E., Berker, K.I., Bektasoglu, B., and Apak, R. (2009). Antioxidant capacities of some food plants wildy grown in Ayvalik of Turkey. *Food Science and Technology Research*, 15(1), 59-64.
- Alvandi, F., Kwitkowski, V.E., Ko, C.-W., Rothmann, M.D., Ricci, S., Saber, H., Ghosh, D., Brown, J., Pfeiler, E., and Chikhale, E. (2014). US Food and Drug Administration approval summary: omacetaxine mepesuccinate as treatment for chronic myeloid leukemia. *The Oncologist*, 19(1), 94-99.
- Amiri, M.S., and Joharchi, M.R. (2016). Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6(6), 621.
- Anto, R.J., Sukumaran, K., Kuttan, G., Rao, M., Subbaraju, V., and Kuttan, R. (1995). Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. *Cancer Letters*, 97(1), 33-37.
- Appendino, G., Bianchi, F., Bader, A., Campagnuolo, C., Fattorusso, E., Tagliatella-Scafati, O., Blanco-Molina, M., Macho, A., Fiebich, B.L., and Bremner, P. (2004). Coumarins from *Opopanax chironium*. New Dihydrofuranocoumarins and differential induction of apoptosis by imperatorin and heraclenin. *Journal of Natural Products*, 67(4), 532-536.
- Ayaz, F., Emerce, E., Gören, N., Çalış, İ., Rehman, M.U., Choudhary, M.I., and Küçükboyacı, N. (2020). Antiproliferative constituents from the aerial parts of *Chrysophthalmum montanum* (DC.) Boiss. *Phytochemistry Letters*, 36, 173-182.
- Ayaz, F., Küçükboyacı, N., Gören, N., Çalış, İ., Aydınlık, Ş., Ulukaya, E., Duman, H., and Choudhary, M.I. (2019). Bioassay-guided isolation of cytotoxic compounds from *Chrysophthalmum montanum* (DC.) Boiss. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 10-20.
- Azizi, K., Hamed, A., Azarpira, N., Hamed, A., Shahini, M., and Pasharan, A. (2021). A new cytotoxic sesquiterpene lactone from *Euphorbia microsphaera* Boiss against human breast cancer (MCF-7) and human fibrosarcoma (HT1080) cells. *Toxicon*, 202, 60-66.

- Badisa, R.B., Darling-Reed, S.F., Joseph, P., Cooperwood, J.S., Latinwo, L.M., and Goodman, C.B. (2009). Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. *Anticancer Research*, 29(8), 2993-2996.
- Birjandian, E., Motamed, N., and Yassa, N. (2018). Crude methanol extract of *Echinophora platyloba* induces apoptosis and cell cycle arrest at S-phase in human breast cancer cells. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(1), 307-316.
- Bohlmann, F., and Rode, K.M. (1968). Polyacetylenverbindungen, CXLI. Die Polyine aus *Opopanax chironium* Kch. *Chemische Berichte*, 101(2), 525-531.
- Boyd, M.R. (1997). The NCI in vitro anticancer drug discovery screen. In: *Anticancer drug development guide*. Springer, pp. 23-42.
- Brown, D., Asplund, R.O., and McMahon, V.A. (1975). Phenolic constituents of *Artemisia tridentata* spp. Vaseyana. *Phytochemistry*, 14(4), 1083-1084.
- Bruneton, J. (1999). Immunotoxicity of Epicutaneously Applied Anti-coagulant rodenticide warfarin. *Hampshire UK, Intercept Ltd*, 2, 245-263.
- Buccioni, M., Dal Ben, D., Lambertucci, C., Maggi, F., Papa, F., Thomas, A., Santinelli, C., and Marucci, G. (2014). Antiproliferative evaluation of isofuranodiene on breast and prostate cancer cell lines. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Bukhari, S., Butt, A., Amjad, M., Ahmad, W., Shah, V., and Trivedi, A. (2013). Synthesis and evaluation of chalcone analogues based pyrimidines as angiotensin converting enzyme inhibitors. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 16(21), 1368-1372.
- Çetinkaya, S., Akça, K.T., and Süntar, I. (2022). Flavonoids and anticancer activity: Structure-activity relationship. *Studies in Natural Products Chemistry*, 74, 81-115.
- Chamberlain, F. (1975). *Opopanax* W. Koch. In P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: University of Edinburgh Press, pp. 471-473.
- Chatterjee, A., and Mitra, S.S. (1949). On the constitution of the active principles isolated from the matured bark of *Aegle marmelos*, Correa. *Journal of the American Chemical Society*, 71(2), 606-609.
- Chen, M., Christensen, S.B., Zhai, L., Rasmussen, M., Theander, T., Frøkjær, S., Steffansen, B., Davidsen, J., and Kharazmi, A. (1997). The novel oxygenated chalcone, 2, 4-dimethoxy-4'-butoxychalcone, exhibits potent activity against human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in vitro and rodent parasites *Plasmodium berghei* and *Plasmodium yoelii* in vivo. *Journal of Infectious Diseases*, 176(5), 1327-1333.
- Chepkirui, C., Bourgard, C., Gilissen, P.J., Ndakala, A., Derese, S., Gütlín, Y., and Yenesew, A. (2022). A new β -hydroxydihydrochalcone from *Tephrosia uniflora*, and the revision of three β -hydroxydihydrochalcones to flavanones. *Fitoterapia*, 158, 105166.

- Coder, D.M. (2001). Assessment of cell viability. *Current Protocols in Cytometry*, 15(1), 9.2. 1-9.2. 14.
- Çölçimen, N., Arihan, O., Gümüşok, S., and Kılıç, C. (2020). Effect of the *Opopanax hispidus* plant's aerial parts extract on mice ovary. *Selçuk Tıp Dergisi*, 36(1).
- Cragg, G.M., and Newman, D.J. (2001). Natural products drug discovery and development at the United States National Cancer Institute. In *Drug Discovery and Traditional Chinese Medicine*. Springer, pp. 19-32.
- Cragg, G.M., and Newman, D.J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 72-79.
- Crowden, R., Harborne, J., and Heywood, V. (1969). Chemosystematics of the Umbelliferae-a general survey. *Phytochemistry*, 8(10), 1963-1984.
- Davies-Coleman, M.T., and Sunassee, S.N. (2012). Marine bioprospecting in southern Africa. In *Drug discovery in Africa*. Springer, pp. 193-209.
- Davis, P. (1972). Umbelliferae. In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 4. In: University Press. Edinburgh.
- Demirkaya, A.K., Gündoğdu, G., Karakaya, S., Taşcı, Ş.Y., Nalci, K.A., and Hacımüftüoğlu, A. (2021). Does umbelliferone protect primary cortical neuron cells against glutamate excitotoxicity. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27, 339-346.
- Dev, M., and Rajarajeshwari, N. (2013). Phytoconstituents isolated from *Diospyros oocarpa* Thwaites. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3(19), 50-54.
- Doğan, A., Bulut, G., Tuzlacı, E., Şenkardes, İ., Tuzlacı, E., and Şenkardes, İ. (2014). A review of edible plants on the Turkish Apiaceae species. *Journal of Faculty of Pharmacy of İstanbul University*, 44(2), 251-262.
- Dorn, C., Weiss, T.S., Heilmann, J., and Hellerbrand, C. (2010). Xanthohumol, a prenylated chalcone derived from hops, inhibits proliferation, migration and interleukin-8 expression of hepatocellular carcinoma cells. *International Journal of Oncology*, 36(2), 435-441.
- Drenzek, J.G., Seiler, N.L., Jaskula-Sztul, R., Rausch, M.M., and Rose, S.L. (2011). Xanthohumol decreases Notch1 expression and cell growth by cell cycle arrest and induction of apoptosis in epithelial ovarian cancer cell lines. *Gynecologic Oncology*, 122(2), 396-401.
- Dschang Jong Jung, P.A., and Huneck, S. (1991). Gigasol and other coumarins from *Angelica gigas*. *Phytochemistry*, 30(2), 710-712.
- Efferth, T., and Wink, M. (2010). Chemical-biology of natural products from medicinal plants for cancer therapy. In *Alternative and Complementary Therapies for Cancer*. Springer, pp. 557-582.

- El-Gamal, A.A. (2001). Sesquiterpene lactones from *Smyrniololus*. *Phytochemistry*, 57(8), 1197-1200.
- Elkhalifa, D., Al-Hashimi, I., Al Moustafa, A.-E., and Khalil, A. (2021). A comprehensive review on the antiviral activities of chalcones. *Journal of Drug Targeting*, 29(4), 403-419.
- Emerce, E., Gürbüz, P., Doğan, S., Kadioglu, E., and Süntar, I. (2019). Cytotoxic activity-guided isolation studies on *Fumana procumbens* (Dunal) Gren. & Godr. *Records of Natural Products*, 13, 189-198.
- Emerce, E., and Taban Akça, K. (2023). Cytotoxic activity methods. In: *Methods For Preclinical Evaluation of Bioactive Natural Products*, In press.
- Entezari, M., Dabaghian, F.H., and Hashemi, M. (2014). The comparison of antimutagenicity and anticancer activities of *Echinophora platyloba* DC on acute promyelocytic leukemia cancer cells. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10(4), 1004.
- Essombe Malolo, F.A., Bellier Tabekoueng, G., Dongmo Tekapi Tsopgni, W., Nguemdjo Chimeze, V.W., Kenmogne Kouam, A., Mas-Claret, E., Langat, M.K., Ndom, J.C., Frese, M., and Sewald, N. (2022). Chemical constituents of the stem bark of the hybrid Plant *Citrus × paradisi* Macfad.(Rutaceae). *Chemistry & Biodiversity*, e202101033.
- Esterbauer, H., Schwarzl, E., and Grill, D. (1980). Umbelliferone in needles of *Picea abies*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 35(9-10), 682-684.
- Evergetis, E., Koulocheri, S.D., and Haroutounian, S.A. (2015). Exploitation of Apiaceae family plants as valuable renewable source of essential oils containing crops for the production of fine chemicals: Part II. *Industrial Crops and Products*, 64, 59-67.
- Farooq, S., Dangroo, N.A., Priya, D., Banday, J.A., Sangwan, P.L., Qurishi, M.A., Koul, S., and Saxena, A.K. (2014). Isolation, cytotoxicity evaluation and HPLC-quantification of the chemical constituents from *Prangos pabularia*. *PloS one*, 9(10), e108713.
- Farzaei, M.H., Farzaei, F., Abdollahi, M., Abbasabadi, Z., Abdolghaffari, A.H., and Mehraban, B. (2016). A mechanistic review on medicinal plants used for rheumatoid arthritis in traditional Persian medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68(10), 1233-1248.
- Festa, M., Capasso, A., D'Acunto, C. W., Masullo, M., Rossi, A. G., Pizza, C., and Piacente, S. (2011). Xanthohumol induces apoptosis in human malignant glioblastoma cells by increasing reactive oxygen species and activating MAPK pathways. *Journal of Natural Products*, 74(12), 2505-2513.
- Filimonov, D., Lagunin, A., Gloriovova, T., Rudik, A., Druzhilovskii, D., Pogodin, P., and Poroikov, V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(3), 444-457.

- Filippini, R., Piovan, A., Innocenti, G., Caniato, R., and Cappelletti, E.M. (1998). Production of coumarin compounds by *Haplophyllum patavinum* *in vivo* and *in vitro*. *Phytochemistry*, 49(8), 2337-2340.
- Fort, R.S., Trinidad Barnech, J.M., Dourron, J., Colazzo, M., Aguirre-Crespo, F.J., Duhagon, M.A., and Álvarez, G. (2018). Isolation and structural characterization of bioactive molecules on prostate cancer from Mayan traditional medicinal plants. *Pharmaceuticals*, 11(3), 78.
- Fouotsa, H., Mbaveng, A.T., Mbazoa, C.D., Nkengfack, A.E., Farzana, S., Iqbal, C.M., Marion Meyer, J.J., Lall, N., and Kuete, V. (2013). Antibacterial constituents of three Cameroonian medicinal plants: *Garcinia nobilis*, *Oricia suaveolens* and *Balsamocitrus camerunensis*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 1-10.
- Fraternale, D., Ricci, D., Calcabrini, C., Guescini, M., Martinelli, C., and Sestili, P. (2013). Cytotoxic activity of essential oils of aerial parts and ripe fruits of *Echinophora spinosa* (Apiaceae). *Natural Product Communications*, 8(11), 1934578X1300801137.
- Galluzzi, L., Maiuri, M., Vitale, I., Zischka, H., Castedo, M., Zitvogel, L., and Kroemer, G. (2007). Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death and Differentiation*, 14(7), 1237.
- Gao, D., Zhang, Y., Xu, P., Lin, Y., Yang, F., Liu, J., Zhu, H., and Xia, Z. (2015). *In vitro* evaluation of dual agonists for PPAR γ / β from the flower of *Edgeworthia gardneri* (wall.) Meisn. *Journal of Ethnopharmacology*, 162, 14-19.
- Gershenzon, J., and Mabry, T.J. (1983). Secondary metabolites and the higher classification of angiosperms. *Nordic Journal of Botany*, 3(1), 5-34.
- Ghalkhani, A., Moradkhani, S., Soleimani, M., and Dastan, D. (2021). Functional components, antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities of *Lamium garganicum* L. ssp. *pictum* as a novel natural agents from Lamiaceae family. *Food Bioscience*, 43, 101265.
- Ghasemi, S., and Habibi, Z. (2014). A new dihydrofuranocoumarin from *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb. *Natural Product Research*, 28(21), 1808-1812.
- Gijbels, M., Bos, R., Scheffer, J., and Svendsen, A.B. (1983). Phthalides in roots of *Opopanax chironium*. *Planta medica*, 47(01), 3-6.
- Gören, N., and Ulubelen, A. (1987). Sesquiterpene lactones from the fruits of *Smyrniurn connatum*. *Phytochemistry*, 26(9), 2633-2634.
- Grafakou, M.E., Barda, C., Karikas, G.A., Heilmann, J., and Skaltsa, H. (2021). Cajamolides AN: Cytotoxic and anti-inflammatory sesquiterpene lactones from *Calea jamaicensis*. *Bioorganic Chemistry*, 116, 105351.
- Gümüşok, S., Sarıaltın, S.Y., Çoban, T., and Kılıç, C.S. (2021). A preliminary study on the antioxidant and anti-inflammatory activities of *Opopanax hispidus*. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 45(3), 577-585.

- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., and Babaç, M.T. (2012). Türkiye bitkileri listesi (Damarlı bitkiler)[Turkey plant list (Vascular plants)]. *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği*.
- Gürhan, G., and Nurten, E. (2004). Halk arasında hemoroit tedavisinde kullanılan bitkiler-I. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*(1), 37-60.
- Guz, N.R., Lorenz, P., and Stermitz, F.R. (2001). New coumarins from *Harbouria trachypleura*: isolation and synthesis. *Tetrahedron Letters*, 42(37), 6491-6494.
- Hait, W.N., Rubin, E., Alli, E., and Goodin, S. (2007). Tubulin targeting agents. *Update on Cancer Therapeutics*, 2(1), 1-18.
- Harborne, J.B., and Williams, C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- Hata, K., and Sano, K. (1966). The constitution of decursin, a new coumarin isolated from the root of *Angelica decursiva* FR. et SAV.(umbelliferae). *Tetrahedron Letters*, 7(14), 1461-1465.
- Hotchkiss, R.S., Strasser, A., McDunn, J.E., and Swanson, P.E. (2009). Cell death. *New England Journal of Medicine*, 361(16), 1570-1583.
- Hyun, S.K., Oh, Y.N., Kwon, H.J., and Kim, B.W. (2013). Angiotensin converting enzyme inhibitory benzopyranoids from *Angelica gigas*. *Food Science and Biotechnology*, 22(6), 1741-1745.
- İnternet: Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M. (2020). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020. URL: <https://gco.iarc.fr/today>, Son erişim tarihi: 11.12.2022.
- Iranshahi, M., Rezaee, R., Najafi, M.N., Haghbin, A., and Kasaian, J. (2018). Cytotoxic activity of the genus *Ferula* (Apiaceae) and its bioactive constituents. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 8(4), 296.
- Iranshahy, M., Farhadi, F., Paknejad, B., Zareian, P., Iranshahi, M., Karami, M., and Abtahi, S.R. (2019). Gummosin, a sesquiterpene coumarin from *Ferula assa-foetida* is preferentially cytotoxic to human breast and prostate cancer cell lines. *Avicenna journal of phytomedicine*, 9(5), 446.
- Islam, M.N., Choi, R.J., Jin, S.E., Kim, Y.S., Ahn, B.R., Zhao, D., Jung, H.A., and Choi, J.S. (2012). Mechanism of anti-inflammatory activity of umbelliferone 6-carboxylic acid isolated from *Angelica decursiva*. *Journal of Ethnopharmacology*, 144(1), 175-181.
- Javadi, B., Iranshahy, M., and Emami, S.A. (2015). Anticancer plants in Islamic traditional medicine. *Complementary Therapies for the Body, Mind and Soul. Edited by Marcelo Saad. Croatia: Book*, 111-144.
- Jun, N.J., Kim, S.-C., Song, E.-Y., Jang, K.C., Lee, D.S., and Cho, S.K. (2014). Isolation of anticancer compounds from *Peucedanum japonicum* Thunb. roots. *Korean Journal of Plant Resources*, 27(3), 215-222.

- Kadan, S., Rayan, M., and Rayan, A. (2013). Anticancer activity of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extract. *The Open Nutraceuticals Journal*, 6(1).
- Kajimoto, T., Yahiro, K., and Nohara, T. (1989). Sesquiterpenoid and disulphide derivatives from *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry*, 28(6), 1761-1763.
- Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 10(4), 1567-1574.
- Karakaya, S., Koca, M., Sytar, O., and Duman, H. (2020). The natural phenolic compounds and their antioxidant and anticholinesterase potential of herb *Leiotulus dasyanthus* (K. Koch) Pimenov & Ostr. *Natural Product Research*, 34(9), 1303-1305.
- Karakaya, S., Koca, M., Sytar, O., Dursunoglu, B., Ozbek, H., Duman, H., Guvenalp, Z., and Kilic, C. (2019). Antioxidant and anticholinesterase potential of *Ferulago cassia* with farther bio-guided isolation of active coumarin constituents. *South African Journal of Botany*, 121, 536-542.
- Karakaya, S., Yilmaz-Oral, D., Kilic, C.S., and Gur, S. (2019). Umbelliferone isolated from *Zosima absinthifolia* roots partially restored erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Medicinal Chemistry Research*, 28(8), 1161-1167.
- Kaska, A., and Mammadov, R. (2018). Antioxidant properties, proximate content and cytotoxic activity of *Echinophora tournefortii* Jaub. & Spach. *Food Science and Technology*, 39, 875-880.
- Kassim, N.K., Rahmani, M., Ismail, A., Sukari, M.A., Ee, G.C.L., Nasir, N.M., and Awang, K. (2013). Antioxidant activity-guided separation of coumarins and lignan from *Melicope glabra* (Rutaceae). *Food Chemistry*, 139(1-4), 87-92.
- Katz-Downie, D.S., Valiejo-Roman, C.M., Terentieva, E.I., Troitsky, A.V., Pimenov, M.G., Lee, B., and Downie, S.R. (1999). Towards a molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae: Additional information from nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 216(3), 167-195.
- Kaur, P., Kumar, M., Singh, B., Kumar, S., and Kaur, S. (2012). Amelioration of oxidative stress induced by oxidative mutagens and COX-2 inhibitory activity of umbelliferone isolated from *Glycyrrhiza glabra* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S120-S126.
- Khalil, A.T., Chang, F.-R., Lee, Y.-H., Chen, C.-Y., Liaw, C.-C., Ramesh, P., Yuan, S.-S.F., and Wu, Y.-C. (2003). Chemical constituents from the *Hydrangea chinensis*. *Archives of Pharmacal Research*, 26(1), 15-20.
- Khan, R., Bhat, K.A., Raja, A.F., Shawl, A.S., and Alam, M.S. (2010). Isolation, characterisation and antibacterial activity studies of coumarins from *Rhododendron lepidotum* Wall. ex G. Don, Ericaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20, 886-890.

- Khan, S., Al-Fadhli, A.A., and Tilvi, S. (2021). Discovery of cytotoxic natural products from Red Sea sponges: Structure and synthesis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 220, 113491.
- Kiełbus, M., Skalicka-Woźniak, K., Grabarska, A., Jeleniewicz, W., Dmoszyńska-Graniczka, M., Marston, A., Polberg, K., Gawda, P., Klatka, J., and Stepulak, A. (2013). 7-substituted coumarins inhibit proliferation and migration of laryngeal cancer cells in vitro. *Anticancer Research*, 33(10), 4347-4356.
- Kim, D.C., Kim, J.A., Min, B.S., Jang, T.S., Na, M., and Lee, S.H. (2010). Guaiane sesquiterpenoids isolated from the fruits of *Torilis japonica* and their cytotoxic activity. *Helvetica Chimica Acta*, 93(4), 692-697.
- Kim, J.S., Kim, J.C., Shim, S.H., Lee, E.J., Jin, W.Y., Bae, K., Son, K.H., Kim, H.P., Kang, S.S., and Chang, H.W. (2006). Chemical constituents of the root of *Dystaenia takeshimana* and their anti-inflammatory activity. *Archives of Pharmacal Research*, 29(8), 617-623.
- Kim, S., Ko, H., Son, S., Shin, K., and Kim, D. (2001). A convenient total synthesis of (+)-decursinol from resorcinol. *Tetrahedron Letters*, 42, 7641-7643.
- Kinghorn, A.D., Chin, Y.-W., and Swanson, S.M. (2009). Discovery of natural product anticancer agents from biodiverse organisms. *Current Opinion in Drug Discovery & Development*, 12(2), 189.
- Kong, L.-Y., Li, Y., Min, Z.-D., Li, X., and Zhu, T.-R. (1996). Coumarins from *Peucedanum praeruptorum*. *Phytochemistry*, 41(5), 1423-1426.
- Kozioł, E., Józwiak, K., Budzyńska, B., de Witte, P.A., Copmans, D., and Skalicka-Woźniak, K. (2021). Comparative antiseizure analysis of diverse natural coumarin derivatives in zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11420.
- Kumar, N.N., Ramakrishnaiah, H., Krishna, V., and Radhika, M. (2014). Cytotoxic activity of *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent on MCF-7, HeLa and HepG2 cell lines. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 339-342.
- Kumar, S., and Pandey, A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific World Journal*, 2013.
- Küpelı Akkol, E., Genç, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sánchez, E., and Capasso, R. (2020). Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer. *Cancers (Basel)*, 12(7).
- Kutlu, Z., Celik, M., Bilen, A., Halıcı, Z., Yıldırım, S., Karabulut, S., Karakaya, S., Bostanlık, D.F., and Aydın, P. (2020). Effects of umbelliferone isolated from the *Ferulago pauciradiata* Boiss. & Heldr. Plant on cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 127, 110206.
- Kylin, M. (2010). *Angelica archangelica* L.

- Lagunin, A.A., Dubovskaja, V.I., Rudik, A.V., Pogodin, P.V., Druzhilovskiy, D.S., Gloriovzova, T.A., Filimonov, D.A., Sastry, N.G., and Poroikov, V.V. (2018). CLC-Pred: A freely available web-service for *in silico* prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PloS One*, 13(1), e0191838.
- Lee, S., Shin, D.-S., Kim, J.S., Oh, K.-B., and Kang, S.S. (2003). Antibacterial coumarins from *Angelica gigas* roots. *Archives of Pharmacal Research*, 26(6), 449-452.
- Lei, P., Liao, C., Chen, J., and Zhou, M. (2019). *In vitro* and *in vivo* growth inhibition of human leukemia cells by Nodakenetin are mediated via mitochondrial apoptosis, cell cycle arrest and inhibition of cell migration and invasion. *Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, 24(3), 1219-1224.
- Leonti, M. (2011). The future is written: impact of scripts on the cognition, selection, knowledge and transmission of medicinal plant use and its implications for ethnobotany and ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(3), 542-555.
- Lev, E., and Amar, Z. (2008). "Fossils" of practical medical knowledge from medieval Cairo. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 24-40.
- Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C.K., Chai, H., Pezzuto, J.M., Cordell, G.A., and Ruangrunsi, N. (1993). Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the bulbs of *Crinum amabile*. *Journal of Natural Products*, 56(8), 1331-1338.
- Lim, H.J., Lee, J.H., Choi, J.S., Lee, S.K., Kim, Y.S., and Kim, H.P. (2014). Inhibition of airway inflammation by the roots of *Angelica decursiva* and its constituent, columbianadin. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(2), 1353-1361.
- Lin, Y., Chen, Y., Zeng, J., and Li, S. (2022). Nodakenetin Alleviates Inflammatory Pain Hypersensitivity by Suppressing NF- κ B Signal Pathway. *Neuroimmunomodulation*, 29(4), 486-492.
- Liu, R., Sun, Q., Shi, Y., and Kong, L. (2005). Isolation and purification of coumarin compounds from the root of *Peucedanum decursivum* (Miq.) Maxim by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1076(1), 127-132.
- Lombardi, V.R., Carrera, I., and Cacabelos, R. (2017). *In vitro* screening for cytotoxic activity of herbal extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Maggio, A., Bruno, M., Formisano, C., Rigano, D., and Senatore, F. (2013). Chemical composition of the essential oils of three species of Apiaceae growing wild in Sicily: *Bonannia graeca*, *Eryngium maritimum* and *Opopanax chironium*. *Natural Product Communications*, 8(6), 1934578X1300800640.
- Mahapatra, D.K., Asati, V., and Bharti, S.K. (2015a). Chalcones and their therapeutic targets for the management of diabetes: structural and pharmacological perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 92, 839-865.

- Mahapatra, D.K., Bharti, S.K., and Asati, V. (2015b). Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 98, 69-114.
- Mahapatra, D.K., Bharti, S.K., and Asati, V. (2017). Chalcone derivatives: anti-inflammatory potential and molecular targets perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(28), 3146-3169.
- Manayi, A., Saeidnia, S., Ostad, S.N., Hadjiakhoondi, A., Ardekani, M.R.S., Vazirian, M., Akhtar, Y., and Khanavi, M. (2013). Chemical constituents and cytotoxic effect of the main compounds of *Lythrum salicaria* L. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 68(9-10), 367-375.
- Mao, W.W., Wang, T.T., Zeng, H.P., Wang, Z.Y., Chen, J.P., and Shen, J.G. (2009). Synthesis and evaluation of novel substituted 5-hydroxycoumarin and pyranocoumarin derivatives exhibiting significant antiproliferative activity against breast cancer cell lines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(16), 4570-4573.
- Matejić, J., Džamić, A., Mihajilov-Krstev, T., Ranđelović, V., and Marin, P. (2015). Antioxidant and antimicrobial potential of *Opopanax hispidus* (Apiaceae) extracts. *Lekovite Sirovine* (35), 141-150.
- Matejic, J.S., Ristic, M.S., Randelovic, V.N., Marin, P.D., and Dzamic, A.M. (2018). Chemical composition of the essential oil of *Opopanax hispidus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 54(6), 1174-1176.
- Meerloo, J.V., Kaspers, G.J., and Cloos, J. (2011). Cell sensitivity assays: the MTT assay. In *Cancer Cell Culture*. Springer, pp. 237-245.
- Menemen, Y. (2012). Lecokia DC. In: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babac, M.T. (Eds). *Türkiye bitkileri listesi (Damarlı bitkiler)[Turkey plant list (Vascular plants)]*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği, p. 69.
- Mo, E.J., Ahn, J.H., Jo, Y.H., Kim, S.B., Hwang, B.Y., and Lee, M.K. (2017). Inositol derivatives and phenolic compounds from the roots of *Taraxacum coreanum*. *Molecules*, 22(8), 1349.
- Molinari, G. (2009). Natural products in drug discovery: present status and perspectives. *Pharmaceutical Biotechnology*, 13-27.
- Monteghirfo, S., Tosetti, F., Ambrosini, C., Stigliani, S., Pozzi, S., Frassoni, F., and Ferrari, N. (2008). Antileukemia effects of xanthohumol in Bcr/Abl-transformed cells involve nuclear factor- κ B and p53 modulation. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7(9), 2692-2702.
- Monteiro, R., Calhau, C., Silva, A.O.E., Pinheiro-Silva, S., Guerreiro, S., Gärtner, F., and Soares, R. (2008). Xanthohumol inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts. *Journal of Cellular Biochemistry*, 104(5), 1699-1707.

- Morikawa, C.I.O., Miyaura, R., Kamo, T., Hiradate, S., Pérez, J.A.C., and Fujii, Y. (2011). Isolation of umbelliferone as a principal allelochemical from the Peruvian medicinal plant *Diplostephium foliosissimum* (Asteraceae). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 77(4), 285-291.
- Muckensturm, B., Boulanger, A., Ouahabi, S., and Reduron, J.-P. (2005). A new irregular diterpenoid from *Opopanax chironium*. *Fitoterapia*, 76(7-8), 768-770.
- Mukunda, A., Pynadath, M.K., Kadar, N., and Mohan, A. (2020). Cytotoxic effect of anise seed (*Pimpinella anisum*) extract on KB cell line-a comparative study with cisplatin. *Oral & Maxillofacial Pathology Journal*, 11(1).
- Murakami, A., Kuki, W., Takahashi, Y., Yonei, H., Nakamura, Y., Ohto, Y., Ohigashi, H., and Koshimizu, K. (1997). Auraptene, a citrus coumarin, inhibits 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in icr mouse skin, possibly through suppression of superoxide generation in leukocytes. *Japanese Journal of Cancer Research*, 88(5), 443-452.
- Murray, R., Mendez, J., and Brown, S. (1982). Coumarin activity in plants and bioorganism aspects. *John Wiley*, 2, 45-55.
- Muiva, L.M., Yenesew, A., Derese, S., Heydenreich, M., Peter, M. G., Akala, H.M., and Walsh, D. (2009). Antiplasmodial β -hydroxydihydrochalcone from seedpods of *Tephrosia elata*. *Phytochemistry Letters*, 2(3), 99-102.
- Muthu, R., Thangavel, P., Selvaraj, N., Ramalingam, R., and Vaiyapuri, M. (2013). Synergistic and individual effects of umbelliferone with 5-fluorouracil on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against 1, 2-dimethylhydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 3(1), 74-82.
- Neethu, S., Govind, M.G., Vimalkumar, P.S., Biji, M., Sherin, D.R., Dan, M., and Radhakrishnan, K.V. (2021). Novel flavonoids from the aerial parts of unexplored and endangered wild nutmeg species *Myristica beddomei* subsp. *sphaerocarpa* WJ de Wilde. *Phytochemistry Letters*, 45, 72-76.
- Newman, D.J., and Cragg, G.M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70(3), 461-477.
- Newman, D.J., and Cragg, G.M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311-335.
- Olennikov, D.N. (2022). New Coumarins from Roots and Fruit of *Peucedanum morisonii*. *Chemistry of Natural Compounds*, 58(5), 816-821.
- Önder, A., Nahar, L., Nath, S., and Sarker, S.D. (2020). Phytochemistry, traditional uses and pharmacological properties of the genus *opopanax* WDJ Koch: A Mini-Review. *Pharmaceutical Sciences*, 26(2), 99-106.
- Özbek, H., Güvenalp, Z., Kuruüzüm-Uz, A. E., Kazaz, C., & Demirezer, L.Ö. (2016). β -Hydroxydihydrochalcone and flavonoid glycosides along with triterpene saponin and sesquiterpene from the herbs of *Pimpinella rhodantha* Boiss. *Natural Product Research*, 30(7), 750-754.

- Özek, T., Özek, G., Pimenov, M., Kljuykov, E., and Baser, K. (2009). Composition of the volatile metabolites from different parts of *Torilis leptophylla* (L.) Reichb. and *T. ucranica* Sprengel. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 383-384.
- Özgen, U., Kaya, Y., and Houghton, P. (2012). Folk medicines in the villages of Ilıca District (Erzurum, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 36(1), 93-106.
- Pan, L., Becker, H., and Gerhäuser, C. (2005). Xanthohumol induces apoptosis in cultured 40-16 human colon cancer cells by activation of the death receptor-and mitochondrial pathway. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(9), 837-843.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., and Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5.
- Parhoodeh, P., Rahmani, M., Hashim, N.M., Sukari, M.A., and Cheng Lian, G.E. (2011). Lignans and other constituents from aerial parts of *Haplophyllum villosum*. *Molecules*, 16(3), 2268-2273.
- Park, H.W., Choi, S.-U., Baek, N.-I., Kim, S.-H., Eun, J.S., Yang, J.H., and Kim, D.K. (2006). Guaiane sesquiterpenoids from *Torilis japonica* and their cytotoxic effects on human cancer cell lines. *Archives of Pharmacal Research*, 29(2), 131-134.
- Pavlopoulou, A., Spandidos, D.A., and Michalopoulos, I. (2015). Human cancer databases. *Oncology Reports*, 33(1), 3-18.
- Quang, D.N., So, T. C., Thanh, N.T.P., Hoa, L.T.P., Dien, P.H., Luong, T.M., and Tien, N.Q. (2018). Balanochalcone, a new chalcone from *Balanophora laxiflora* Hemsl. *Natural Product Research*, 32(7), 767-772.
- Quassinti, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Barboni, L., Ricciutelli, M., Sagratini, G., Papa, F., Caprioli, G., Petrelli, D., and Vitali, L.A. (2013). *In vitro* biological activity of essential oils and isolated furanosesquiterpenes from the neglected vegetable *Smyrniololusatum* L.(Apiaceae). *Food Chemistry*, 138(2-3), 808-813.
- Quassinti, L., Maggi, F., Barboni, L., Ricciutelli, M., Cortese, M., Papa, F., Garulli, C., Kalogris, C., Vittori, S., and Bramucci, M. (2014). Wild celery (*Smyrniololusatum* L.) oil and isofuranodiene induce apoptosis in human colon carcinoma cells. *Fitoterapia*, 97, 133-141.
- Quek, A., Mohd Zaini, H., Kassim, N.K., Sulaiman, F., Rukayadi, Y., Ismail, A., Zainal Abidin, Z., and Awang, K. (2021). Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC) and antibacterial properties of *Melicope glabra* bark extracts and isolated compounds. *PloS One*, 16(5), e0251534.
- Rajabi, A., Ebrahimi, S., Neuburger, M., Wagner, T., Zimmermann, S., Quitschau, M., Amin, G., Sourmaghi, M.S., and Hamburger, M. (2011). Phytochemical profiling of *Opopanax persicus* Boiss. *Planta Medica*, 77(12), WSI4.

- Ramu, R., Shirahatti, P.S., Zameer, F., Ranganatha, L.V., and Prasad, M.N. (2014). Inhibitory effect of banana (*Musa* sp. var. *nanjangud rasa bale*) flower extract and its constituents Umbelliferone and Lupeol on α -glucosidase, aldose reductase and glycation at multiple stages. *South African Journal of Botany*, 95, 54-63.
- Rashidipour, M., Ashrafi, B., Hadavand, S., Beyranvand, F., and Zareivenovel, M. (2020). Evaluation of the chemical compounds and the antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of echinophora *Cinerea boiss* essential oil. *Herbal Medicines Journal (Herb Med J)*, 1-10.
- Raslan, M.A., Melek, F.R., Said, A.A., Elshamy, A.I., Umeyama, A., and Mounier, M.M. (2017). New cytotoxic dihydrochalcone and steroidal saponins from the aerial parts of *Sansevieria cylindrica* Bojer ex Hook. *Phytochemistry Letters*, 22, 39-43.
- Rauf, A., Khan, R., Khan, H., Pervez, S., and Pirzada, A.S. (2014). *In vivo* antinociceptive and anti-inflammatory activities of umbelliferone isolated from *Potentilla evestita*. *Natural Product Research*, 28(17), 1371-1374.
- Rayar, A., and Manivannan, R. (2015). *In vitro* cytotoxicity activity of phytochemicals isolated from *Coriandrum sativum* Linn in selected cell lines. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 10(3), 38-49.
- Risinger, A.L., Giles, F.J., and Mooberry, S.L. (2009). Microtubule dynamics as a target in oncology. *Cancer Treatment Reviews*, 35(3), 255-261.
- Riss, T.L., and Moravec, R.A. (2004). Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. *Assay and Drug Development Technologies*, 2(1), 51-62.
- Riss, T.L., and Moravec, R.A. (2006). Cell proliferation assays: improved homogeneous methods used to measure the number of cells in culture. In *Cell biology*. Elsevier, pp. 25-31.
- Rofi, R.D., and Pomilio, A.B. (1985). 5, 7, 3'-Trihydroxy-4', 5'-dimethoxyflavone and other phenolics from *Poa huecu*. *Phytochemistry*, 24(9), 2131-2132.
- Sacli, S., and Akalin, E. (2001). Prelimilnary ethnobotanical study from kaz dagi (Balikesir/Çanakkale) I: uses and vernacular names. *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, 34(2), 9-16.
- Saeed, M.A., and Sabir, A. (2008). Irritant and cytotoxic coumarins from *Angelica glauca* Edgew roots. *Journal of Asian Natural Products Research*, 10(1), 49-58.
- Sahranavard, S., Ghafari, S., and Mosaddegh, M. (2014). Medicinal plants used in Iranian traditional medicine to treat epilepsy. *Seizure*, 23(5), 328-332.
- Sarikurkcü, C., Targan, S., Ozer, M.S., and Tepe, B. (2017). Fatty acid composition, enzyme inhibitory, and antioxidant activities of the ethanol extracts of selected wild edible plants consumed as vegetables in the Aegean region of Turkey. *International Journal of Food Properties*, 20(3), 560-572.

- Sarker, S.D., Armstrong, J.A., Gray, A.I., and Waterman, P.G. (1994). Pyranocoumarins from *Eriostemon apiculatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(6), 641-644.
- Satıl, F., Akçiçek, E., and Selvi, S. (2008). An ethnobotanical study in Madra Mountain (Balıkesir-İzmir) and vicinity. *Research Journal of Biology Sciences*, 1, 31-36.
- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., and Merah, O. (2017). The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops and Products*, 109, 661-671.
- Seong, S.H., Ali, M.Y., Jung, H.A., and Choi, J.S. (2019). Umbelliferone derivatives exert neuroprotective effects by inhibiting monoamine oxidase A, self-amyloid β aggregation, and lipid peroxidation. *Bioorganic Chemistry*, 92, 103293.
- Setayesh, M., Zargaran, A., Sadeghifar, A.R., Salehi, M., and Rezaeizadeh, H. (2018). New candidates for treatment and management of carpal tunnel syndrome based on the Persian Canon of Medicine. *Integrative Medicine Research*, 7(2), 126-135.
- Sevgi, E., and Kızılarıslan, Ç. (2013). Bir isim çok bitki Mayasıl Otu. *Avrasya Terim Dergisi*, 1(1), 17-29.
- Shahneh, F., Baradaran, B., Majidi, J., and Babaloo, Z. (2014). *Echinophora platyloba* DC (Apiaceae) crude extract induces apoptosis in human prostate adenocarcinoma cells (PC 3). *Biomedical Journal*, 37(5).
- Shahneh, F.Z., Valiyari, S., Azadmehr, A., Hajiaghaee, R., Yaripour, S., Bandehagh, A., and Baradaran, B. (2013). Inhibition of growth and induction of apoptosis in fibrosarcoma cell lines by *Echinophora platyloba* DC: *in vitro* analysis. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013.
- Shahzadi, I., Ali, Z., Baek, S.H., Mirza, B., and Ahn, K.S. (2020). Assessment of the antitumor potential of umbelliprenin, a naturally occurring sesquiterpene coumarin. *Biomedicines*, 8(5), 126.
- Sherif, A.E., Amen, Y., and Shimizu, K. (2022). Validation of the potential anti-inflammatory activity of *Plumbago auriculata* Lam. *South African Journal of Botany*, 147, 467-471.
- Shimada, A., Ueno, H., Inagaki, M., and Yoshimitsu, H. (2022). Glutaminase inhibitory activity of umbelliferone isolated from kabosu (*Citrus sphaerocarpa* Hort. ex Tanaka). *Natural Product Research*, 36(2), 605-609.
- Shokoohinia, Y., Sajjadi, S.-E., Gholamzadeh, S., Fattahi, A., and Behbahani, M. (2014). Antiviral and cytotoxic evaluation of coumarins from *Prangos ferulacea*. *Pharmaceutical Biology*, 52(12), 1543-1549.
- Simpson, M.G. (2019). *Plant systematics*: Academic press.
- Singh, R., Singh, B., Singh, S., Kumar, N., Kumar, S., and Arora, S. (2010). Umbelliferone-An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex. Del. *Food Chemistry*, 120(3), 825-830.

- Stefanova, T.H., Nikolova, N.J., Toshkova, R.A., and Neychev, H.O. (2007). Antitumor and immunomodulatory effect of coumarin and 7-hydroxycoumarin against Sarcoma 180 in mice. *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, 6(2), 107-115.
- Stevens, P.F. (1972). *Lecokia* DC. In P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: University of Edinburgh Press, pp. 381.
- Stoddart, M.J. (2011). Cell viability assays: introduction. *Mammalian Cell Viability*, 1-6.
- Sullivan, G. (1982). Occurrence of umbelliferone in the seeds of *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(3), 609-610.
- Suzuki, H., Ikeda, T., Matsumoto, T., and Noguchi, M. (1977). Isolation and identification of hydrangenol and umbelliferone from cultured cells of amacha (*hydrangea macrophylla* seringe var. *thunbergii* makino). *Agricultural and Biological Chemistry*, 41(1), 205-206.
- Tabakam, G.T., Kodama, T., Tchienmogne, M.A.T., Hoang, N.N., Nomin-Erdene, B., Ngouela, S.A., and Awouafack, M.D. (2022). Cytotoxic potential of dihydrochalcones from *Eriosema glomeratum* and their semi-synthetic derivatives. *Natural Product Research*, 1-12.
- Taban Akça, K., Emerce, E., Gök, H.N., Tugay, O., Gürbüz, P., and Süntar, I. (2022). Cytotoxic activity of *Pimpinella isaurica* and *in silico* analysis of flavonoids. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 32(4), 657-662.
- Taban Akça, K., Gürbüz, P., Doğan, Ş.D., Emerce, E., Gören, A.C., Polat, R., and Süntar, İ. (2022). Two new eudesmane-type sesquiterpene derivatives from *Lecokia cretica* (Lam.) DC. *Natural Product Research*, 1-9.
- Tabanca, N., Bedir, E., Kirimer, N., Baser, K.H.C., Khan, S.I., Jacob, M.R., and Khan, I.A. (2003). Antimicrobial compounds from *Pimpinella* species growing in Turkey. *Planta Medica*, 69(10), 933-938.
- Tabanca, N., Nalbantsoy, A., Bernier, U.R., Agramonte, N.M., Ali, A., Li, A.Y., Yalcin, H.T., Gucel, S., and Demirci, B. (2016). Essential oil composition of *Pimpinella cypria* and its insecticidal, cytotoxic, and antimicrobial activity. *Natural Product Communications*, 11(10), 1934578X1601101027.
- Tameye, S.C.P., Mbeunkeu, A.B.D., Fouokeng, Y., Tameye, N.S.J., Tabekoueng, G.B., Wansi, J.D., Sewald, N., Ndom, J.C., and Azebaze, A.G.B. (2021). Ficusanolide A and ficanolide B, two new cinnamic acid derivative stereoisomers and other constituents of the stem barks of *Ficus exasperata* Vahl.(Moraceae). *Phytochemistry Letters*, 43, 150-153.
- Tanker, N., Koyuncu, M., and Coşkun, M. (1998). Farmasötik Botanik. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitapları*, 78, 311-313.
- Tantry, M.A., Khan, R., Akbar, S., Shawl, A.S., and Siddiqui, M.K. (2010). Further constituents from *Rhododendron lepidotum* L. *Chinese Chemical Letters*, 21(3), 332-336.

- Targan, Ş., Yelboğa, E.G., and Cittan, M. (2018). Macro and trace element contents of some wild plants consumed as vegetable in Manisa District, Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 5(2), 751-762.
- Tawfeeq, T.A., Jasim, G.A., and Nasser, A.A. (2020). Isolation of umbelliferone from leaves of *Conocarpus erectus* L. cultivated in Iraq. *Al Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(4), 82-92.
- Temel, M.K. (2015). Sitotoksik kemoterapötiklerin yirminci yüzyıldaki gelişimi. *Turkish Journal of Oncology/Türk Onkoloji Dergisi*, 30(1).
- Tepe, A.S., and Tepe, B. (2015). Traditional use, biological activity potential and toxicity of *Pimpinella* species. *Industrial Crops and Products*, 69, 153-166.
- Tiwary, B.K., Bihani, S., Kumar, A., Chakraborty, R., and Ghosh, R. (2015). The in vitro cytotoxic activity of ethno-pharmacological important plants of Darjeeling district of West Bengal against different human cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 1-10.
- Tuzlacı, E., and Erol, M. (1999). Turkish folk medicinal plants. Part II: Eğirdir (Isparta). *Fitoterapia*, 70(6), 593-610.
- Ušjak, L.J., Petrović, S.D., Drobac, M.M., Soković, M.D., Stanojković, T.P., Ćirić, A.D., Grozdanić, N.Đ., and Niketić, M.S. (2016). Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of *Heracleum verticillatum* Pančić and *H. ternatum* Velen. (Apiaceae) essential oils. *Chemistry & Biodiversity*, 13(4), 466-476.
- Umereweneza, D., Atilaw, Y., Rudenko, A., Güttlin, Y., Bourgard, C., Gupta, A.K., and Gogoll, A. (2021). Antibacterial and cytotoxic prenylated dihydrochalcones from *Eriosema montanum*. *Fitoterapia*, 149, 104809.
- Uttu, A.J., Sallau, M.S., Iyun, O.R.A., and Ibrahim, H. (2022). Coumarin and fatty alcohol from root bark of *strychnos innocua* (delile): isolation, characterization and *in silico* molecular docking studies. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 174.
- Valiakos, E., Marselos, M., Sakellaridis, N., Constantinidis, T., and Skaltsa, H. (2015). Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the “Antidotes” in Nikolaos Myrepsos’ *Dynameron*. *Journal of Ethnopharmacology*, 163, 68-82.
- Van Tonder, A., Joubert, A.M., and Cromarty, A.D. (2015). Limitations of the 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Research Notes*, 8(1), 1-10.
- Vandebroek, I., Calewaert, J.-B., Sanca, S., Semo, L., Van Damme, P., Van Puyvelde, L., and De Kimpe, N. (2004). Use of medicinal plants and pharmaceuticals by indigenous communities in the Bolivian Andes and Amazon. *Bulletin of the World Health Organization*, 82, 243-250.

- Vasconcelos, J.F., Teixeira, M.M., Barbosa-Filho, J.M., Agra, M.F., Nunes, X.P., Giulietti, A.M., Ribeiro-dos-Santos, R., and Soares, M.B. (2009). Effects of umbelliferone in a murine model of allergic airway inflammation. *European Journal of Pharmacology*, 609(1-3), 126-131.
- Venè, R., Benelli, R., Minghelli, S., Astigiano, S., Tosetti, F., and Ferrari, N. (2012). Xanthohumol impairs human prostate cancer cell growth and invasion and diminishes the incidence and progression of advanced tumors in TRAMP mice. *Molecular Medicine*, 18(9), 1292-1302.
- Venturelli, S., Burkard, M., Biendl, M., Lauer, U.M., Frank, J., and Busch, C. (2016). Prenylated chalcones and flavonoids for the prevention and treatment of cancer. *Nutrition*, 32(11-12), 1171-1178.
- Wagh, A., Butle, S., and Raut, D. (2021). Isolation, identification, and cytotoxicity evaluation of phytochemicals from chloroform extract of *Spathodea campanulata*. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 1-8.
- Wang, J., Wang, H., Zhang, M., Li, X., Zhao, Y., Chen, G., Si, J., and Jiang, L. (2020). Sesquiterpene coumarins from *Ferula sinkiangensis* KM Shen and their cytotoxic activities. *Phytochemistry*, 180, 112531.
- Wang, Y., Liang, H., Zhang, Q., Cheng, W., and Yi, S. (2014). Phytochemical and chemotaxonomic study on *Ficus tsiangii* Merr. ex Corner. *Biochemical Systematics And Ecology*, 57, 210-215.
- Weinberg, R., and Hanahan, D. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70.
- Wilzer, K.A., Fronczek, F.R., Urbatsch, L.E., and Fischer, N.H. (1989). Coumarins from *Aster praealtus*. *Phytochemistry*, 28(6), 1729-1735.
- Xin, L.-T., Liu, L., Shao, C.-L., Yu, R.-L., Chen, F.-L., Yue, S.-J., Wang, M., Guo, Z.-L., Fan, Y.-C., and Guan, H.-S. (2017). Discovery of DNA topoisomerase I inhibitors with low-cytotoxicity based on virtual screening from natural products. *Marine Drugs*, 15(7), 217.
- Yang, Y.-F., Zhang, L., and Yang, X.-W. (2018). Distribution assessments of coumarins from *Angelicae pubescentis* radix in rat cerebrospinal fluid and brain by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry analysis. *Molecules*, 23(1), 225.
- Yazdan, S.K., Sagar, D.V., and Shaik, A.B. (2015). Chemical and biological potentials of chalcones a review. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 1(1), 20-28.
- Yousof Ali, M., Jung, H.A., and Choi, J.S. (2015). Anti-diabetic and anti-Alzheimer's disease activities of *Angelica decursiva*. *Archives of Pharmacal Research*, 38(12), 2216-2227.
- Yu, S.M., Hu, D.H., and Zhang, J.J. (2015). Umbelliferone exhibits anticancer activity via the induction of apoptosis and cell cycle arrest in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. *Molecular Medicine Reports*, 12(3), 3869-3873.

- Zaki, M.A., Balachandran, P., Khan, S., Wang, M., Mohammed, R., Hetta, M.H., Pasco, D.S., and Muhammad, I. (2013). Cytotoxicity and modulation of cancer-related signaling by (Z)-and (E)-3, 4, 3', 5'-tetramethoxystilbene isolated from *Eugenia rigida*. *Journal of Natural Products*, 76(4), 679-684.
- Zdero, C., Bohlmann, F., and Niemeyer, H. (1990). Diterpenes and umbelliferone derivatives from *Haplopappus deserticola*. *Phytochemistry*, 29(1), 326-329.
- Zengin, G., Sinan, K.I., Ak, G., Mahomoodally, M.F., Paksoy, M.Y., Picot-Allain, C., Glamocilja, J., Sokovic, M., Jekő, J., and Cziáky, Z. (2020). Chemical profile, antioxidant, antimicrobial, enzyme inhibitory, and cytotoxicity of seven Apiaceae species from Turkey: A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 153, 112572.
- Zhang, B.-B., Yuan, D., and Zhi-Xin, L. (2011). Chemical constituents of *Saussurea eopygmaea*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 9(1), 33-37.
- Zhang, P., and Yang, X.-W. (2008). Studies on chemical constituents in roots and rhizomes of *Notopterygium incisum*. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 33(24), 2918-2921.
- Zhao, D., Islam, M., Ahn, B.R., Jung, H.A., Kim, B.-W., and Choi, J.S. (2012). *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of *Angelica decursiva*. *Archives of Pharmacal Research*, 35(1), 179-192.
- Zidorn, C., Jöhrer, K., Ganzera, M., Schubert, B., Sigmund, E.M., Mader, J., Greil, R., Ellmerer, E.P., and Stuppner, H. (2005). Polyacetylenes from the Apiaceae vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2518-2523.
- Zishan, M., Saidurrahman, S., Anayatullah, A., Azeemuddin, A., Ahmad, Z., and Hussain, M.W. (2017). Natural products used as anti-cancer agents. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 7(3), 11-18.
- Zucco, F., Angelis, I.D., and Stamatii, A. (1998). Cellular models for *in vitro* toxicity testing. In *Animal cell culture techniques*. Springer, pp. 395-422.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Soyadı, adı : TABAN AKÇA, Kevser

Uyruğu : T.C.

Eğitim:

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Devam ediyor
Lisans	İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014
Lise	Afyonkarahisar Milli Piyango Anadolu Lisesi	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Araştırma Görevlisi
2014-2015	Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce (YDS puanı: 75; YÖKDİL: 86,25)

Yayınlar

Taban Akça, K., Gürbüz, P., Doğan, Ş.D., Emerce, E., Gören, A.C., Polat, R., Süntar, İ. (2022). Two new eudesmane-type sesquiterpene derivatives from *Lecokia cretica* (Lam.) DC. *Natural Product Research*. 1-9.

- Taban Akça K., Emerce E., Gök H. N., Tugay O., Gürbüz P., Süntar İ. (2022). Cytotoxic activity of *Pimpinella isaurica* and *in silico* analysis of flavonoids. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 32(4), 657-662.
- Taban Akça K., Demirel M.A., Süntar İ. (2022). The role of aromatase enzyme in hormone related diseases and plant-based aromatase inhibitors as therapeutic regimens. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 22(3), 229-246.
- Çevik C.K., Taban Akça K., Süntar İ. (2022). Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.): insight into its phytochemistry and bioactivity. *Journal of Research in Pharmacy*. 22(6), 1493-1512.
- Eruygur N., Taban Akça K., Üstün O., Tekin M. (2022). *In vitro* antioxidant and enzyme inhibition activity of *Tanacetum argyrophyllum* (K. Koch) Tzvelev var. *argyrophyllum* extract. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 19, 377-382.
- Taban Akça K., Eruygur N. (2021). Alkaloid kaynağı olarak iki banotu: *Hyoscyamus niger* L. & *Hyoscyamus reticulatus* L. *Biological Diversity and Conservation*. 14(3), 493-496.
- Taban Akça K., Süntar İ. (2020). An overview on flavonoids as potential antiviral strategies against coronavirus infections. *Gazi Medical Journal*. 31, 478-484.
- Taban Akça K., Eruygur N., Üstün O. (2018). Biological activity studies on the aqueous methanol extract of *Anchusa undulata* L. subsp. *hybrida* (Ten.) Coutinho. *Journal of Research in Pharmacy*. 22(3), 357-364.

Bildiriler (Uluslararası)

- Taban Akça K., Emerce E., Süntar İ. Approaches to cytotoxic activity studies on plant-based products against cancer. 3. International Cancer Day (3rd ICD), Sivas, Türkiye, 15-17 Eylül 2022 (Özet Bildiri, sözlü sunum).
- Taban Akça K., Süntar İ., Emerce E., Gürbüz P., Tugay O. Pharmacognostic research on the cytotoxic effects of some Apiaceae plants growing in Türkiye. 6th International Symposium on Phytochemicals in Medicine and Food (6th ISPMF), Hangzhou, Çin, 05 Ağustos 2022 (Özet bildiri, sözlü sunum).
- Taban Akça K., Demirel M.A., Çeribaşı A.O., Zengin G., Süntar İ. The beneficial effect of essential oil of *Artemisia absinthium* L. on pseudopregnancy model in rats. 3th Annual Conference on Natural Products, Liverpool, İngiltere, 02 Mart 2022 (Özet bildiri, sözlü sunum).
- Taban Akça K., Süntar İ., Emerce E., Tugay O., Gürbüz P. Cytotoxic activity investigation of *Opopanax hispidus* (Friv.) Griseb. 4th International Conference on Natural Products for Cancer Prevention and Therapy, Kayseri, Türkiye, 18 Aralık 2021 (Özet bildiri, sözlü sunum).

- Taban Akça K., Demirel M.A., Süntar İ. An overview on the effects of natural compounds on acute lung injury in animal models. 4th East Mediterranean Congress of Laboratory Animal Science, İstanbul, Türkiye, 09 Aralık 2021 (Özet bildiri, poster sunum).
- Taban Akça K., Süntar İ., Emerce E., Gök H.N. , Polat R., Gürbüz P. Cytotoxic activity and phytochemical analysis of *Lecokia cretica* (Lam.) Dc. 3rd International Gazi Pharma Symposium Series, Ankara, Türkiye, 8 - 10 Eylül 2021 (Özet bildiri, sözlü sunum).
- Taban Akça K., Demirel M.A., Süntar İ. Flavonoids as potential aromatase inhibitors. 5th International Symposium on Phytochemicals in Medicine and Food, Nanchang, Çin, 25 Ağustos 2021 (Özet bildiri, sözlü sunum).
- Taban Akça K., Süntar İ., Emerce E., Gök H. N. , Tugay O., Gürbüz P. Cytotoxic activity and phytochemical profile of *Pimpinella isaurica* Matthews ssp. *isaurica*. 13th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 22 - 25 Haziran 2021 (Özet bildiri, sözlü sunum).
- Taban Akça K., Süntar İ. Flavonoids as potential natural compounds against COVID-19. 2nd Annual Conference on Natural Products, Liverpool, İngiltere, 13 Mayıs 2021 (Özet bildiri, sözlü sunum).
- Taban K., Eruygur N., Üstün O. *In vitro* antioxidant and enzyme inhibition activity of *Tanacetum argyrophyllum* (C. KOCH) Tvetzel var. *argyrophyllum*. International Symposium on Medicinal, Aromatic and Dye Plants, Malatya, Türkiye, 5 - 07 Ekim 2017 (Özet bildiri, poster sunum).
- Eruygur N., Taban K. Spectrophotometric determination of total alkaloids in different parts of two *Hyoscyamus* species growing in Sivas, Turkey. International Symposium on Medicinal, Aromatic and Dye Plants, Malatya, Türkiye, 5 - 07 Ekim 2017 (Özet bildiri, sözlü sunum).
- Taban Akça K., Eruygur N., Üstün O. Biological activity studies on the aqueous methanol extract of *Anchusa undulata* L. (Ten) Continho. 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS), Ankara, Türkiye, 11 - 13 Kasım 2017 (Özet bildiri, poster sunum).

Bildiriler (Ulusal)

- Taban Akça K., Abacı N., Çevik Ö., Özbek M.U., Erdoğan Orhan İ., Üstün O., Süntar İ. Türkiye’de yetişen bazı *Echium* L. türleri üzerinde *in vitro* biyolojik aktivite çalışmaları. XXIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Ankara, Türkiye, 23 Haziran 2022 (Özet bildiri, poster sunum).
- Taban K., Demirci B., Üstün O. *Papaver somniferum* L. tohum sabit yağlarının analizi. XXII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Trabzon, Türkiye, 31 Ağustos - 05 Eylül 2016 (Özet bildiri, poster sunum).

Kitap Bölümleri (Uluslararası)

Çetinkaya S., Taban Akça K., Süntar İ. (2022). Bioactive Natural Products/Chapter 3- Flavonoids and anticancer activity: Structure–activity relationship. Studies in Natural Products Chemistry, Elsevier, ss. 81-115.

Projeler

Süntar İ. (Yürütücü), Taban Akça K., Demirel M. A., Bosdancı G., Çeribaşı A. O., Gök H.N. *Pinus brutia* Ten. yaprak ve kozalak ekstraktlarının sıçanlarda LPS-nedenli Akut Akciğer Hasarına karşı koruyucu etkilerinin değerlendirilmesi. TÜBİTAK 1002 projesi, 2021-2022.

Süntar İ. (Yürütücü), Taban Akça K., Emerce E., Gürbüz P. Türkiye’de Yetişen Bazı Apiaceae Bitkilerinin Sitotoksik Etkileri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje, 2020-Devam ediyor.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...

