

EYLÜL2018

Yüksek Lisans-Biyoloji

GİZEM BAĞLAMA

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIDERITIS PERFOLIATA'NIN HELA HÜCRELERİ
ÜZERİNE HÜCRESEL ANTİOKSİDAN VE
ANTİPROLİFERASYON AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM BAĞLAMA

EYLÜL 2018

***Sideritis perfoliata*'nın HeLa Hücreleri  zerine Hücresel
Antioksidan ve Antiproliferasyon Aktivitelerinin
Belirlenmesi**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanlar

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa PEHL VAN

Dr. Öğr. Üyesi  nder YUMRUTAŞ

Gizem BAĞLAMA

Eylül 2018



©2018[Gizem BAĞLAMA]

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Gizem BAĞLAMA

ABSTRACT

Determination of Cellular Antioxidant and Antiproliferation Activities of *Sideritis perfoliata* Extracts on HeLa Cells

BAĞLAMA, Gizem

Ms.C. in Biology

Supervisors: Assist. Prof. Dr. Mustafa PEHLİVAN

Assist. Prof. Dr. Önder YUMRUTAŞ

September 2018

44 pages

In this study, we aimed to determine anticancer and antioxidant activities of methanol extract of *Sideritis perfoliata* (SPM). For this aim, doses in different concentration of SPM were applied to determine the cell viability of HeLa cells by MTT method. After administration of SPM, apoptosis was determined by Annexine V and propidium iodide staining. Cytokines IL6 and IL8 levels were determined in supernatants which taken from tubes. Antioxidant activity of SPM was observed with DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) and DNA nicking test systems. Some of phytochemicals of SPM were determined by LC-MS-MS. SPM inhibited proliferation and induced apoptosis in HeLa cells. Although IL6 and IL8 levels were increased in doses 25, 50, 100 µg/ml, they were reduced in dose 200 µg/ml of SPM. SPM showed the DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) scavenging activity in a dose dependent manner. DNA protection activity was observed in all of the doses. Quercetin, acetohydroxycinnamic acid, vanillic acid, resveratrol, caffeic acid, acetohydroxycinnamic acid, alizarin and salicylic acid were determined in SPM. As a result, it can be said that SPM has an anticancer activity on HeLa cervical cancer cells through induction of apoptosis, and is a source of natural antioxidants.

Key Words: *Sideritis perfoliata*, antioxidant, apoptosis, antiproliferative effect

ÖZET

***Sideritis perfoliata*'nın HeLa Hücreleri Üzerine Hücresel Antioksidan ve Antiproliferasyon Aktivitelerinin Belirlenmesi**

BAĞLAMA, Gizem

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji

Tez Danışmanları: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa PEHLİVAN

Dr. Öğr. Üyesi Önder YUMRUTAŞ

Eylül 2018

44 Sayfa

Bu çalışmada, *Sideritis perfoliata* metanol ekstraktının (SPM) 'nın antikanser ve antioksidan aktivitesini belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, MTT (3- [4,5-dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl- tetrazolium bromide) yöntemi ile HeLa hücrelerinin canlılığını belirlemek için farklı konsantrasyonlarda ekstraktı uygulanmıştır. SPM uygulamasından sonra apoptoz, Annexine V ve propidium iodide boyama yöntemi ile belirlendi. Tüplerden alınan süpernatantlarda sitokinler IL6 ve IL8 seviyeleri belirlendi. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ve DNA nicking test sistemleri ile SPM'nin antioksidan aktivitesi gözlemlendi. SPM'nin bazı fitokimyasalları LC-MS/MS cihazı ile belirlenmiştir. SPM, HeLa hücrelerinde proliferasyon ve uyarılmış apoptozu inhibe ettiği gözlemlenmiştir. IL6 ve IL 8 seviyeleri 25,50, 100 ug / ml SPM dozlarında artmış olmasına rağmen, 200 ug / ml dozunda azaltılmıştır. SPM'nin, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) süpürme aktivitesi doza bağlı bir şekilde artış göstermiştir. Ayrıca tüm dozlarda DNA koruma aktivitesi gözlemlenmiştir. SPM'de kuersetin, asetohidroksisinnamik asit, vanilin asit, resveratrol, kafeik asit, asetohidroksisinnamik asit, alizarin ve salisilik asit belirlenmiştir. Sonuç olarak; SPM'nin bir anti-kanser aktivitesi olan HeLa servikal kanser hücrelerine apoptozu teşvik ettiği ve doğal bir antioksidan kaynağı olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *Sideritis perfoliata*, antioksidan, apoptoz, antiproliferatif etki



Kızım Yağmur Cemre Bağlama'ya...

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi aşamasında bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan ve değerli bilgilerini benimle paylaşan, her ihtiyaç duyduğumda çekinmeden iletişime geçebildiğim, samimiyetini ve zamanını benden esirgemeyen, kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mustafa PEHLİVAN'a teşekkürü bir borç bilir sonsuz saygımı sunarım. Yine çalışmamda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Önder YUMRUTAŞ'a ve laboratuvar çalışmalarımızda bize laboratuvarını açarak yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Muhittin DOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı destekleyen Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri yönetim birimine (BAP) teşekkür ederim.

Son olarak çalışmamda desteğini benden esirgemeyen kardeşim Sinem ÇÖÇELLİ'ye, eşim Emre BAĞLAMA'ya, babam Tacim ÇÖÇELLİ'ye ve değerli aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	xii
ÖZET.....	xiii
TEŞEKKÜR.....	xiv
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.....	12
LİTERATÜR ÖZETLERİ	12
BÖLÜM 3.....	17
MATERYAL VE METOD.....	17
3.1 Materyal.....	17
3.1.1 Bitkilerde Analiz Edilen Fitokimyasal ve Biyoaktivite Parametreleri ve Yöntemleri	17
3.1.1.1 Bitki Örneklerinin Alınması.....	17
3.1.1.2 Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi	17
3.2 Bitki Örneklerinin Fitokimyasal Analizleri.....	18
3.2.1 Bitkinin Kurutulması	18
3.2.2 Metanol Özütlelerinin Eldesi.....	18
3.3 Antikanser Testleri	18

3.3.1 Anti-proliferasyon Aktivitenin Belirlenmesi	18
3.3.2 Apoptozun Belirlenmesi	19
3.3.3 İmmünostümülantların Belirlenmesi	19
3.4 Antioksidan Testleri	19
3.4.1 DPPH Serbest Anyon Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	19
3.4.2 Hücresel Antioksidan Aktivite (HAA) Deneyi.....	19
3.5 LC-MS Analizi	20
BÖLÜM 4.....	21
BULGULAR VE TARTIŞMA.....	21
4.1 DPPH Serbest Radikal Yakalama Aktivitesinin Belirlenmesi	21
4.2 Hücresel Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	22
4.3 Antiproliferatif Aktivite.....	24
4.4 Apoptozun Belirlenmesi	25
4.5 Hidroksil Radikaline Karşı pBR322 DNA Koruma Aktivitesinin Belirlenmesi.....	27
4.6 IL6 ve IL-8 Seviyelerinin Belirlenmesi.....	28
4.7 Fitokimyasal İçeriklerinin Belirlenmesi.....	28
KAYNAKLAR.....	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 4.1 Sideritis perfoliata ekstraktların farklı dozlarının DPPH etkisi.....	21
Şekil 4.2 Hücresel antioksidan aktivite temelli mekanizmanın şematik gösterimi	23
Şekil 4.3 Ekstrakt uygulaması sonrasında HeLa hücrelerinde intraselüler radikal içerikleri.....	24
Şekil 4.4 Sideritis perfoliata MeOH ekstraktının antiproliferatif etkileri.....	25
Şekil 4.5 Ekstrakt uygulaması sonucunda HeLa hücrelerinde apoptozun belirlenmesi	26
Şekil 4.6 Hidroksil radikale karşı DNA koruma aktiviteleri. Rosmarinik asit.....	27
Şekil 4.7 Ekstrakt uygulaması sonrasında HeLa hücre süpernatantlarında IL-6 ve IL-8 seviyeleri.....	29

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1 LC-MS/MS tarama sonuçları.....	29
---	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrad derece
G	Gram
N	Normal
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mg	Miligram
Ros	Rosmarinik asit
SPM	<i>Sideritis perfoliata</i> Metanol özütü
Ug	Mikrogram
FCS	Fetal sığır serumu
MTT bromide	3- [4,5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl- tetrazolium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
PBS	Fosfat tamponlu salin
HAA	Hücresel antioksidan aktivite
ABTS	2,2-Azino-bis3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ABAB	2 , 2 '-Azobis (2 - metilpropionamidin) dihidroklorür
DCFH-DA	Diklorofloresin-diasetat
TBA	Titobarbitürik asit

GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
FACS	Flow stometri
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
GSH/GSSG	Azaltılmış glutatyon / oksitlenmiş glutatyon
ROO	Peroksil radikali
HPLC-DAD	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-diode array dedector
GC	Guanin-Sitozin
TA	Timin-Adenin
DNA	Deoksiribo nükleik asit
TBHQ	Tersiyer bütıl hidrokinon
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
CA	Sitrik asit
BHA	Bütillendirilmiş hidroksianisol

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Bitkilerle tedavi, insanlık tarihi kadeski bir iyileştirme yöntemidir. Hatta hastalık etmenlerinin insanlardan çok önce de dünyada var olduğı kabul edilmektedir ki; bu durum insanların hastalıklarla mücadelesinin insanlık tarihi ile birlikte başladığı anlamını taşımaktadır. Milât öncesi devirlerden kalan tapınak ve mezarlarda bulunan resimler ile kil tabletler insanların bitkilerden faydalanmaya o dönemlerde başladığını kanıtlamaktadır. Ancak milat öncesi devirlere ait kesin kayıt ve belgeler mevcut olmadığından bitkilerden faydalanma yöntemleriyle ilgili bilgilere ulaşamamaktadır. Bu bilgiler yaşamlarına kırsal alanlarda teknolojiden ve diğer toplumlardan uzak olarak sürdüren ilkel toplulukların bitkileri kullanım biçimlerinin incelenmesi ile elde edilmeye çalışılmaktadır. Bu incelemeler arkeo-botanik veya paleo-botanik araştırmaları ile arkeolojik bulguların sentezlenmesi yoluyla netleştirilerek tahminler yapılmaktadır(Genç, 2010; Şahin-Yiğit, 2014).

Tüm bu tahminler insanların bitkileri kullanmaya içgüdüleriyle davranan hayvanları gözlemleyerek başladığı yönündedir. Hastalıklar ve sağlıklı kalma durumu hakkında bilimsel herhangi bir bilgiye sahip olmayan insanlar hangi hastalıkta hangi bitkileri kullanacaklarına deneme yanılma yoluyla karar vermişlerdir. Bu şekilde bitkilerin potansiyel yarar ve zararlarını belirlerken önce az bir miktar denemiş daha sonra ise kullanılıp kullanılamayacağını anlamak için bitki miktarını artırılarak denemeleri tekrarlamışlardır. Bu süreçte pek çok insan zarar görmüş olsa da bitkilerin şifa amacı ile kullanımları öğrenilmiştir. Bu bilgiye sahip olan kişilere “şifacı” denilmiş ve şifacıların edindikleri bilgiler daha sonraki nesillerdeki şifacılar aktararak günümüze kadar ulaşmıştır (Genç, 2010; Kendir ve Güvenç, 2010).

Bitkilerin kullanımı gözlemler ve denemelerle yani bilimsel yöntemlerin gelişmesi ile daha akılcı bir faydalanmaya dönüşmüştür (Karamanoğlu, 1977; Arıhan, 2003). Antik dönemlerde bitkilerin doğrudan kullanımı söz konusu iken 19. yüzyılda kimya bilimindeki gelişmelerle bitkilerin çeşitli etken maddelerinin içerdiği anlaşılmış ve

bu etken maddeler ve etkilerini belirleme üzerine araştırmalar başlamıştır (Ulus, 2011). 20. yuzyıla gelindiğinde ise, bitkilerin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi ve bitkilere ait fitokimyasalların özütlenerek tanımlaması çalışmaları hızlanmıştır (Yumrutaş, 2011).

Dünyada tıbbi ve baharat olarak kullanılan bitkilerin sayısının 20.000 civarında olduğu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından rapor edilmiştir. Bugün doğada yetişen 300'e yakın bitki familyasından yaklaşık 1/3'ü uçucu yağ asidi içermektedir. *Lamiaceae* familyasına ait bitkilerdeki (*Origanum*, *Thymus*, *Ocimum*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Sideritis*, *Salvia*) uçucu yağlar bazı mayalar ve bakterilerin gelişimlerini engeller ve bu özelliklerinden dolayı yiyeceklerin doğal koruyucusu konumundadırlar. Bitkilerden ekstraktlar hazırlanarak ilaç olarak kullanılması, Çin'de M.Ö. 2700 yıllarına kadar uzanmaktadır (Benli ve Yiğit, 2005; enet vd., 2006).

Günümüzde Çin, Hindistan, Japonya ve Pakistan gibi Asya ülkeleri başta olmak üzere dünyada birçok kişi hala gerek hastalık öncesi korunmada gerekse de hastalıkla mücadelede tedaviyi bitkilerde aramaya devam etmektedir (etin vd., 2012). Bitkilere ulaşımın ilaçlara oranla daha kolay ve daha ucuz olması, hatta çoğu zaman doğrudan doğadan toplanarak yani hiçbir ücret ödemeksizin kullanılabilmesi bitkilerin tedavi için tercih edilmesinin önemli nedenleri arasındadır (Araz vd., 2012). Yanı sıra, bitkilerin yan etkilerinin çok az olması yada hiç olmaması, mikropların bitkilerde mevcut olan etken maddelere dayanıklı ırklar oluşturamaması gibi nedenler de sayılabilir (Güldaş, 2009; Kırimer, 2010).

Son yıllarda sentetik ilaçların yan etkilerinin çok olması ve bu etkilerin kolay tolere edilemediğinin anlaşılması tıbbi bitkiler ve etken maddelerine olan ilginin katlanarak artmasına neden olmuştur. Günümüzde bitkisel maddelerin sentetik ilaçların başlangıç maddesi ve modeli olduğu bilinmektedir. Ayrıca bitkisel droglar sentetik ilaçlara oranla kullanıldıktan sonra vücutta daha az birikmekte ve nadiren toksik etki oluşturmaktadır. Tüm bu sayılanlara ek olarak, sentetik ilaçların yan etkilerinin yanında bitkilerden elde edilen drogların çok yönlü etkiye sahip olması da tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve tüketilmesindeki hızlı artışın nedenleri arasındadır (Yaşar, 2005; Güldaş, 2009; İlhan, 2011).

Tedavide kullanılan bitkisel kaynaklı bileşiklerin %75 gibi büyük bir oranda geleneksel halk ilaçlarının araştırılması ile keşfedilmiş olması, bu alanda yapılacak çalışmaları önemli kılmaktadır (Gürsoy ve Gürsoy, 2004, Oral, 2007). Ayrıca bitkisel drogların tedavide etkin şekilde kullanılabilmesi için farmakolojik özelliklerinin, toksik etkilerinin ve klinikteki etkilerinin çok iyi belirlenmesi gerekmektedir (Hacıoğlu, 2005). Bu bağlamda halk tarafından yaygın şekilde kullanılan bitkilerin taşıdıkları etken maddelerin ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması oldukça önemlidir.

Yer küre üzerinde yaklaşık olarak 1.000.000 civarında bitki türünün mevcut olduğu varsayılmaktadır. Bu bitkilerin yaklaşık olarak yarısı isimlendirilmiş ve bilim dünyasına kazandırılmıştır (Baytop, 1999). Küresel bitki çeşitliliği üzerindeki bazı tehlikelerin var olması ve bunun sonucunda bitki çeşitliliğinde giderek bir düşüş yaşanması ile biyolojik ve ekonomik kayıpların da beraberinde geldiği bilinmektedir.

Dünya üzerinde yaklaşık 250 cins ve 3000 tür ile temsil edilen *Lamiaceae* (*Labiatae*=Balıbabagiller) familyası, en yüksek endemizm oranına (%33) sahip familyalardan biri olma özelliğine sahiptir. Bu familya, Türkiye’de 45 cins ve 247’si endemik olmak üzere 558 tür ile temsil edilmektedir (Davis vd., 1988; Güner vd.,2000).

Lamiaceae familyası, tıbbi ve aromatik özelliğe sahip ekonomik açıdan değerli pek çok türü barındıran oldukça geniş bir familyadır. Bu familyaya ait *Sideritis*, *Salvia*, *Thymus*, *Origanum* ve *Mentha* cinsinden birçok bitki türü halk arasında yaygın olarak çay şeklinde tüketilmektedir.

Lamiaceae familyasına ait *Sideritis* cinsi, 150’den fazla tür tarafından temsil edilmektedir. Bu cinse ait türler Bahama Adaları’ndan Batı Çin’e, Almanya’dan Fas’a Kuzey Yarımküre’nin ılıman ve tropikal bölgelerinde yayılış göstermektedirler. Ancak, *Sideritis* türleri özellikle Kanarya Adaları’ndan Kafkasya’ya kadar olan bölgeyi içine alan Akdeniz Havza’sında bulunmaktadır. Tür çeşitliliği bakımından en yoğun ülkeler Türkiye ve İspanya’dır. Türkiye’de ise, Marmara ve Ege Bölgeleri’nde hakim durumdadırlar (Aslan vd., 2006; Loğoğlu vd., 2006; Güvenç vd., 2010).

Sideritis türleri tek yıllık ya da çok yıllık, aromatik özelliğe sahip, otsu ya da kısa çalimsı formda türlerdir. Korolla çoğunlukla sarı, nadiren beyaz ya da kırmızı ve kaliksten daha kısadır. *Sideritis* türleri en iyi olarak güneş alan yerlerde yetişirler ve kuraklığa uyum sağlamışlardır. Bu türlere kayalık yamaçlarda ve otlaklarda, deniz seviyesinden yaklaşık 5-3000 m yükseklerde rastlamak mümkündür. Besince fazla zengin olmayan biraz alkali topraklarda yetişmektedirler ((a)Davis, 1982; (b)Davis vd., 1988).

Sideritis cins ismi, Yunanca kökenli “sideros” (demir) kelimesinden gelmektedir. Antik çağlarda, bu metalden üretilen savaş aletlerinin neden olduğu yaraların iyileştirilmesinde çeşitli *Sideritis* türlerinden yararlanılmasından dolayı bu ismi almıştır. *Sideritis* türlerinin tedavi amacıyla kullanılmalarından bahseden ilk yazılı eser, Dioscorides’in 1. yüzyılda yazdığı “De Materia Medica” adlı kitabıdır (Font Quer, 1999). Font Quer ise “El Dioscórides renovado” adlı kitabında *Sideritis angustifolia*’nın 20. yüzyılın ilk yarısında özellikle veterinerlikte yara iyileştirici olarak çok yaygın olduğunu ve en azından şehir merkezinde bulunan tüm aktarlarda “cua de gat” ismiyle satıldığını belirtmiştir (González-Burgos vd. , 2009). Türkiye ve Yunanistan’da “Dağ çayı” ismi ile yoğun bir kullanımı ve satışı mevcut olan cinsin oldukça geniş bir yayılım göstermesi, yüksek endemizm oranı ve yaygın kullanımı farmakoloji ve etnobotanik çalışmalarına sıkça konu olmasına neden olmuştur. Bu çalışmalar sonucunda cinse ait türlerin antienflamatuar, sindirimi kolaylaştırıcı, antiülser ve antimikrobiyal, antialerjik, antiviral, antifungal, antikanser etkileri olduğu tespit edilmiştir (Erkan vd., 2011, González-Burgos vd., 2011). Ayrıca *Sideritis* türlerinden izole edilen bazı bileşiklerin antiproliferatif, anti-HIV ve antifedant etkiler gösterdiği de kaydedilmiştir (González-Burgos vd., 2011).

Tüm bu biyolojik aktivitelerin *Sideritis* cinsine ait türlerin yüksek oranda sekonder metabolit içeriğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Sekonder metabolitler denildiğinde protein, lipit, nükleik asit ve karbonhidrat gibi temel bileşenler dışındaki tüm bileşikler akla gelmektedir. Öte yandan sekonder bileşiklerin bitkiler tarafından maruz kalınan olumsuz koşullara karşı savunma maksatlı olarak salgılandıkları düşünülmektedir. Ayrıca pek çok biyolojik aktivite gösterdikleri için fonksiyonel bileşikler olarak da adlandırılmaktadırlar (Tepe vd., 2006). *Sideritis* cinsine ait türlerin sekonder metabolitlerden terpenler, flavonoidler, uçucu yağ,

iridoidler, kumarinler, lignanlar ve steroller gibi birçok bileşen içerdiği belirlenmiştir. Diterpenler, flavonoidler ve esansiyel yağ neredeyse her türde bulunmakla birlikte; aslında farmakolojik aktivitenin başlıca sorumlusu da bu bileşenlerdir. Tüm bu bileşenler içerisinde *Sideritis* türlerinde en çok bulunanı diterpenlerdir. *Sideritis* türlerinde dikkat çekecek kadar yapısal değişkenliğe sahip 160'dan fazla diterpen tanımlanmış ve toprak üstü kısımlardan izole edilmiştir. Diterpenler ilk olarak *S. italica*' da tespit edilmiş ve ilk önce sideridiol ve siderol diterpenoidleri izole edilmiştir. Diterpenler bakımından oldukça zengin olan *Sideritis* türleri flavanoidler bakımından da oldukça zengindir. *Lamiaceae* ailesi uçucu yağ içeriği bakımından oldukça zengin iken *Sideritis* türleri uçucu yağ içeriği bakımından diğer *Lamiaceae* üyelerine oranla fakirdir (Baki, 2009; González-Burgos vd., 2011).

Sideritis cinci uçucu yağ ve pek çok sekonder metabolit taşıdığı bilinen familyalardan birisi olan *Lamiaceae* familyasında yer almaktadır. Türkçe'de 'Ballıbabagiller' İngilizce'de 'Mint family' olarak bilinen bu familya çoğunlukla güzel kokulu, otsu (nadiren odunsu), tek ya da çok yıllık bitkilerden oluşan kozmopolit bir familyadır. Türkiye özellikle Akdeniz Havzasında yoğun bir yayılış gösteren *Lamiaceae* familyası için önemli bir gen merkezi konumundadır. Familyanın Türkiye'deki endemizm oranı %44 olup Türkiye'de tür çeşitliliği en zengin üçüncü familyadır. Familyaya ait taksonların çok büyük bir kısmı kokulu yağ salgılayan küçük salgı bezleri taşıdığından ıtırli bitkilerdir ve bu durum taksonların farmakoloji ve kozmetik sanayinde bolca kullanımının yanında etnobotanik açıdan da kullanımını yaygınlaştırmaktadır (Baki, 2009; Yumrutaş, 2011).

Türkiye'de yayılışı bulunan 45 *Lamiaceae* cinsinden birisi olan *Sideritis* cinsine ait türler Yayla çayı, Dağçayı, Balbaşı çayı, Sivri çayı adlarıyla bilinmektedir (Yumrutaş, 2001; Şahin-Yiğit, 2014). Kuzey yarım kürenin ılıman ve tropik bölgelerinde Bahamalar'dan Batı Çin'e, Almanya'dan Fas'a kadar dağılmış 150' den fazla taksonu kapsayan cins Türkiye florasında 46 tür, 12 alt tür ve 2 varyete ile temsil edilmektedir. Türkiye'de endemik olan 36 tür, 10 alt tür ve 2 varyete ile cinsin endemizm oranı %77' dir (Güvenç, 2005; Çarıkçı, 2007; Şimşek, 2013). Türkiye ve İspanya en çok tür çeşitliliği gösteren ülkelerdir. Türkiye'de daha çok Marmara ve Ege bölgeleri olmak üzere Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelerde yayılış göstermektedir (Güvenç, 2005).

Çokya da tek yıllık olabilen otsu ya da çalı formundaki *Sideritis* cinsine ait türlerin yaprakları saplı ya da sapsız, opposit dizilişli, çoğunlukla dar, tam ya da krenat-dentattır. Sarmallar (yalancı çevrel çiçek durumu) 2 ya da çok fazla çiçeklidir. Terminal spikada yer alan sarmallar aralıklı veya sık olabilir. Brakteoller bulunmazken kaliks tüpü 5-10 damarlı, en üstteki diğerlerinden büyük ya da eşit olmak üzere 5 ya da daha fazla dişli, tubullar-kampanulattır. Korolla genellikle sarı, nadiren beyaz ya da kırmızı ve kaliksten kısadır. Nutlet şeklinde olan meyveler ovoid, üç kenarlı, uçları obtus yada yuvarlak, tüysüz ve pürüzsüzdür. Deniz seviyesinden başlayarak 3000 metreye kadar yetişebilen cinse ait bitkiler çoğunlukla besince zengin ve hafif alkalın toprakları tercih eder. Habitat olarak kayalık yamaçlar ya da otlaklarda rastlanabilen cinse ait türler su bakımından oldukça iyi koşullardan kurak koşullara kadar yetişebilmektedir. Optimum gelişimi tam gün güneş alan alanlarda gerçekleştirmektedir (Davis, 1982; Davis vd., 1988).

Halk arasında yüzyıllardır tıbbi ve aromatik özelliklerinden dolayı *Sideritis* türlerinden yararlanılmaktadır. Günümüzde özellikle toprak üstü kısımları halk arasında gastrit, gastrik ülser, mukoz membran inflamasyonu, hipertansiyon, yanıklar ve yaralanmalarda kullanılmaktadır. *Sideritis* türlerinin toprak üstü kısımları anti-inflamatuvar, anti-ülseratif, antimikrobiyal, antioksidan, antikolinesteraz, antispazmodik, analjezik (ağrı kesici) ve karminatif (karın gazı giderici) etkiye sahiptir. Bu amaçla, demleme veya kaynatma şeklinde hazırlanıp hem oral yolla hem de topikal olarak uygulanmaktadır. Ayrıca, *Sideritis* türlerinin sahip olduğu bazı aktif maddelerin antiproliferatif, anti-HIV ya da antifeedant (iştah kesici) özelliklere sahip oldukları tespit edilmiştir (Zarzuelo vd., 1993; Bondi vd., 2000; Bruno vd., 2002; Hernández- Pérez vd., 2004; Tunaher vd., 2004; Dülger vd., 2005; Gürbüz vd., 2005; Özkan vd., 2005; Dülger vd., 2006; Demirtaş vd., 2009; Ertaş vd., 2009; Brankovic vd., 2011; González-Burgos vd., 2011).

Türkiye’de “dağ çayı, yayla çayı, ada çayı” olarak bilinen *Sideritis* türleri, çiçeklenme döneminde (Temmuz-Ağustos) toplanıp çok çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kazdağları endemik türü *Sideritis trojana*, en fazla talep edilen ve tüketilen tıbbi bitkilerden birisidir. Yerli halk tarafından toplanarak pazarlarda satılmaktadır. Bu tür, özellikle boğaz ağrısı, hazımsızlık, göğüs rahatsızlıkları tedavisinde kullanılan ve aranılan bir bitkidir.

(Çelik vd., 2008). Dünya üzerinde sadece Türkiye'nin Kazdağları ile Yunanistan'ın Athoa Dağı'nda yayılış gösteren *Sideritis athoa* bitkisi de, halk arasında başta soğuk algınlığı olmak üzere gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Başer vd., 1986; Polat ve Satıl, 2012).

Sideritis cinsinin karakteristik bir özelliği de türler arasında hibritleşme oranının çok yüksek olmasıdır. Hibridizasyonun bir sonucu olarak, *Sideritis* türlerinin sistematik sınıflandırılmasında güçlük çekilmektedir. Bu nedenle bu cinsin sınıflandırılması, morfolojik özellikleri ile birlikte içerdiği sekonder metabolitlerin analizi göz önünde tutularak yapılmaktadır (González-Burgos vd., 2011).

Sideritis cinsinin önemli bir özelliği de endemizm oranının oldukça yüksek olmasıdır. Türkiye'de yetişen 46 türün 36'sı, 12 alttürün 10'u ve 2 varyete endemiktir (Çarıkçı vd., 2007).

Sideritis cinsinde terpenler, flavonoidler, uçucu yağlar, iridoidler, kumarinler, lignanlar ve steroller gibi pek çok kimyasal bileşen tanımlanmıştır (González-Burgos vd., 2011).

Sideritis türleri ile yapılan fitokimyasal analiz çalışmaları sonucunda diterpenler, uçucu yağlar, flavonoid ve feniletanoid glikozitleri bakımından zengin içeriğe sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu fitokimyasallar, *Sideritis* cinsinin sahip olduğu farmakolojik aktivitelerden sorumlu biyoaktif bileşenler olarak gösterilmektedir (Venturella vd., 1975; González vd., 1978; Fernández vd., 1986; Fraga vd., 1987; Fernández vd., 1988; Ezer vd., 1992; Ezer ve Akcoş, 1995; Başer vd., 1996; Ezer vd., 1996; Topçu vd., 1999, 2002; Şahin vd., 2004; Piozzi vd., 2006; Çarıkçı vd., 2007; Fraga vd., 2009; Kılıç vd., 2009; González-Burgos vd., 2011; Kırmızıbekmez vd., 2012).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar neticesinde, *Sideritis* cinsine ait türlerin içerdikleri metabolitler arasında α -pinen, β -pinen, siderol, sideridiol, sabinen, linearol, foliol ve epicandicandiol bulunduğu belirlenmiştir (Piozzi vd., 1968; Kırmızı vd., 2001; İşcan vd., 2005; Ertaş vd., 2009).

Tıbbi bitkilerin doğal antioksidan kaynaklar olarak kullanımlarını araştıran çalışmaların sayısı da gün geçtikçe artmaktadır. Bitki uçucu yağ ve bileşenlerinin

farmakolojik özellikleri incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının yararlı olabileceği belirtilmektedir. Serbest radikaller pek çok hastalığın ortaya çıkışında oldukça önemli bir etkidir. Bu radikallerin temizlenmesinde canlı organizmalar çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmiş olmakla birlikte; bazı durumlarda bu mekanizmalar yetersiz kalmaktadır. Ülkemizde doğal olarak *S. perfoliata*'nın antikanser ve antioksidan özelliklerinin araştırılması bu açıdan önemlidir.

Aromatik bitkiler açısından oldukça zengin olan *Labiatae* familyasında yer alan *Sideritis* cinsinin Türkiye florasındaki revizyonu, A. Huber-Morath tarafından yapılmıştır. Bu familyanın üyelerinden *Sideritis* cinsi, 46 tür 53 taksondan oluşmaktadır. İçerdiği taksonlardan 39 tanesi endemik olan bu cins, % 78.2'lik endemizm oranı ile Türkiye Florası'nda oldukça dikkat çekici bir özelliğe sahiptir. *Sideritis* türlerinin toprak üstü kısımları çay ve halk ilacı olarak eski yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu türlerin antispazmodik, antifeedant (iştah kesici), karminatif, analjezik, sinir sistemi stimulanı, sedatif, antitussif ve antikonvulzan etkilere sahip olduğu kayıtlıdır. Ayrıca halk arasında genellikle “Dağ çayı, Yayla çayı” olarak isimlendiren bu türlerden hazırlanan çaylar soğuk algınlığı, öksürük ve sindirim sistemi rahatsızlıklarda kullanılmakta ve bal yapıcı özelliklerinden dolayı arılarca da tercih edilmektedir. Bu türler fitokimyasal olarak birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve uçucu yağ, diterpenoid, yağ asidi, kumarin ve flavonoid grubu bileşiklerin varlıkları rapor edilmiştir. *S. phlomisoides*'in Niğde dolaylarında çay olarak kullanıldığı, *S. scardica*'nın ise deoksiasiyon halinde Bulgaristan, Arnavutluk, Makedonya ve Rusya'da kullanıldığı kayıtlıdır (Tunalier, vd.,2002).

Sentetik antioksidanların gıdalardaki kullanımı 1940'lı yıllarda BHA (bütillendirilmiş hidroksianisol)ve gallik asidin esterlerinin oksidasyonu önlediklerinin anlaşılmasıyla başlamıştır. Demir ve bakır gibi transisyon metallerinin zararlı etkileri CA (sitrik asit) , EDTA (etilendiamintetraasetikasit) veya onların türevlerine metal deaktivatör veya kelat ajanı olarak etki ettikleri ondan sonra bulunmuştur. 1954'te ABD'de BHT (bütillendirilmiş hidroksitoluen)'nin gıdalarda kullanılmasına müsaade edilmiştir. TBHQ (tersiyer bütıl hidrokinon) 1972'de ticari ölçüde kullanılmaya başlamıştır. Sentetik antioksidanların muhtemel karsinogenik etkileri büyüyen bir tepkiye neden olmaktadır. Böylece Japonya ve çok sayıdaki diğer ülke BHA (bütillendirilmiş

hidroksianisol)'nın gıdalarda kullanılmasına izin vermemektedir. TBHQ (tersiyer bütıl hidrokinon)'nun da Kanada, Japonya ve Avrupa ülkelerinde kullanımına izin verilmemektedir. Bu yüzden sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanımı için genel bir istek mevcuttur. Fenolik maddeler doğal antioksidantların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir, en yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Bu maddelerin, besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir. Bu nedenle uzun yıllardır besinlerin koku ve tat gibi özelliklerini arttırmak için katkı olarak kullanılan baharat ve aromatik bitkiler giderek önem kazanmaktadır (Payan, 2007).

Canlılarda normal metabolik faaliyetler sırasında radyasyon, stres, çevresel ve dış faktörlerin etkisiyle serbest radikaller oluşmaktadır. Bu serbest radikaller birer oksijen türevleri olarak bilinirler. Bunlar kısa ömürlü ve kararsız olmalarından dolayı karbonhidrat, lipit, protein ve nükleik asitlerle kolaylıkla reaksiyona girebilir ve bunun sonucunda yaşlanma, kanserler, immün hastalıklar ve karaciğer rahatsızlıkları gibi birçok hastalığın sebebi olabilirler (Halliwell vd.,1990; Serteserve Gök vd., 2003). Bunun dışında; insan vücudunda oluşan serbest radikaller birçok enzimatik veya enzimatik olmayan savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Antioksidan maddeler ise, bu serbest radikalleri ortadan kaldırıcı olarak bilinmektedir. Ayrıca insan vücudunda bu serbest radikallerden korunmak için doğal bitkilerin içerdikleri flavonoidler, antioksidan maddeler ve fenolik bileşenler olduğu belirtilmiştir (Kahkönen vd., 1999).

Genel olarak bitki fenolikleri doğal antioksidan kaynaklarını oluşturmaktadır (Atoui vd., 2005; Huang vd., 2005; Mathew ve Abraham, 2006; Skerget vd., 2005). Fenolik bileşenlerin antioksidan aktiviteleri moleküllerin içinde yer alan hidroksil grubu ile ilişkilidir (Raven vd., 1999; Ziakova ve Brandsteterova, 2003).

Oksidatif ve serbest radikaller somatik hücrelerde DNA mutasyonunu gerçekleştirerek (başlangıç aşaması), tümörjenik hücrelerin yayılmasını hızlandırarak (gelişme aşaması) ve malin tümörleri kansere çevirerek (ilerleme aşaması) tüm aşamalarda kanser oluşumunu ve gelişimini tetiklerler(Halliwell ve Gutteridge,1999). Reaktif oksijen türlerinin kanserin başlangıcında, gelişmesinde ve metastazında

birçok etkisinin olduğu, kanser tedavisi ve kanserin önlenmesinde antioksidant kullanımının etkisini araştıran klinik çalışmalarda belirtilmektedir. Hücre çoğalması ve ölümü arasındaki dengeyi sağlamak için ROS(rosmarinik asit) seviyesinin düzenlenmesi gerekir. Aşırı antioksidan tüketimi de dengeyi bozup istenmeyen etkilerin meydana gelmesine neden olabilir. Bazı kemoterapi ilaçları ve radyoterapi; yüksek seviyede ROS (rosmarinik asit) üreterek kanser hücrelerini öldürür, bundan dolayı antioksidant kullanımı bazı kanser tedavilerini engelleyebilir. Bununla birlikte bazı sonuçlar antioksidant kullanımının kemoterapide yan etkileri engellediğini ve uzun süreli tedaviyi gerektirdiğini göstermiştir. Karsinogenezin ilk basamağı, DNA'nın dönüşümsüz hasarı ile başlar. DNA'nın oksidatif hasarı kimyasal veya yapısal olabilir. Hidroksil radikali DNA molekülünün tüm komponentlerine, deoksiriboz omurgasına, pürin ve pürimidin bazlarına saldırır. Hidroksi radikallerinin deoksiriboz ile kimyasal reaksiyonu sonucu pürin ve pürimidin bazları açığa çıkar. Bu DNA baz ürünleri DNA'da mutajenik bölge meydana getirirler. En yaygın oksidatif DNA bazı 8- hidroksideoksiguanozindir. Normal insan hücrelerinde yaklaşık olarak 105 guanidin kalıntısından bir tanesi 8-hidroksideoksiguanozine dönüşür. 8- hidroksideoksiguanozin-deoksiadenozin hatalı çiftleşmesi sonucu olarak GC (guanin-sitozin) baz çifti, TA (timin-adenin) baz çiftine dönüşür. Yüksek konsantrasyonlarda intraseellüler Ca^{2+} , proteinkinaz C ve S6-kinaz gibi diğer protein kinazları aktive eder. Hem protein kinaz hem de S6 kinaz çeşitli fosforilasyon olaylarında transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu düzenlerler ve bunun sonucunda hücre çoğalmasını etkilerler. Karsinogenezin son basamağında kontrolsüz büyüme, bağışıklık denetiminden kurtulma, doku istilası ve metastazi gibi malignnat özellikler gelişir(Valko vd. 2006).

Hücre hasarı hızı, reaktif oksijen radikallerinin üretim hızı, bunların ortamdan atılma hızı ve hasar tamir hızına bağlıdır. Oksidatif hasar hızı arttıkça da yaşam süresi azalır. Mitokondride antioksidant korunmanın artması yaşlanma işlemlerini geciktirir. Mitokondrial DNA mutasyonunun önlenmesi hücrenin solunum kapasitesini korur ve yaşlanmanın gecikmesi için avantaj oluşturur. Ayrıca serbest radikal tepkimelerinin yaşa bağlı olarak kardiyovasküler ve sinir sisteminde önemli bozulmalara neden olduğu kabul edilir. O halde radikal oluşturucu ve oksidatif hasar yapıcı etken ve maddelerin ortamdan uzaklaştırılması ile vücutta radikaller ve bunların sebep olduğu hasarlar azaltılarak, yaşam süresi artırılabilir. Dolayısıyla,

özellikle doğal antioksidan kaynakları olan tıbbi ve aromatik bitkilerin bu anlamda değerlendirilmesi ve biyoaktif özelliklerinin ortaya konması son derece önemlidir. Bu amaçla yapılması düşünülen bu çalışmada da *Sideritis perfoliata* türünün antioksidan ve antikanser etkisinin ortaya konması amaçlanarak bitkinin fitokimyasal, antioksidan özellikleri ile antiproliferatif etkisi ortaya konmaya çalışılacaktır.



BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETLERİ

Dinçer vd. (2017), *Sideritis lycia* ve *Sideritis libanotica* subsp. *linearis* taksonlarının yabani formları ve kültür formlarını fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri bakımından karşılaştırdıkları çalışmada yabani formların flavanoid içeriklerinin kültür formlarından daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Fenolik içerik bakımından ana bileşenlerin p-kumarik asit, kafeik ve ferulik asit olduğunu bildirmişlerdir. Flavaoidlerde ise, ana bileşenlerin quersetin, morin ve apigenin olduğunu tespit etmişlerdir.

Faiella vd. (2014), *Sideritis pullulan*'ın diterpen ve fenolik içeriklerini belirledikleri çalışmada fenolik bileşikler, flavanol glikozitleri, iridoidler, diterpenler, seskiterpenler, ligninler, kumarinler ve fenilpropanoidlerden oluşan 12 bileşiği izole etmiş, tanımlamış ve tüm diterpenlerin sitotoksik aktivitelerini araştırmışlardır. Sitotoksik etki çalışmalarını HeLa ve PC-3 kanser hücre hatlarına karşı inceledikleri çalışmada izole edilen tüm bileşiklerin IC50 değerinin 100 µM' nin üzerinde olduğunu bulmuşlardır.

Todorova ve Trendafilova (2014), bir Balkan endemiği olan *Sideritis scardica* Griseb.'in geleneksel kullanımı, kimyasal kompozisyonu, biyolojik aktivitesi ve kültüre alınmasını ele aldıkları derleme çalışmada taksonun yabani formu ile kültür formunu karşılaştırmışlardır. Taksona dair literatürde yer alan fitokimyasal içeriği, uçucu yağ bileşenleri ve biyolojik aktivitelerini tartışmışlardır. Avrupa' da oldukça yaygın bir kullanımı olan taksonun literatürde kayıtlı özelliklerinin bir kısmının çalışılmış olduğunu belirttikleri bu çalışmada taksonun kullanımına dayalı olası yan etkilerin tespiti için daha fazla çalışma yapılması gerekliliğini bildirmişlerdir.

Demirtaş vd. (2011), *Sideritis libanotica* subsp. *linearis* metanol ekstraktının *in vitro* olarak antiproliferatif etkisini Afrika yeşil maymun böbrek hücreleri (Vero), insan servikal karsinoma (HeLa) ve sıçan beyin tümör hücreleri (C6) üzerinde çalışarak ekstraktın hücre hatlarına karşı sitotoksik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Erkan vd. (2011), HPLC-DAD (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-diode array dedector) yöntemi ile *Sideritis congesta* Davis et Huber-Morath ve *Sideritis arguta* Boiss et Heldr.'in farklı solvent ekstaktlarının içerdikleri serbest flavonoidler ve sinamik asit türevlerini tanımlamışlardır. Bitki ekstraktlarının ve izole edilen bileşiklerin DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ve ABTS+ (2,2-Azino-bis3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) yöntemleri ile antioksidan aktivitelerini de belirledikleri çalışmada *S. arguta* ekstarktının antioksidan içeriğinin zenginliği dolayısı ile daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada bitki ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri ile antioksidan aktivite arasında doğrudan bir korelasyon tespit edememişlerdir.

González-Burgos vd. (2011), yaptıkları derleme çalışmasında *Sideritis* cinsine ait türlerin botanik özellikleri, kullanımı, farmasotik özellikleri ve fitokimyasal içeriğini araştırmışlardır. Cinse ait türlerin çay ve aroma verici olarak kullanımının yanı sıra geleneksel tıpta da antienflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, gaz giderici, ülserle karşı, ağrı kesici, karminatif, yara ilacı ve antikonvülsan olarak kullanıldığını belirtmişlerdir. Ayrıca cinse ait türlerin terpenler, flavonoidler, uçucu yağ, iridoidler, kumarinler, ligninler ve sterollerle içerdiği bildirmişlerdir. Cinsin sahip olduğu farmasotik etkilerin hemen her türde bulunan diterpenler, flavanoidler ve uçucu yağ olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Odabaşı Köse vd. (2010), Türkiye endemiği olan *Sideritis erythrantha* var. *erythrantha* (SE) ve *Sideritis erythrantha* var. *cedretorum* (SC) uçucu yağlarının kimyasal bileşimlerini, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmeye çalışmışlardır. Hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettikleri uçucu yağların GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektrometresi) analizi sonucunda her iki taksonunda uçucu yağlarının ana bileşenini α -pinen olarak tespit etmişlerdir. Her iki taksonun uçucu yağları da metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomisin dirençli *Enterococcus faecalis* (VRE) ve amfisilin dirençli *Haemophilus influenzae* karşı etkili olduğunu belirlemişlerdir. Her iki taksonun uçucu yağlarının antioksidan aktivitesi; DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yöntemi ile belirlenmeye çalışılmış ve düşük antioksidan aktivite gösterdikleri tespit etmişlerdir.

Charami vd. (2008), *Sideritis perfoliata* subsp. *perfoliata*'nın kloroform, metanol ve petrol eteri ekstraksiyonlarını kullandıkları çalışmada 4 flavonozit, 4 fenilpropanoit

glikoziti, kafeik asit ve bir iridoid olan ajugozit izole etmişlerdir. Antioksidan aktivite için DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal süpürücü etki ile Titobarbitürik asit (TBA) lipid peroksidasyon testlerini uygulayarak bütün ekstraktların ve izole edilen bileşiklerin belirgin antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Kırimer vd. (2008), *Sideritis perfoliata* ve *S. trojana* uçucu yağlarının antimikrobiyal özelliklerini inceledikleri çalışmada *S. perfoliata* uçucu yağının *Candida albicans* dışındaki mikroorganizmalar üzerinde *S. trojana* uçucu yağına kıyasla daha düşük bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Loizzo vd. (2007), yaptıkları çalışmada *S. perfoliata* uçucu yağı ile 1,8-sineol, limonen, linalool, trans-karyofillen ve α -humulen bileşiklerinin sitotoksik etkisini incelemişlerdir. Sitotoksik aktivite testlerini melanotik melanom (C32), renal adenokarsinoma (ACHN), hormon-bağımlı prostat adenokarsinom (LNCaP) ve MCF-7 meme kanseri hücre hatları ile sulforhodamin B (SRB) test metodu ile belirlemeye çalışmışlardır. Melanotik melanoma ve renal adenokarsinoma hücre hatlarında en yüksek sitotoksik etkiyi linalool ve trans-karyofillen' in gösterdiğini, *S. perfoliata* uçucu yağının ise C32 ve ACHN hücre hatlarına yüksek derecede etki ettiğini, tespit etmişlerdir. Dolayısıyla *S. perfoliata* uçucu yağının insan tümör hücresi büyümesini inhibe edebileceğini bildirmişlerdir.

Güvenç vd. (2005), yaptıkları çalışmada Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren *Sideritis* türlerinin antioksidan aktivitelerini tespit etmişlerdir. 17 taksonla yürüttükleri çalışmada su ekstarktlarının antioksidan aktivitesini DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)yöntemi ile belirlerken, lizozomlardaki antioksidan aktiviteyi de Titobarbitürik asit (TBA) metodu ile tespit etmişlerdir. Tüm taksonlar yüksek derecede antioksidan aktivite gösterdiğini belirledikleri çalışmada, en yüksek antioksidan aktiviteyi *S. brevibracteata*, *S. condensata* ve *S. serratifolia*ekstrelerinin gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kılıç (2002), *Sideritis lycia* ve *S. leptocla*'da hekzan ve aseton aktraktlarından bilinen 13 kauren tipi diterpen bileşiği izole ederek bu bileşiklerden 7-epikandikandiol, sidol, siderol, sideridiol, linearol ve *S. lycia* metanol ekstraktının kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesini inlemiştir. Hücre hattı olarak A2780 (insan

ovaryum kanseri), LU1 (insan akciğer kanseri), COL-2 (insan kolon kanseri), KB (insan epidermo kanseri), LNCap (insan prostat kanseri) ve P-388 (fare lösemisi) hücre hatlarını kullandığı çalışmada 7- epikandikandiol'ün kolon kanser hücre hattına orta derece aktivite gösterdiği diğer kanser hücre hatlarından üçüne ise zayıf etki gösterdiğini tespit etmiştir.

Tunalier vd. (2002), yaptıkları çalışmada Türkiye' de yayılış gösteren 10 *Sideritis* türünün antioksidan aktiviteleri ile fenolik içeriklerini incelemişlerdir. Fenolik içerikleri HPLC ile belirledikleri çalışmada *S. scardica*, *S. ciliciaca* ve *S. germanicopolitana* subsp. *germanicopolitana* taksonlarının diğer taksonlara oranla daha zengin fenolik içeriğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Antioksidan aktiviteyi belirlemek için Ransimat metodu, lipit peroksidasyon yöntemi ve DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) metodunu kullandıkları çalışmada toplam fenolik içerik bakımından zengin olan 3 taksonun serbest radikal süpürücü bakımından ilk 3 sırada yer aldığını belirlemişlerdir. Bu 4 takson dışında kalan taksonların sentetik bir antioksidan olan BHT' ye yakın etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bondi vd.(2000), Türkiye' de yayılış gösteren *Sideritis akmanii*Z. Aytaç, M. Ekici ve A. Dönmez, *S. niveotomentosa* Huber-Morath, *S. brevidens* P. H. Davis, *S. rubriyora* Huber-Morath, *S. gulendamii* H. Duman et F.A. Karaveliogullari türlerinin içerdikleri diterpen çeşitlerini ve bu diterpenlerin antifeedant etkilerini inceledikleri çalışmada *Sideritis* türlerini diterpenler ve flavanoidler açısından oldukça zengin olduğunu bildirmişlerdir. Çalışılan taksonların aseton ekstarktlarını kolon kromatografisi ve radial kromatografi ile analiz ederek konvensiyonel yöntemlerle tanımlanmış olan 8 diterpen izole etmişlerdir. Bu diterpenlerin iskelet yapılarını karşılaştırdıkları çalışmada *S. perfoliata*' nın diğerlerinden farklı manoylokside iskelet yapısında bir diterpen içerdiğini belirtmişlerdir. Coğrafi dağılım diterpen çeşitliliğini etkilediğini belirtmişlerdir. Çalışılan 5 türden izole edilen diterpenlerin antifeedant aktivite bakımından fark gösterdiğini tespit etmişler ve bu diterpenlerden sideroxol' ün *Spodoptera frugiperda* karşısında önemli derecede etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yeşilada vd. (1989), Antalya ve civarından topladıkları *Sideritis congesta*, *S. arguta*, *S. pisidica*, *S. argyrea*, *S. libanotica* subsp. *linearis* ve *S. perfolita* taksonlarının etanol özütlerinin antienflamatuar etkilerini tespit etmeyi hedefledikleri çalışmada

karagen nedenli fare arka pençe ödemi testi yöntemini kullanmışlardır. *S. congesta* dışındaki tüm taksonların ekstraktlarının ödem oluşumuna önemli derecede etki ettiğini tespit etmişlerdir.

Sungur (2014), canlı bakteri hücrelerinin HeLa hücre hattı üzerine antiproliferatif etkisinin incelendiği çalışmada, Antiproliferatif etki HeLa hücrelerinin ölümü esas alınarak tespit edilmiş olup, denenen 10 farklı canlı bakteri hücrelerinin ikisi hariç hepsinin kanser hücrelerini öldürerek antiproliferatif etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar farklı bakteri suşlarına göre farklılık göstermektedir. Bu sonuçlara göre *L. gasseri* H15 suşunun, canlı hücreden oluşan pelletinin % 77 hücre ölümü gösterdiği tespit edilmiştir.



BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Çalışmanın ana materyalini *Sideritis perfoliata* türü oluşturmaktadır. Bu nedenle öncelikle mevcut kayıtlar ışığında tür tespit edildikçe ilgili habitatlardan çiçeklenme dönemlerinde bitki örnekleri alınarak laboratuvar ortamına getirilerek çalışmalara başlanmıştır. Tür 2017 yılı haziran ayında Gaziantep ili İslahiye ilçesi Köklü köyü çevresinden toplanmıştır. Toplanan bitki örnekleri, teşhis edilerek Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünün ve Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim dalının ilgili laboratuvarında deney çalışması yapılmıştır.

3.1.1 Bitkilerde Analiz Edilen Fitokimyasal ve Biyoaktivite Parametreleri ve Yöntemleri

3.1.1.1 Bitki Örneklerinin Alınması

Bitki örnekleri türün tespit edildiği habitatlardan alınmış olup, mümkün mertebe biyotik veya abiyotik herhangi bir zarar görmemiş örneklerden seçilmiştir. Fitokimyasal, antioksidan ve antiproliferasyon analizlerinde kullanılacak örnekler soğuk ortamda muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir. Bu örnekler önce çeşme suyu ardından distile su ile yıkanmıştır. Taze olarak kullanılacak kısımlar için analiz aşamasına geçilmiştir. Analiz aşamasına geçmeden önce bu örnekler havanda öğütülmüştür. Biyoaktif madde analizleri için ise bitki kurutma kâğıdı üzerinde, açık havada ve güneş ışınlarından uzak bir ortamda kurutulmuştur.

3.1.1.2 Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

Bitki örneklerinin toplam fenolik bileşiklerin belirlenmesi Ratkevicius vd. (2003)'ne göre yapılmıştır. Homojenize edilecek örnekler 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Sonra süpernatanttan 50 µl alınarak son hacim 1 ml olacak şekilde %

3'lük sodyum karbonat ve 0,3 N Folin-Ciocalteau eklenerek oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra bu örnekler spektrofotometrede 765 nm'de okunmuştur. Standart olarak gallik asit kullanılmıştır.

3.2 Bitki Örneklerinin Fitokimyasal Analizleri

3.2.1 Bitkinin Kurutulması

Kullanılacak bitkinin özütleme işlemlerine geçilmeden önce çamurlu kısımlarını uzaklaştırmak için distile sudan geçirilmiştir. Daha sonra bitki, kurutma kâğıdı üzerinde, açık havada ve güneş ışınlarından uzak bir ortamda kurutulmuştur. Bitkilerin toprak üstü kısımları (özellikle yaprak ve çiçek) bir parçalayıcı yardımı ile iyice toz haline getirilmiştir.

Bu aşamadan sonra, proje kapsamında, toz haline getirilen bitkisel materyalden her birinden 40 g alınarak selüloz Soxhlet kartuşlarına doldurulmuştur.

3.2.2 Metanol Özütlerinin Eldesi

Metanol ekstraksiyonu için toz haline getirilen bitki örnekleri selüloz bitki kartuşlarına yerleştirilerek 6 saat süresince ve 50°C'de metanol ile özütleme yapılmıştır. Elde edilen özütten metanol evaporatör (50°C'de) cihazında ve basınç altında uzaklaştırılmıştır. Son olarak özüt +4°C'de kullanılacak testler için beklemeye alınmıştır.

3.3 Antikanser Testleri

3.3.1 Anti-proliferasyon Aktivitenin Belirlenmesi

Prostat kanser hücre kültürleri 12 kuyucuklu platelerde %70-80 oranında konfluansa hazır hale geldiklerinde SF ortamında 24 saat tutulduktan sonra bitki ekstraktı ve fenolik asitlerin farklı dilüsyonları ile 24 ve 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Pozitif kontrol olarak %10 FCS(fetal sıgır serumu) içinde bekletilen hücreler kullanılmıştır. Hücrelerin canlılığı MTT (3- [4,5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl- tetrazolium bromide) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Kültür vasatı 1 mg/ml MTT(3- [4,5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl- tetrazolium bromide, Sigma) içeren SF vasatı ile değiştirilerek 37°C' de 15 dk süre ile inkübe edilmiştir. Daha sonra MTT(3- [4,5-

dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl- tetrazolium bromide) solüsyonu dökülecek ve hücrelerin üzerine dimetil sulfoksit (DMSO, Sigma) konmuştur. Renkteki değişim kolorometrik bir okuyucu ile (spektrofotometre) 550 nm’de okunmuştur.

3.3.2 Apoptozun Belirlenmesi

Kanser hücresinde apoptozun belirlenmesi için 75cm²’lik flasklara 5000 hücre/ml olacak şekilde ekim yapılmıştır. Belirlenen dozların hücreler üzerine 24 saat uygulaması sonrasında hücreler Annexine V ve propidium idodür içeren kit kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre deney gerçekleştirilmiştir.

3.3.3 İmmünostimulantların Belirlenmesi

Kanser hücrelerine ekstrakt uygulaması sonucunda 24 saat inkübasyon sonrasında hücrelerin yetiştikleri ortamlar alınmıştır. Daha sonra immünostimulant İnterlökin 6 (IL6) ve İnterlökin 8 (IL8) seviyeleri uygun eliza kitleri ile üretici firmanın protokülüne göre belirlenmiştir.

3.4 Antioksidan Testleri

3.4.1 DPPH Serbest Anyon Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi

Fenolik asit ve ekstraktların DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest anyon radikal temizleme aktiviteleri Gaulejac vd. (1998)’nin uyguladığı metoda göre belirlenmiştir. Standart solüsyonların 0,1 ml’si alınarak ayrı bir test tüpüne konulmuş ve üzerine 2,9 ml 6 × 10⁻⁵. Daha sonra hazırlanan solüsyon 60 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometrede 517 nm’ de okunmuştur. Deneyler üç tekrarlı ölçüm yapılmıştır.

3.4.2 Hücresel Antioksidan Aktivite (HAA) Deneyi

HeLa Hücreleri, tam bir büyüme ortamında 37° C de % 5 CO₂ içeren nemlendirilmiş inkübatörde yetiştirilmiştir. Fenolik asit ve ekstraktlar HeLa kanser hücreleri ile ortak kültüre alınmıştır. Daha sonrasında, bu deney Xu ve Chang (2010)’in metoduna göre ölçülmüştür. Bunun için 100 mikrolitre besi yeri bulunan kanser hücreleri 96 kuyucuk ortamına ekilmiştir. 24 saat inkübasyondan sonra PBS(fosfat tamponlu salin) ile yıkanmıştır. Daha sonra üzerine DCFH-DA(diklorofloresin-diasetat)

eklenmiştir. Bu aşamadan sonra belirlenen ekstrakt dozları kuyucuklara aktarılmıştır. Daha sonra PBS(fosfat tamponlu salin) ile yıkanmış ve üzerine ABAB (2,2'-Azobis (2 - metilpropionamidin) dihidroklorür) solüsyonu eklenmiştir. Emisyon 538 eksitasyon 485 nm' de 60 dk süresince floresan-lüminisans mikropate okuyucuda ölçülmüştür.

3.5 LC-MS Analizi

Kullanılan cihaz: Çift MS cihazına bağlanmış Nexera Shimadzu UHPLC.

Ekipmanları: LC-20AD İki adet pompa, DGU-20A3R degaser, CTO-10ASVP kolon fırını, SIL-20AC autosampler.

Kolon Bilgileri: C-18 Intersil ODS-4 (3.0mm x 100mm, 2µm) analitik kolon

Kolon sıcaklığı: 40°C

Mobil faz: A(Su, %0,1 Formik asit), B(Metanol, %0,1 Formik asit)

Gradient pragramı: Akış 0.3ml/dk ve enjeksiyon hacmi 2µL

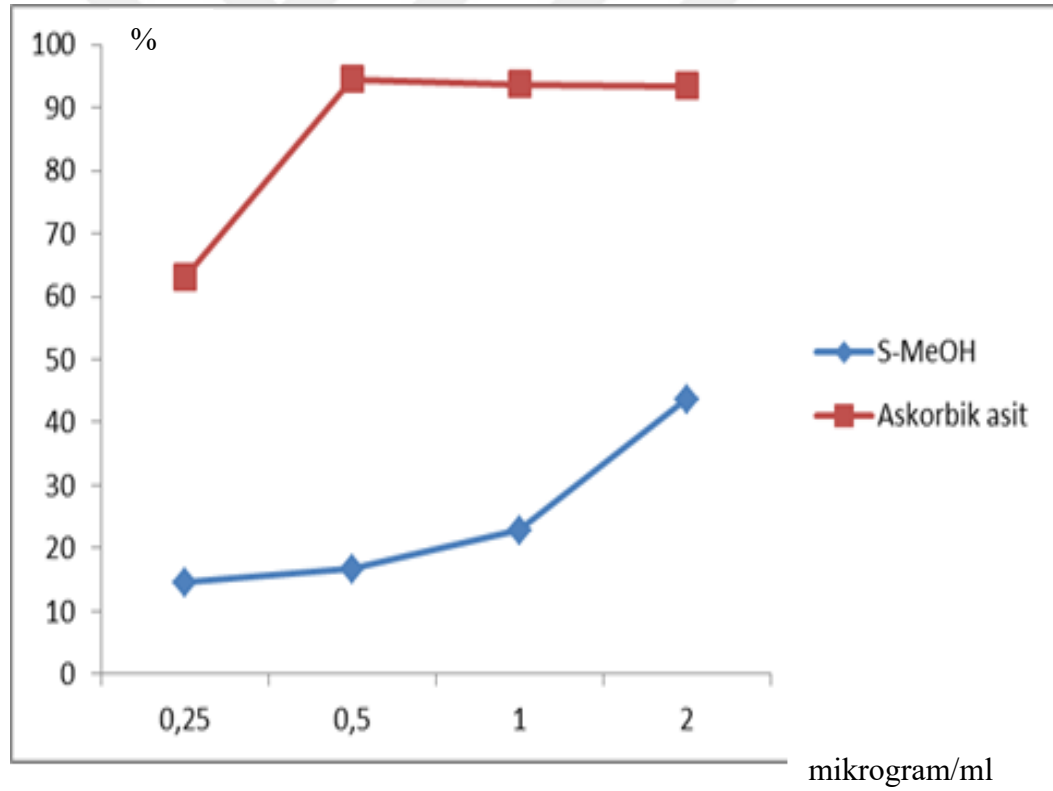
t(zaman)	Mobil Faz A	Mobil Faz B
0	95	5
4	5	95
7	5	95
7,01	95	5

BÖLÜM 4

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 DPPH Serbest Radikal Yakalama Aktivitesinin Belirlenmesi

Sideritis perfoliata ekstraktının doza bağlı artışına paralel olarak DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yakalama aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Ekstraktın 2 mg/ml dozunda % 43,6 oranında radikalın temizlendiği belirlenmiştir. Deneyde pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanılmış olup, ekstraktın kontrole göre zayıf antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



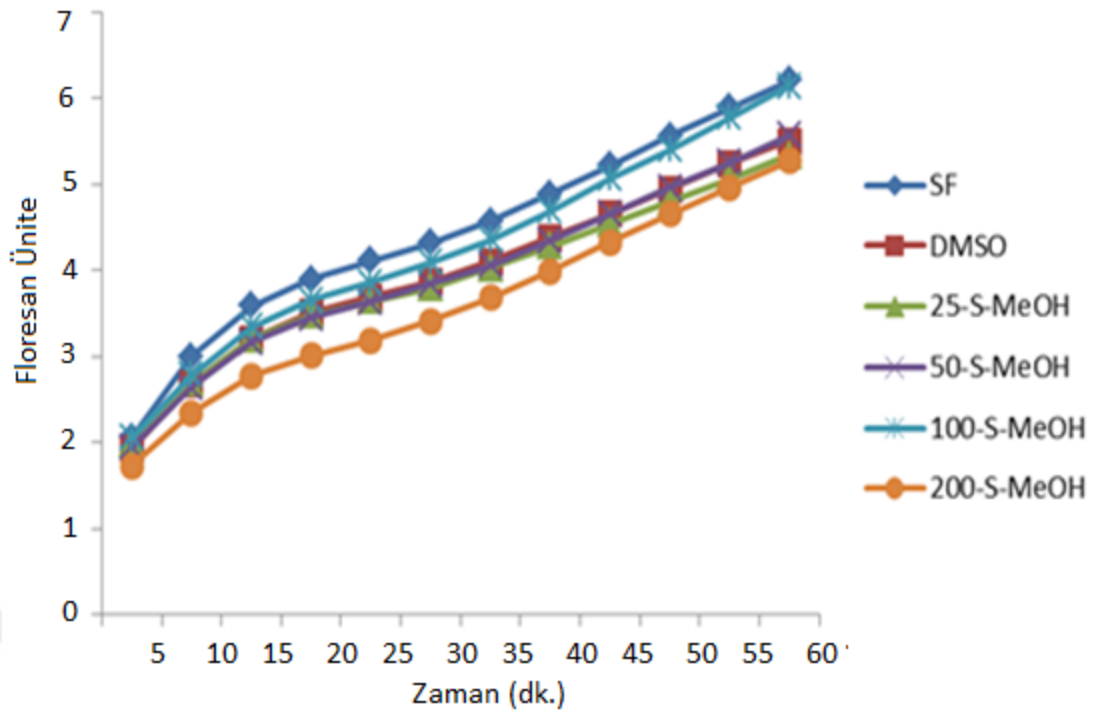
Şekil 4.1 *Sideritis perfoliata* ekstraktların farklı dozlarının DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) etkisi

Erkan vd. (2011) *Sideritis congesta* ve *Sideritis arguta* türleri hakkında yaptıkları çalışmada bu türlerin metanol, etanol ve etilasetat ekstraktının DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) aktivitesi belirlenmiştir. *Sideritis congesta* nın üç farklı ekstraktı

içerinde en yüksek antioksidan aktiviteyi metanol ekstraktının, *Sideritis arguta* da ise etil asetat ekstraktının yüksek DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada Zengin vd. (2014) yaptıkları çalışmada *Sideritis galatica*'dan farklı solvent özütlerinin (petrol eteri, etil asetat, metanol ve su) antioksidan ve enzim inhibitör potansiyeli değerlendirmiştir. Araştırmacıların çalışmasına göre; Metanol ve su ekstraktları daha yüksek fenolik içerik, ve fakat DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2-Azino-bis3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) süpürme aktivitesi ve güç aktivitelerini azaltırken, petrol eteri ve etil asetat ekstraktı enzimler üzerinde en yüksek inhibisyon kabiliyetine sahiptir.

4.2 Hücresel Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Reaktif oksijen türleri, protein oksidasyonunu, lipid peroksidasyonunu ve DNA hasarını teşvik ederek doğrudan hücresel hasara neden olabilir. Bu radikallerin fizyoloji ve metabolik olarak pek çok hastalığa neden olabilirler. Elde edilen kanıtlar, insan vücudunda bulunan başlıca ROS (rosmarinik asit) 'un hidrojen peroksidinin, Alzheimer hastalığı dahil olmak üzere çeşitli tiplerde demansta oksidatif stresin hücre ölümüne neden olduğu moleküler mekanizmalarda rol oynadığını göstermiştir (Tabner vd., 2005). Hidrojen peroksit sitotoksitesi Fenol tipi tepkimeye kadar en zararlı serbest radikali hidroksil radikallerine dönüştürür (Jellinger, 2009). Hidrojen peroksit kolayca hücre membranları boyunca yayılır, birçok substrat-hedefe ulaşır ve hücresel hasarını uzatır (Halliwell vd., 2000). Demanstan muzdarip olan hastalara ait postmortem insan beyin dokuları üzerinde yapılan patolojik çalışmalar, bu ROS (rosmarinik asit) 'un patolojik rolünü nöronal yaralanmanın bir sonucu ya da keskin bir sonucu olarak destekleyen aşırı H_2O_2 miktarı olduğunu saptamıştır (Tabner vd., 2001, 2002). Antioksidan özelliklere sahip fitokimyasal bileşikler, H_2O_2 aracılı oksidatif stresi azaltmak için umut verici bir koruyucu veya tedavi edici strateji olarak düşünülmektedir (Speciale vd., 2011). Sentetik kimyasallar ile yapılan *in vitro* antioksidan testler ile bir molekülün antioksidan potansiyelini değerlendirilmesi sınırlı kalmaktadır. Bunun için hücresel düzeyde geliştirilen antioksidan modeller hem hızlı hem de daha güçlü değerlendirmeye olanak sağlamaktadır. Hücresel antioksidan aktivite testi Wolfe vd. (2008) tarafından geliştirilen metot ile değerlendirilmektedir. Antioksidan bir molekül ya da ekstrakt DFCH2 oksidasyonunu engellemekte veböylece floresan seviyesinde ya doğrudan ROO (peroksil radikali) ile ya da dolaylı olarak ROS (rosmarinik asit) ile reaksiyona



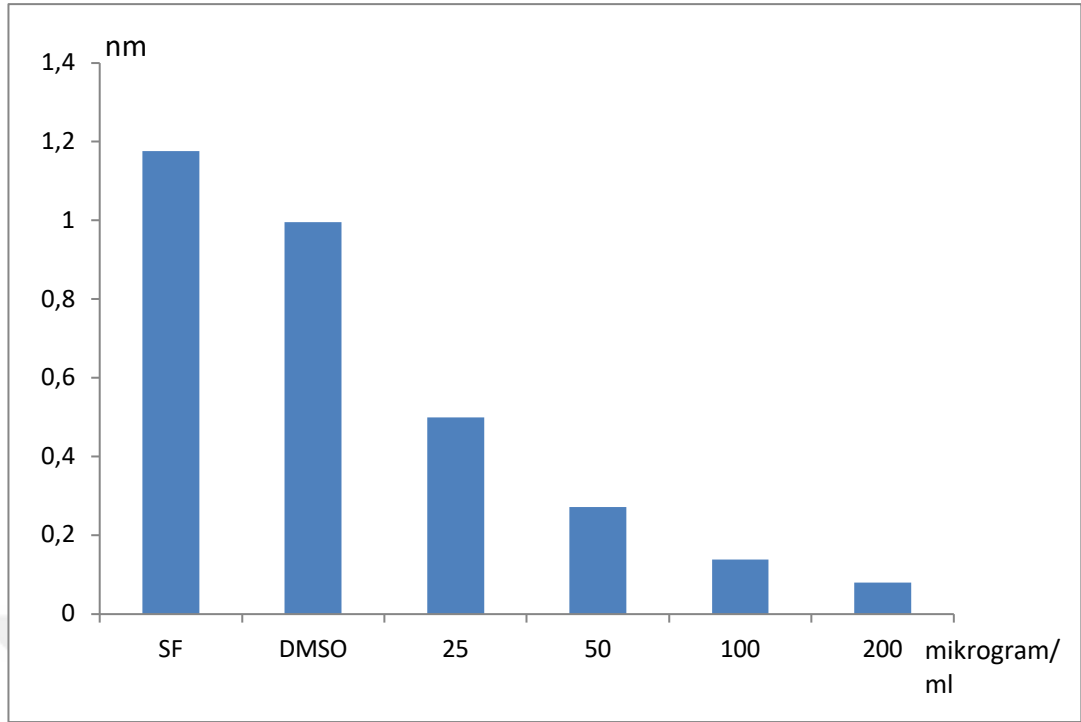
Şekil 4.3 Ekstrakt uygulaması sonrasında HeLa hücrelerinde intraselüler radikal içerikleri

4.3 Antiproliferatif Aktivite

Şekil 4.4 de *Sideritis perfoliata* MeOH ekstraktının antiproliferatif etkileri görülmektedir. Şekil incelendiğinde doz artışına paralel olarak HeLa hücrelerinin proliferasyonunun engellediği belirlenmiştir.

Demirtaş vd. (2009) yaptıkları çalışmaya göre; *Sideritis libanotica* ssp. *linearis*, üç insan hücre hattında, Vero hücrelerine (Afrika yeşil maymunu böbreği), C6 hücrelerine (sıçan beyin tümörü hücreleri) ve HeLa hücrelerine (insan uterus karsinoması) karşı önemli bir antiproliferatif aktivite göstermiştir. Metanolik ekstrelerin, bu hücre dizilerinin proliferasyonunu doza bağlı bir şekilde (25 ug / mL ila 250 ug / mL) inhibe ettiği gözlenmiştir.

Sideritis floridana rizomlarından elde edilen ve ramnoz, glukuronik asit, galakturonik asit, glukoz, galaktoz ve arabinozdan oluşan bir polisakkarit fraksiyonu, bir zaman ve konsantrasyonda insan kolon kanseri HT29 hücre hattının çoğalmasını ve büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir (Ma vd., 2013).

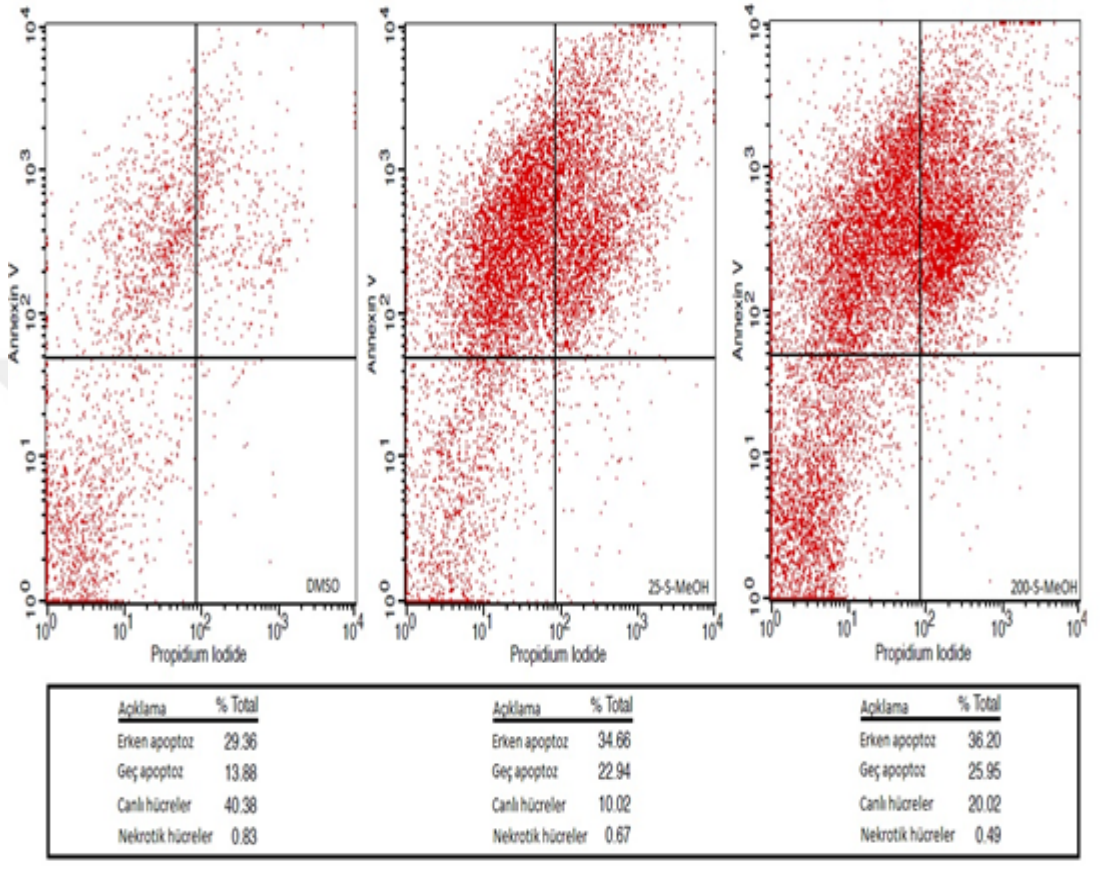


Şekil 4.4 *Sideritis perfoliata* MeOH ekstraktının antiproliferatif etkileri

4.4 Apoptozun Belirlenmesi

Apoptosis yada programlı hücre ölümü genetik olarak kodlanmış bir hücre ölüm programıdır (Vermees vd., 2000). Apoptosis hücre kromatininin parçalanması, hücre iskeletinin parçalanmasından dolayı hücre hacminin kaybı ve hücre membranının kabarcık şeklinde yapılar göstermesi ile ilişkilidir (Kerr vd., 1994). Bir kanser hücresinin devre dışı bırakılması için en önemli yollarından birisi apoptozun aktif hale getirilmesidir (Johnstone vd., 2002). Çalışmamızda MTT (3- [4,5-dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl- tetrazolium bromide) testinde hücre canlılığının azalmasını referans alarak bu azalmada apoptozun aktif hale gelip gelmediği test edilmiştir. Bu bağlamda, *Sideritis perfoliata* ekstraktının en düşük uygulama dozu (25 µg/ml) ve en yüksek uygulama dozu (200 µg/ml) HeLa hücrelerine verilerek FACS (flow stometri) hücre sayım cihazında apoptoz açısından değerlendirilmiştir. Bu teste prensip olarak apoptotik hücrelerin zarında fosfotidil serin birikir. Floresan boylarla hücrelerin boyanma işlemi yapıldıktan sonra FACS(flow sitometri) hücre sayım cihazında hücrelerin erken apoptotik, geç apoptotik veya nekrotik olarak hangi ölüm yolağına girdiği belirlenir. Çalışmamızda 24 saat süresince ekstraktlar ile uygulama sonrasında hücrelerin DMSO(dimetil sülfoksit) kontrol hücrelerinde erken apoptotik hücreler % 29.36 iken 25 ve 200 µg/ml doz uygulanan gruplarda erken apoptotik

faza giren hücre oranları sırasıyla % 34.66 ve %36.20 olduğu belirlenmiştir. Geç apoptoz açısından incelendiğinde ekstrakt uygulama gruplarında kontrole göre önemli bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.5). Sonuç olarak hücrelerin ekstrakt uygulaması sonrası apoptotik yolağı tercih ederek canlılığını kaybettiği belirlenmiştir.

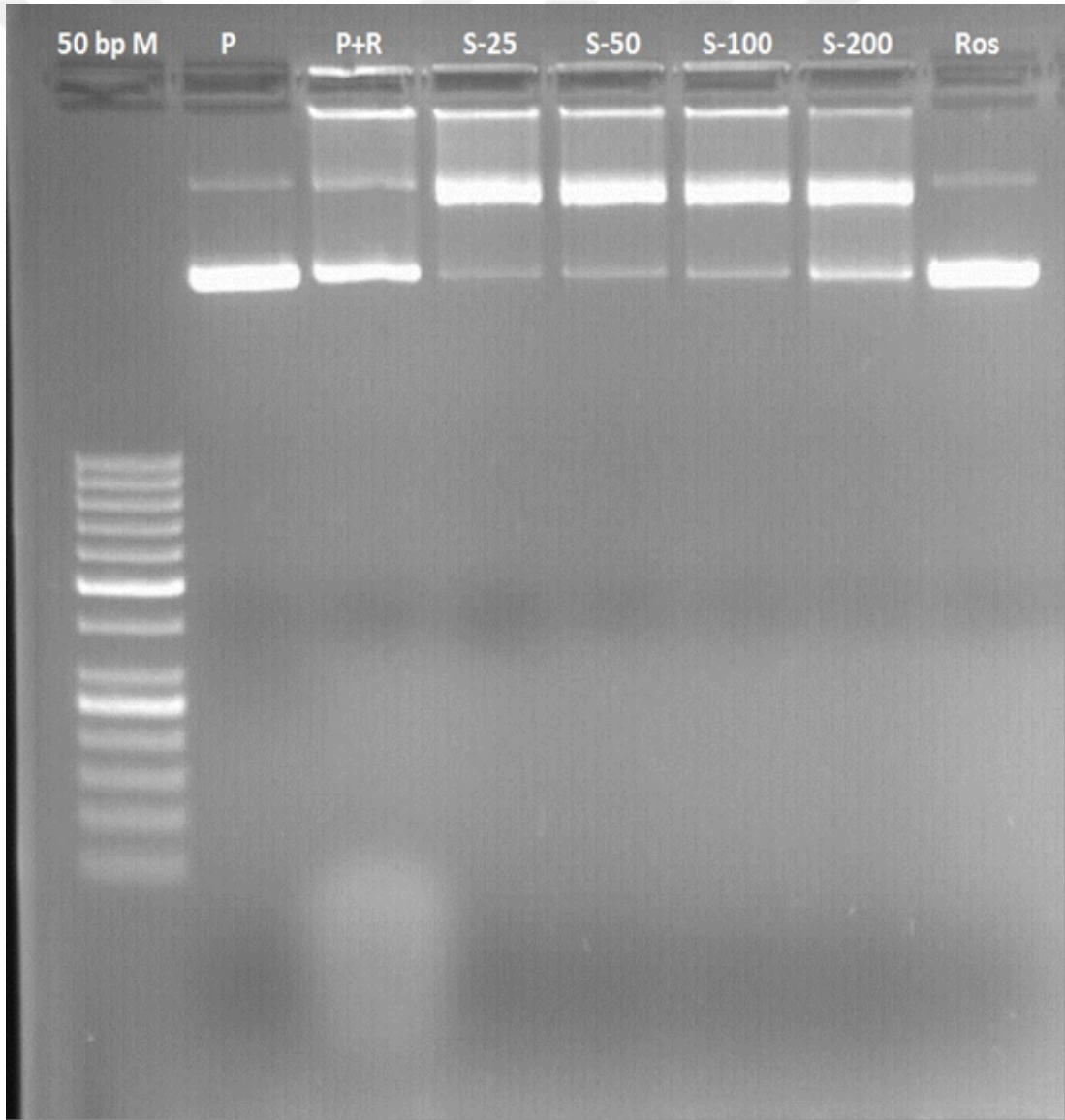


Şekil 4.5 Ekstrakt uygulaması sonucunda HeLa hücrelerinde apoptozun belirlenmesi

Sezer ve Uysal (2018)'ın *Sideritis öztürkii*'in DLD1 kolorektal kanser hücre soyunda yaptığı çalışmada, bu bitkinin farklı kısımlarına ait ekstraktların (çiçek ve yaprak) DLD1 hücrelerine uygulanması sonucunda apoptotik bazı genlerin (APAF, BAX, P53, TNF, HRK ve Kaspaz3) ekspresyonlarının arttığı ve antiapoptotik genin (BCL2) ekspresyon seviyesinin azaldığı belirlenmiş olup ölüm yolunun apoptotik olduğunu rapor edilmiştir. Çalışmamızda gen ve protein düzeyinde bir belirleme yapılmamıştır ancak floresan işaretleme ile yapılan ölçümler sonucunda elde edilen verilerimizin literatürle uyduğu söylenebilmektedir.

4.5 Hidroksil Radikaline Karşı pBR322 DNA Koruma Aktivitesinin Belirlenmesi

Serbest radikallerin hücrelerde karbonhidrat, yağ, protein ve nükleik asitler üzerine yıkıcı etkileri bilinmektedir. Bu radikallerden Hidroksil radikali DNA üzerinde şeker fosfat omurgasına bağlanarak DNA'yı parçalar. Eğer ortamda koruyucu bir ajan olarak bir antioksidan molekül bulunursa hidroksil radikali, DNA'ya zarar veremez ve DNA korunur. Şekil 4.6 de in vitro ortamda ekstraktın farklı dozlarının uygulanması sonucunda pBR322 plazmid DNA üzerine hidroksil radikalinin etkileri görülmektedir. Şekil4.6 incelendiğinde kullanılan dozların hiç birinin DNA koruyucu aktivite göstermediği belirlenmiştir.



Şekil 4.6 Hidroksil radikaline karşı DNA koruma aktiviteleri. Ros: Rosmarinik asit

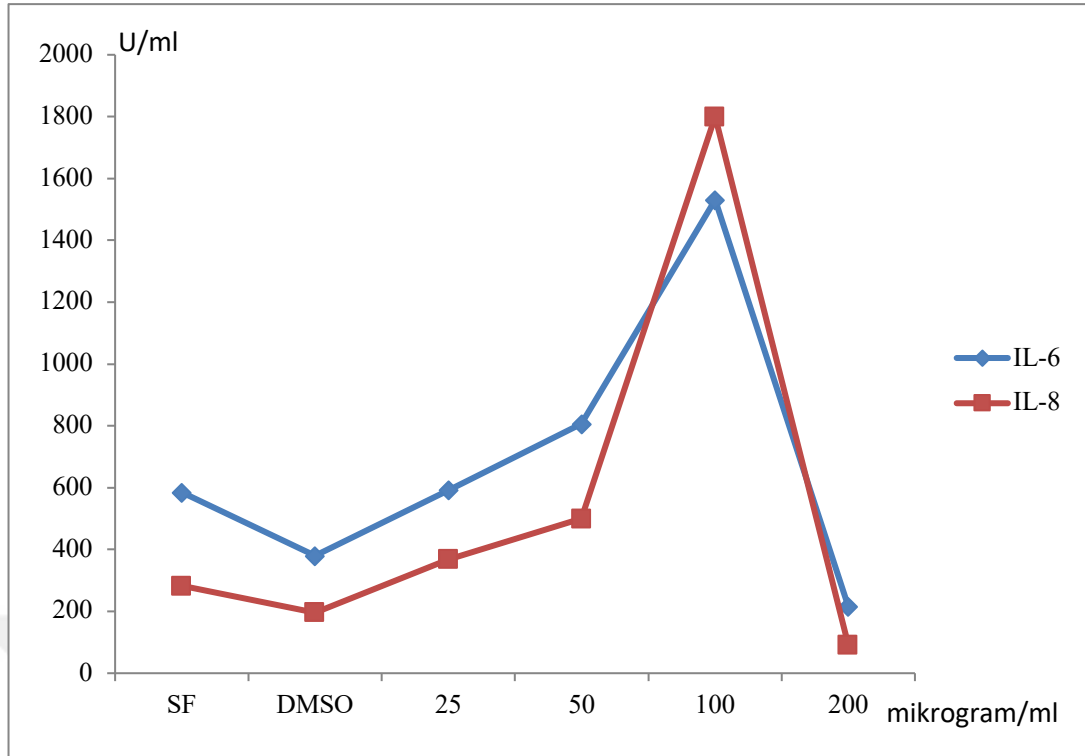
4.6 IL6 ve IL-8 Seviyelerinin Belirlenmesi

İnflamasyon, patojenler, ksenobiyotikler zarar görmüş hücreler gibi etmenlere karşı dokuları korumak için doğal olarak kullanılan fizyolojik bir süreçtir (Barajas-Gomez vd., 2017). Bu süreç önemli moleküler yolların devreye girmesi ile aktif hale gelmektedir. Aktif hale gelen bu sürecin ana amacı; başlangıç hücresel lezyonarı elemine etmek ve zarar görmüş hücreleri çıkarmak ve uygun bir mikro çevrenin oluşmasını sağlamaktır (Barajas-Gomez vd., 2017). İnflamasyonun bu pozitif etkilerinin düzenleyici rollerine rağmen, kronik inflamasyon durumlarında kanser gibi bazı hastalıkların ortaya çıkması teşvik edilmektedir. İnflamasyon TNF-alfa gibi reaktif oksijen türlerini uyaran sitokinlerin artışı ile karakterize edilmektedir. IL6 ve IL8 kanserin gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkili inflamatuvar cevabın komponentleridir. IL6 artışının hücre döngüsü progresyonunu siklin D1 gibi proteinlerin üzerine etki ederek artırdığı rapor edilmiştir (Sasser vd., 2007). Buna ek olarak IL8'in kanser hücrelerinin proliferasyonunu, invazyonu ve metastası artırdığı da bildirilmiştir (Palena vd., 2012). Çalışmamızda IL6 ve IL8'in seviyeleri HeLa hücrelerinde belirlenmiş olup 25, 50 ve 100 mg/ml konsantrasyonlarda doz artışına bağlı olarak artmış olmasına rağmen; 200 mg/ml dozda her iki sitokininde seviyeleri önemli derecede azalmıştır.

Farklı dozda ekstraktın uygulandığı hücrelerin süpernatantları alınmış ve bu örneklerde sitokinlerden Interlökin 6 ve 8 seviyeleri belirlenmiştir. Şekil 4.7 incelendiğinde 25, 50 ve 100 mg/ml uygulama gruplarında IL-6 ve IL-8 in önemli derecede arttığı belirlenmiştir. Ancak 200 mg/ml dozda hem IL-6 hem de IL-8 in önemli derecede seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir.

4.7 Fitokimyasal İçeriklerinin Belirlenmesi

LC-MS-MS(sıvı kromatografi-kütle spektrometri sistemi) ile metanol ekstraktları fitokimyasalları için taranmıştır. Elde edilen maddeler ve miktarları Tablo 4.1'de verilmektedir. Yapılan taramada 9 bileşiğin tanımlaması yapılmıştır. Miktar olarak vanilik asit ve hidroksisinnamik asiten yüksek bileşikler olarak belirlenmiştir. En azı ise, kuersetin ve asetohidroksiamikasit asit olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.7 Ekstrakt uygulaması sonrasında HeLa hücre süpernatantlarında IL-6 ve IL-8 seviyeleri

Tablo 4.1 LC-MS-MS (sıvı kromatografi-kütle spektrometri sistemi) tarama sonuçları

NO	Bileşik	Miktar (mg/L)
1	Kuersetin	0,89
2	Asetohidroksiamikasit	1,35
3	Vanilik asit	961,03
4	Resveratrol	44,33
5	Kafeik asit	3,61
6	Hidroksisinnamik asit	185,91
7	Alizarin	56,53
8	Hidoksibenzoik asit	5,13
9	Salisilik asit	15,81

Sağdıç vd. (2007)'de yaptıkları çalışmada, *S. caesarea* ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonol içeriği *S. ozturkii* ekstrelerinden daha yüksek olduğunu bildirmişler ve DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal süpürücü sistem ile test edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri sırasıyla *S. ozturkii* ve *S. caesarea* özlerinin 100 ppm konsantrasyonunda % 41.68 ± 1.96 ve % 72.47 ± 0.73 olarak bulmuşlardır. Bu

sonuçlardan ilki çalışmamızda kullanılan *Sideritis perfoliata* özütünün DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) aktivitesine yakın olarak ortaya çıkmıştır. *Sideritis* cinsine ait diğer bir tür olan *Sideritis scardica*'nın antioksidan etkisi üzerine yapılan çalışmada türün yüksek radikal süpürücü etkisi (%94.1-94.4) tespit edilmiştir (Todorova ve Trendafilova, 2014). Bu sonuçlar *Sideritis* cinsine ait türlerin DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) etkisi açısından çok geniş bir bantta değişiklik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Sideritis scardica, Avrupa'da çok popüler ve yaygın olarak tanıtılan bitki haline gelmiştir. Etnobotanik kullanımların bir kısmı *in vitro* deneylerle kanıtlanmış olsa da, farmakolojik etkilerden ve etki mekanizmalarından sorumlu bileşiklerin veya kimyasal bileşik sınıflarının daha ileri çalışmaları gereklidir. Ayrıca, *Sideritis scardica* kullanımının yanı sıra; klinik yollar gibi toksisite ve yan etkilere de dikkat edilmesi gerekmektedir. Köküne bağlı olarak bu tıbbi bitkinin kimyasal bileşimindeki değişkenlik, standardizasyonu için bir protokol geliştirilmesini gerektirir. Uygulama için, biyolojik olarak aktif bileşiklerin birikimini arttırmak ve bitkiyi kalıcı ve iyi kalitede elde etmek için yetiştirme koşullarını iyileştirmek önemlidir (Todorova ve Trendafilova, 2014). Bu nedenle özellikle tıbbi ve aromatik amaçla halk arasında geçmişten günümüze kadar tüketilen birçok bitkinin bu kullanımının yanında, kullanım şekli, kullanılan kısmı, dozu, bitkinin yetiştiği ortam gibi koşullar bilinmelidir. Ancak tüm bunların yanında kullanılan bu bitkilerin sağlık açısından insanlar üzerinde ne gibi pozitif veya negatif etkilerinin olduğunu ortaya koymak; hem bilinçli tüketim hem de bu bitkilerden modern farmakolojide faydalanma yönüyle önemli avantajlar sağlayacaktır.

Ayrıca, çalışmamızın konusu olan *S. perfoliata* bitkisinin birçok biyoaktivite özelliği ortaya konmuş ve bunlardan bir kısmı özellikle insan sağlığı yönünden pozitif etkiler gösterirken; diğer bazı değerler yönünden nötr etkiler göstermiştir. Yine de bu çalışmaların ilerleyen basamaklarında türün farklı ortamlardan toplanmış olanı, toplanma dönemi farklı olanı, farklı ekstraksiyon metodu kullanılarak alınan özütü ve/veya çalışılan parametrelerin arttırılması gibi değişkenlerin araştırılması bu bitkiden istifadeyi en üst düzeye çıkaracak verilerin ortaya konmasını sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Aslan İ., Kılıç T., Gören A.C., Topçu G. (2006). Toxicity of Acetone Extract of *Sideritis trojana* and 7-Epicandiciol, 7-Epicandiciol Diacetate and 18-Acetylsideroxol against Stored Pests *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Sitophilus granarius* (L.) and *Ephestia kuehniella* (Zell.). *Industrial Crops and Products*, **23**, 171-176.
- Araz, N.Ç., Taşdemir, H.S., Kılıç, S.P. (2012). “Sağlık Bilimleri Fakültesi Öğrencilerinin Tıp Dışı Alternatif Ve Geleneksel Uygulamalar Konusundaki Görüşlerinin Değerlendirilmesi”. *Gümüşhane University Journal of Health Sciences*, **1(4)**, 239-251.
- Arıhan SK (2003). Antik Dönemde Tıp ve Bitkisel Tedavi. Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Arkeoloji Bölümü, Klasik Arkeoloji Anabilim dalı, Yüksek lisans Tezi.
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P.(2005). Tea and Herbal infusions: Their antioksidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, **89**, 27-36.
- Averbeck, D., Averbeck, S., Dubertret, L., Young, A.R., Morlie`re, P. (1990). *Genotoxicity of bergapten and bergamot oil in Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B7*, 209–229.
- Bakkali, F., Averbeck, S. Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 446–475.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Zhiri, A., Idaomar, M. (2005). Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*, **585**, 1–13.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Zhiri, A., Baudoux, D., Idaomar, M.(2006). Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces*

cerevisiae) after treatments with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS. *Mutation Research*, **606**, 27–38.

Barajas-Gómez, B. A., Rosas-Carrasco, O., Morales-Rosales, S. L., Vázquez, G. P., González-Puertos, V. Y., Juárez-Cedillo, T., ... and Luna-López, A. (2017). Relationship of inflammatory profile of elderly patients serum and senescence-associated secretory phenotype with human breast cancer cells proliferation: Role of IL6/IL8 ratio. *Cytokine*, **91**, 13-29.

Barber, J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Turner, K., Jansen, R.(2002). *Origin of Macaronesic sideritis L. (Lamioideae. Lamiaceae) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets. Molecular Phylogenetics and Evolution*, **23**, 293–306.

Barberán, F.A.T., Núñez, J.M., Tomás, F.(1985). An HPLC of flavones from some Spanish *Sideritis* species. *Phytochemistry*, **24**, 1285–1288.

Barberán, F., Mánñez, S., Villar, A. (1987). Identification of antiinflammatory agents from *Sideritis* species growing in Spain. *Journal of Natural Products*, **50**, 313–314.

Başer, K.H.C., Honda G., Miki, W.(1986). Herb Drugs and Herbalists in Turkey. *Studia Culturae Islamicae* 27, Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa, Tokyo. 54.

Başer, K.H.C., Bondi M.L., Bruno M., Kırimer N., Piozzi F., Tümen G., Vassallo N. (1996). An Ent-Kaurane from *Sideritis huber morathii*. *Phytochemistry*, **43**, 1293- 1295.

Baytop, T. (2004). Turhan Baytop anma kitabı, Bilim Tarihi, 135-150.

Benli, M., Yiğit, N. (2005). Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, Cilt: 03 Sayı: 08 Sayfa: 1-8.

- Berdowska, I., Zielinska, B., Feckab, I., Kulbackaa, J., Saczkoa, J., Gamiana, A.(2013). *Cytotoxic impact of phenolics from Lamiaceae species on human breast cancer cells, Food Chemistry*, **141**, 1313–1321.
- Bondi M.L., Bruno M., Piozzi F., Başer K.H.C., Simmonds M.S.(2000). *Diversity and Antifeedant Activity of Diterpenes from Turkish Species of Sideritis. Biochemical Systematics and Ecology*, **28(4)**, 299-303.
- Bozdemir, K. (2014). *Sideritis perfoliata* L. subsp. *Athoa*(Papan., Kokkını) Baden'den elde edilen polifenoloksidazın kısmi biyokimyasal özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD.
- Brankovic S., Kitic D., Radenkovic M., Veljkovic S., Jankovic T., Savikin K., Zdunic G.(2011). *Spasmolytic Activity of The Ethanol Extract of Sideritis raeseri spp. raeseri Boiss. and Heldr. on The Isolated Rat Ileum Contractions, Journal of Medicinal Food*, **14(5)**, 495-498.
- Bruno M., Rosselli S., Pibiri I., Kilgore N., Lee K.H. (2002). Anti-HIV Agents Derived from The Ent-Kaurene Diterpenoid Linearol, *Journal of Natural Products*, **65**, 1594-1597.
- Cabrera, E., García-Granados, A., Saenz de Buruaga, A., Saenz de Buruaga, J.M. (1983). Diterpenoids from *Sideritis hirsuta* subsp. *Nivales*, *Phytochemistry*, **22**, 2779–2781.
- Çarıkçı S., Çöl Ç., Kılıç T., Azizoğlu A. (2007). Diterpenoids from *Sideritis tmolea*, *P.H. Davis. Records of Natural Products*, **1 (4)**, 44-50.
- Çelik S., Karabacak E., Uysal İ. (2008). Plants have been Collected from Mythological Kazdağı (Mt. Ida) National Park, West Turkey by Turkmens and their Folk, Cultural and Social Uses, *European Journal of Scientific Research*, **19 (4)**, 835-843.
- Çenet, M. ve Toroğlu, S. (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, **9(2)**, 12-20.

- Dalbem Rocha, L., Monteiro, M.C., Teodoro, A.J.(2012). *Anticancer properties of hydroxycinnamic acids—a Review*, *Cancer Clin, Oncology*, **1 (2)**, 109–121.
- Davis P.H.,(1982). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* (Vol. 7). Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis P.H., Tan K., Mill R.R. (1988). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* (Vol. 10). Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Demirtaş İ., Şahin A., Ayhan B., Tekin S., Telci İ. (2009). Antiproliferative Effects of The Methanolic Extracts of *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis*., *Records of Natural Products*, **3 (2)**, 104-109.
- Dincer, C. Toruna, M., Tontul, I., Topuz, A., Sahin-Nadeema, H., Gokturkc,R.S.,Tugrul-Ay, S. ve Ozdemir, F. (2017). Phenolic composition and antioxidant activity of *Sideritis lycia* and *Sideritis libanotica* subsp. *linearis*: Effects of cultivation, year and storage, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, **5**, 26–32.
- Dinis T.C.P, Madeira, V.M.C, Almeida L.M (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **315**, 161–169.
- Dülger B., Gönüz A., Bican T. (2005). Antimicrobial Studies on Three Endemic Species of *Sideritis* from Turkey, *Acta Biologica Cracoviensia*, **47**, 153-156.
- Dülger B., Gönüz A., Aysel V. (2006). Inhibition of Clotrimazole-Resistant *Candida albicans* by Some Endemic *Sideritis* Species from Turkey, *Fitoterapia*, **77**, 404- 405.
- Emerit, J., Edeas, M., Bricaire, F. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stres, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **58**, 39–46.
- Ertaş A., Öztürk M., Boğa M., Topçu G. (2009). Antioxidant and Anticholinesterase Activity Evaluation of Ent-Kaurane Diterpenoids from *Sideritis arguta*, *Journal of Natural Products*, **72**, 500-502.

- Ezer N., Sakar M.K., Rodriguez B., De la Torre M.C.(1992). Flavonoid Glycosides and A Phenylpropanoid Glycoside from *Sideritis perfoliata*, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, **30**, 61-65.
- Ezer N. ve Akcoş Y.,(1995). Flavonoids from *Sideritis lycia*. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara, **15 (2)**, 81-87.
- Ezer N., Vila R., Canigüeral S., Adzet T. (1996). *Essential Oil Composition of Four Turkish Species of Sideritis*, *Phytochemistry*, **41**, 203-205.
- Faiella L, Piaş FD, Bader A, Braca A. 2014. Diterpenes and phenolic compounds from *Sideritis pullulans*. *Phytochemistry*, **106**:164–70.
- Fernández C., Fraga B.M., Hernández M.G. (1986). *Diterpenes from Sideritis infernalis*. *Phytochemistry*, **25**, 2573-2576.
- Fernández C., Fraga B. , Hernández M. (1988)(b). Flavonoid Aglycones from Some Canary Islands Species of *Sideritis*, *Journal of Natural Products*, **51**, 591-593.
- Font Quer P.(1999). Plantas Medicinales: El Dioscórides Renovado. Ediciones Península, Barcelona. 1184 p.
- Fraga B.M., Hernández M.G., Fernández C., Santana J.M.H. (2009). A Chemotaxonomic Study of Nine Canarian *Sideritis* Species. *Phytochemistry*, **70**, 1038-1048.
- García-Granados, A., Martínez, P.A., Parra, A.(1982). Componentes terpenicos de labi- adas españolas: diterpenos de *Sideritis leucantha* var *meridionalis* Font Quer. *Anales de Química* **78**, 410–412
- Gaulejac, N. S.-C., Provost, C. ve Vas, N. (1999). Comparative Study of Polyphenol Scavenging Activities Assessed by Different Methods. *J. Agric, Food Chem.*, **47 (2)**, s 425-431.
- Giorgi, A., Madeo, M., Speranza, G., Cocucci, M. (2010). Influence of environmental factors on composition of phenolic antioxidants of *Achillea collina* Becker ex Rechb., *Natural Product Research*, **24**, 1546–1559.

- González-Burgos E., Carretero M.E., Gómez-Serranillos M.P. (2011). *Sideritis spp.*: Uses, Chemical Composition and Pharmacological Activities-A Review. *Journal of Ethnopharmacology*, **135** (2), 209–225.
- González-Burgos, E., Gómez-Serranillos, M.P., Palomino, O.M., Carretero, M.E. (2009). Aspectos botánicos y farmacológicos del género *Sideritis*, *Revista de Fitoterapia*, **9**, 133–145.
- González-Burgos, E., Carretero, M. E., Gómez-Serranillos, M. P. (2013). Nrf2-dependent neuroprotective activity of diterpenoids isolated from *Sideritis spp.*, *Journal of Ethnopharmacology*, **147**, 645–652
- Gören A.C., (1997). *Sideritis athoa* Papanikolau et Kokkini Bitkisinin Diterpen Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapı Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Güldaş, N. (2009). Adıyaman İlinde Etnobotanik Değeri Olan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanlarının Tespiti. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Elazığ.
- Güner A., Özhatay N., Ekim T., Başer K.H.C. (Eds), (2000). Flora of Turkey and The East Aegean Islands (Vol. 11, Supplement 2). Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Güvenç A., Okada Y., Küpeli Akkol E., Duman H., Okuyama T. ve Çalış İ., (2010). Investigations of Anti-Inflammatory, Antinociceptive, Antioxidant and Aldose Reductase Inhibitory Activities of Phenolic Compounds from *Sideritis brevibracteata*, *Food Chemistry*, **118**, 686-692.
- Guvenc A., Houghton, P.J., Duman, H., Coskun, M., Sahin, P. (2005)(a). Antioxidant activity studies on selected *Sideritis* species native to Turkey, *Pharmaceutical Biology*, **43**, 173–177.
- Gürbüz İ., Özkan A.M., Yeşilada E., Kutsal O. (2005)(b). Anti-Ulcerogenic Activity of Some Plants used in Folk Medicine of Pınarbaşı (Kayseri, Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, **101**, 313-318.

- Gürsoy, O.V., Gürsoy, U., K., 2004. Anadolu’da Diş ve Dişeti İle İlgili Hastalıkların Tedavisinde Halk Arasında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler, Kullanım Şekilleri Ve Bitkisel Özellikleri. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, Cilt:7 Sayı:1, ss.64- 67, Sivas.
- Hadi, S.M., Asad, S.F., Singh, S., Ahmad, A. (2000). Putative mechanism for anticancer and apoptosis-inducing properties of plant-derived polyphenolic compounds, *IUBMB Life*, **50**, 167–171.
- Halfon B., Gören A.C., Ertaş A., Topçu G. (2011). Complete ¹³C NMR Assignments for Ent-kaurane Diterpenoids from *Sideritis* Species, *Magnetic Resonance in Chemistry Letters*, **49**, 291-294.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1990). “A Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview.” In, *Methods in Enzymology*, **186**, 1-85.
- Halliwell, B., Clement, M.V., Long, L.H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body, *FEBS Letters*, **486**, 10–13.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed., *Oxford University Press*, 1999.
- Hernández-Pérez M., Sánchez-Mateo C.C., Montalbetti-Moreno Y., Rabanal R.M., (2004). Studies on The Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of *Sideritis candicans* Ait. var. *eriocephala* Webb Aerial Part, *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 279-284.
- Huang, D., Ou, B. And Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays, Reviews, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **53**, 1841-1856.
- İşcan G., Kırimer N., Kürkçüoğlu M., Başer K.H.C. (2005). Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oils of Two Endemic Species from Turkey: *Sideritis cilicica* and *Sideritis bilgerana*, *Chemistry of Natural Compounds*, **41**, 679-682.
- Jellinger, K.A., (2009). Recent advances in our understanding of neurodegeneration, *Journal of Neural Transmission*, **116**, 1111–1162.

- Johnstone, R. W., Ruefli, A. A., Lowe, S. W. (2002). Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy, *Cell*, **108** (2), 153-164.
- Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T., S. Heinonen, M. (1999). “Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 3954-3962.
- Karamanoğlu, K. (1977). Farmasötik Botanik Ders. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Sayı:44
- Kargıoğlu, M., Cenkçi, S., Serteser, A., Evliyağlu, N., Konuk, M., Şamil Kök, M., Bağcı, Y. (2008). An ethnobotanical survey of Inner-West Anatolia, Turkey, *Human Ecology*, **36**, 763–777.
- Kendir, G., Güvenç., A. 2010. Etnobotanik ve Türkiye’de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi Cilt 30, Sayı 1, ss. 49-80.
- Kerr, J. F., Winterford, C. M., Harmon, B. V. (1994). Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy, *Cancer*, **73**(8), 2013-2026.
- Kılıç T., Çarıkçı S., Topçu G., Aslan İ., Gören A.C. (2009). Diterpenoids from *Sideritis condensata*. Evaluation of Chemotaxonomy of *Sideritis* Species and Insecticidal Activity, *Chemistry of Natural Compounds*, **45** (6), 918-920.
- Kilic, T. (2006). Isolation and biological activity of new and known diterpenoids from *Sideritis stricta*, *Boiss and Heldr. Molecules*, **11**, 257–262.
- Kilic, T., Yildiz, Y.K., Goren, A.C., Tumen, G., Topcu, G. (2003). Phytochemical analysis of some *Sideritis* species of Turkey, *Chemistry of Natural Compounds*, **39**, 454–456
- Kirimer, N., Tabanca, N., Demirci, B., Baser, K.H.C., Duman, H., Aytac, Z. (2001). The essential oil of a new *Sideritis* species: *Sideritis ozturkii* Aytac and Aksoy, *Chemistry of Natural Compounds*, **37**, 234–237.

- Kırimer Aytaç N., Demirci B., Iscan G. ve Duman H. 2008. Composition of the essential oils of two *Sideritis* species from Turkey and antimicrobial activity. *Chemistry of Natural Compounds* **44(1)**:121-123.
- Kırmızıbekmez H., Arıburnu E., Masullo M., Festa M., Capasso A., Yeşilada E., Piacente S. (2012). Iridoid, Phenylethanoid and Flavonoid Glycosides from *Sideritis trojana*, *Fitoterapia*, **83**, 130-136.
- Kumaran, A., Karunakaran, R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*, *Food Chemistry*, **97**, 109 – 114.
- Loğoğlu E., Arslan S., Öktemer A., Şakıyan İ. (2006). Biological Activities of Some Natural Compounds from *Sideritis sipylea* Boiss, *Phytotherapy Research*, **20(4)**, 294-297.
- Loizzo M.R, Tundis R, Menichini F, Saab AM, Statti GA, Menichini F. (2007). Cytotoxic activity of essential oils from labiatae and lauraceae families against in vitro human tumor models. *Anticancer Researches* Sep-Oct; **27(5A)**:3293-9.
- Ma, L., Qin, C., Wang, M., Gan, D., Cao, L., Ye, H., Zeng, X. (2013). Preparation, preliminary characterization and inhibitory effect on human colon cancer HT29 cells of an acidic polysaccharide fraction from *Stachys floridana* Schuttl. Ex Benth. *Food Chem, Toxicol*, **60**, 269–276.
- Márquez, C., Panizo, F., Rodríguez, B., Valverde, S. (1975). A new diterpenoid acetate from *Sideritis reverchonii*, *Phytochemistry*, **14**, 2713–2714.
- Mathew, S., Abraham, T.E. (2006). Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various *in vitro* models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528.
- Menkovic, N.R., Kovacevic, N.N., Savin, K., Ristic, M.S. (1993). Investigation of flavonoid complex of *Sideritis montana* L. from different localities of Serbia, *Acta Horticulturae*, **344**, 582–584.

- Obón de Castro, C., Rivera-Nuñez, D. (1994). A Taxonomic Revision of the Section *Sideritis* (Genus *Sideritis*) (*Labiatae*). In: Cramer, J. (Ed.), *Phanerogamarum Monographiae Tomus XXI*, Berlin.
- Odabaş Köse, E., Deniz, İ.G., Sarıkürkçü, C., Aktaş, Ö., and Yavuz, M., “Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Sideritis erythrantha* Boiss. and Heldr. (var. *erythrantha* and var. *Cedretorum* P.H. Davis) endemic in Turkey”, *Food Chem Toxicol*, **48(10)**, (2010), 2960-2965.
- Özkan, G., Sağdıç, O., Özcan, M., Özçelik, H. ve Ünver, A. (2005). Antioxidant and Antibacterial Activities of Turkish Endemic *Sideritis* Extracts, *Grasas y Aceites*, **56 (1)**, 16-20.
- Özkavalalı Ö.(2010). Antimikrobiyal Aktivitesi Olan Bazı Bitkilerin Gıda Konservelerinin Korunmasında Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Öztürk Y., Aydın S., Öztürk N. ve Başer K.H.C. (1996). Effects of Extracts from Certain *Sideritis* Species on Swimming Performance in Mice. *Phytotherapy Research*, **10 (1)**, 70- 73.
- Palena, C., Hamilton, D.H., Fernando, R.I. (2012). Influence of IL-8 on the epithelialmesenchymal transition and the tumor microenvironment, *Future Oncol* **8 (6)**, 713–722.
- Palomino, O.M., Gómez-Serranillos, P., Carretero, E., Villar, A.(1996). High-performance liquid chromatography of flavonoids from *Sideritis* species, *Journal of ChromatographyA*, 731, 103–108.
- Payan, A. 2007. Üzüm Meyvesi Ve Çekirdeğinden Antioksidan Eldesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
- Piozzi F., Venturella P., Bellino A., Mondelli R.(1968). Diterpenes from *Sideritis sicala* Ucria, *Tetrahedron*, **24**, 4073-4081.

- Piozzi, F., Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A.(2006). The diterpenoids from the genus *Sideritis*, *Studies in Natural Products Chemistry*, **33**, 493–540.
- Polat R. ve Satıl F.(2012). An Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants in Edremit Gulf (Balıkesir – Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, **139**, 626-641.
- Ratkevicius, N., Correa, J.A., Moenne, A. (2003) Copper accumulation, synthesis of ascorbate and activation of ascorbate peroxidase in *Enteromorpha compressa* (L.) Grev (Chlorophyta) from heavy metal-enriched environments in northern Chile, *Plant Cell Environ*, **26**, 1599–1608.
- Raven, P.H., Evert, R.F. And Eichhorn, S.E.(1999). *Biology of Plants* 6th Ed. New York, USA.
- Sagdic, O.,Aksoy, A., Ozkan, G., Ekici, L., Albayrak.,S. (2008). Biological activities of the extracts of two endemic *Sideritis* species in Turkey, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **9**, 80–84.
- Sakagami, H., Oi, T., Satoh, K.(1999). Prevention of oral diseases by polyphenols (Review), *In vivo*, **13**, 155–172.
- Sasser, A.K., Sullivan, N.J., Studebaker, A.W., Hendey, L.F., Axel, A.E., Hall,B.M.. (2007). Interleukin-6 is a potent growth factor for ER-alpha-positive human breast cancer, *FASEB J.: Off Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **21**, 3763–3770, <http://dx.doi.org/10.1096/fj.07-8832com>.
- Schwartz, J.L.(1996). The dual roles of nutrients as antioxidants and prooxidants: their effects on tumor cell growth, *J. Nutr*, **126**, 1221– 1227.
- Serteser, A., Gök, V.(2003). “Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı”. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2-4 Ekim, Sayfa: 83-98, Ankara.
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M. And Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones, and flavonol in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry*, **89**, 191-198.

- Sezer, E. N. Ş., Uysal, T. (2018). The Effects Of The *Sideritis özturku* Extract On The Expression Levels Of Some Apoptotic Genes, *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP)*, **1(1)**, 8-12.
- Speciale, A., Chirafisi, J., Saija, A., Cimino, F.(2011). Nutritional antioxidants and adaptive cell responses: an update, *Current Molecular Medicine*,**11**, 770–789.
- Sungur T. (2014). Vajen Kaynakli Laktobasil Suşlarının Hela Kanseri Hücre Hattı Üzerine Antikanserojenik Etkisinin Moleküler Düzeyde Araştırılması Doktora tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Şahin F.P., Ezer N., Çalış İ.(2004). Three Acylated Flavone Glycosides from *Sideritis ozturkii* Aytac ve Aksoy, *Phytochemistry*, **65**, 2095-2099.
- Şahin Yiğit S. (2014). Gaziantep İli Aktarlarında Satılan Bitkiler ve Etnobotanik Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü.
- Tabner, B.J., El-Agnaf, O., Turnbull, S., German, M.J., Paleologou, K.E., Hayashi, Y., Cooper, L.J., Fullwood, N.J., Allsop, D.(2005). Hydrogen peroxide is generated during the very early stages of aggregation of the amyloid peptides implicated in Alzheimer Disease and Familial British Dementia, *Journal of Biological Chemistry*, **280**, 35789–35792.
- Tabner, B.J., Turnbull, S., El-Agnaf, O., Allsop, D.(2001a). Production of reactive oxygen species from aggregating proteins implicated in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases, *Current Topics in Medicinal Chemistry*,**1**, 507–517.
- Tabner, B.J., Turnbull, S., El-Agnaf, O., Allsop, D.(2002b). Formation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals from A(β) and α-synuclein as a possible mechanism of cell death in Alzheimer's disease and Parkinson's disease, *Free Radical Biology and Medicine*, **32**, 1076–1083.
- Tepe, B, Sokmen, M, Akpulat, H.A, Yumruta, O, Sokmen, A., 2006. Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch. & Mey., *Sideritis*

libanotica Labill. subsp. linearis (Bentham) Borm., *Centaurea mucronifera* DC and *Hieracium cappadocicum* Freyn from Turkish flora, *Food Chemistry*, **98**, 9-13.

Todorova, M., Trendafilova, A. (2014). *Sideritis scardica* Griseb., an endemic species of Balkan peninsula, Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity, *Journal of Ethnopharmacology*, **152**, 256–265.

Tomás-Barberán, F., Ferreres, F., Tomás-Lorente, F., Rivera-Núñez, D., Obón de Castro, C.(1990). A chemotaxonomical study of some portuguese *Sideritis* species, *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**, 245–249.

Topçu G., Gören A.C., Yıldız Y.K., Tümen G.(1999). Ent-kaurene Diterpenes from *Sideritis athoa*, *Natural Product Letters*, **14 (2)**, 123-129.

Topçu G., Gören A.C., Kılıç T., Yıldız Y.K., Tümen G.(2002). Diterpenes from *Sideritis trojana*, *Natural Product Letters*, **16 (1)**, 33-37.

Torres Montes, F.(2004). Nombres y usos tradicionales de las plantas silvestres en Almería. Instituto de Estudios Almerienses, Almería.

Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C., Duman, H., Kırimer. N. (2002). 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler Eskişehir.

Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-biological Interactions*, **160(1)**, 1-40.

Vermes, I., Haanen, C., Reutelingsperger, C. (2000). Flow cytometry of apoptotic cell death, *Journal of Immunological Methods*, **243(1-2)**, 167-190.

Villar, A., Jiménez, A., Mán~ez, S.(1985). Sur la distribution des méthoxyflavones dans le genre *Sideritis*, *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **4**, 255–261.

Villar, A., Jiménez, M.J., Alcaraz, M.J.(1986a). The anti-inflammatory activity of the genus *Sideritis*: a new insight, *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **20**, 31–36

- Villar, A., Recio, M.C., Ríos, J.L., Zafra-Polo, M.C.(1986b). Antimicrobial activity of essential oils from *Sideritis* species, *Pharmazie*, **41**, 298–299
- Venturella, P., Bellino, A.(1965). Constituents of *Stachys I'talica*. *Atti de ll'Accademia Nazionale di Scienze Arti Palermo IV*, **24**, 95–99.
- Weng, C., Yen, G.(2012). Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives, *Cancer Treatment Reviews*, **38**, 76–87.
- Yaşar, S., 2005, Çukurova Üniversitesi Kampusunda Doğal Olarak Yetişen Bazı Çok Yıllık Tıbbi Bitkilerin Toprak Özellikleri ile Sabit ve Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 1-10.
- Yeşilada E., Ezer N., 1989. The antiinflammatory activities of some *Sideritis* spp. growing in Turkey. *International Journal of Crude Drug Reserarch*, **27(11)**, pp. 38-40.
- Yumrutaş, Ö. (2011). Gaziantep florasına ait bazı *Lamiaceae* türlerinin antioksidan ve radikal temizleme aktivitelerinin belirlenmesi. Gaziantep Üniveristesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Zarzuelo A., Garcia E., Jimenez J., Ocete M.A., Utrilla P., Socorro O.(1993). Antiinflammatory and Anti-Ulcerative Activity of Various Species of The Genus *Sideritis* from The Alpujarra Region of Spain, *Fitoterapia*, **64**, 26-30.
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R. (2014). *Sideritis galatica* Bornm. A source of multifunctional agents for the management of oxidative damage, Alzheimer's's and diabetes mellitus, *Journal of Functional Foods*, **11**, 538–547.
- Ziakova, A., Brandsteterova, E.(2003). Validation of HPLC determination of phenolic acids present in some *Lamiaceae* family plants, *Journal of Liquid Chromatography, Related Technologies*, **26 (3)**, 443-453.

Xu and Chang, B.J. Xu, S.K.C. (2010). Chang. Phenolic substance characterization and chemical and cell-based antioxidant activities of 11 lentils grown in the Northern United States, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58 (3)** pp. ,1509–1517.

