

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



Lamium purpureum L.
**UÇUCU YAĞININ FARKLI KANSER HÜCRE HATLARINDAKİ
SİTOTOKSİK ETKİSİ**

KADER TOPRAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri : Dr.Öğr.Üyesi BERNA SANÖN (Tez Danışmanı)
Prof. Dr.HATİCE YILDIRIM
Prof. Dr.RAŞAN ILIKÇI SAĞKAN

BALIKESİR, OCAK - 2025

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “*Lamium purpureum* L. UÇUCU YAĞININ FARKLI KANSER HÜCRE HATLARINDAKİ SİTOTOKSİK ETKİSİ ” isimli tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Kader TOPRAK

**Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından
2023/172 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ÖZET

***Lamium purpureum* L. UÇUCU YAĞININ FARKLI KANSER HÜCRE HATLARINDAKİ SİTOTOKSİK ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KADER TOPRAK

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DR.ÖĞR.ÜYESİ.BERNA SANÖN)

BALIKESİR, OCAK - 2025

Bu çalışmada *Lamium purpureum* L. uçucu yağının farklı kanser hücre hatlarındaki Si-totoksik etkisi incelenmiştir. Çalışmamızda insan endotel hücre hattı HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial cells), SW-480 (İnsan kolon kanseri), PC3 (Prostat Kanseri) ve Hep3B (İnsan karaciğer kanseri) hücre hatları ile çalışılmıştır. Hep3B, PC3, Sw480, Huvec hücre hatlarına ve 24,48,72 h süreyle maruz bırakılan *L. purpureum* uçucu yağının hücre canlılığı üzerine etkileri MTT ile belirlenmiştir. *L. purpureum* uçucu yağının karaciğer kanseri hücreleri üzerindeki hücre göçü ve koloni formasyonuna etkileri klonojik analiz ile belirlenmiştir. Yara iyileşme testi için fotoğraflar İmage J programı ile analiz edilmiştir. Kimyasal bileşimin analizi Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi) yöntemiyle hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Tanımlanan bileşikler içerisinde, 2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl %19.35, phytol %13.10 ve germacrene-D %5.79 ana bileşen olarak tespit edilmiştir. Hep3B hücre hattında *L.purpureum* yağının antiproliferatif etkisi incelendiğinde 24 saat ve 72 saat uygulama sonucunda tüm konsantrasyonlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek sitotoksik etki görülmüştür. *L.purpureum* yağının Hep3b hücrelerinde tümörojenik özelliklerine etkisi yara iyileştirme testi (scratch assay) ve koloni formasyon testi ile belirlenmiştir. Hep3b hücrelerinin koloni formasyon analizinde kontrol grubuyla *L.purpureum* yağı uygulanan grup arasında koloni sayısında bir fark gözlemlense de, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Hep3b hücre hattında hücre migrasyonunun analiz edildiği yara iyileşme testi sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, hücrelerin hareketliliğini veya migrasyonunu azalttığı ve bu değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin ileride yapılacak olan çalışmalara ışık tutması öngörülmektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: *Lamium purpureum*, kanser hücre hattı, MTT, sitotoksik etki

Bilim Kod / Kodları :20309

Sayfa Sayısı : 53

ABSTRACT

CITOTOXIC EFFECTS OF ESSENTIAL OIL OF *Lamium purpureum* L. ON DIFFERENT CANCER CELL LINES

MSC THESIS

KADER TOPRAK

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: DR.ÖĞR.ÜYESİ BERNA SANÖN)

BALIKESİR, JANUARY - 2025

In this study, the cytotoxic effect of *Lamium purpureum* L. Essential Oil on different cancer cell lines was investigated. In our study, human endothelial cell line HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial cells), SW-480 (Human colon cancer), PC3 (Prostate Cancer) and Hep3B (Human liver cancer) cell lines were studied. The effects of *L. purpureum* essential oil on cell viability of Hep3B, PC3, Sw480, Huvec cell lines exposed for 24, 48, 72 h were determined by MTT. The effects of *L. purpureum* essential oil on cell migration and colony formation on liver cancer cells were determined by clonological analysis. For the wound healing test, photographs were analyzed with the Image J program. Analysis of the chemical composition was carried out by purchasing service at Kastamonu University Central Research Laboratory Application and Research Center using the GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy) method. Among the identified compounds, 2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl 19.35%, phytol 13.10% and germacrene-D 5.79% were found to be the main components. When the antiproliferative effect of *L.purpureum* oil was examined on the Hep3B cell line, a high cytotoxic effect was observed at all concentrations after 24 hours and 72 hours of application, compared to the control group. The effect of *L.purpureum* oil on tumorigenic properties on Hep3b cells was determined by scratch assay and colony formation test. In the colony formation analysis of Hep3b cells, although a difference was observed in the number of colonies between the control group and the group treated with *L.purpureum* oil, this difference was not found to be statistically significant. When the results of the wound healing test, in which cell migration was analyzed in the Hep3b cell line, were evaluated statistically, it was observed that the mobility or migration of the cells decreased and this change was statistically significant. It is anticipated that the data obtained as a result of this study will shed light on future studies.

KEYWORDS: *Lamium purpureum*, cancer cell line, MTT, cytotoxic effect

Science Code / Codes : 20309

Page Number : 53

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Lamiaceae Familyası	2
1.1.1 <i>Lamium purpureum</i> L. (Ballıbaba)	4
1.1.1.1 <i>Lamium purpureum</i> L. nin Kimyasal Yapısı	5
1.2 Esansiyel Yağlar	6
1.2.1 Uçucu Yağ Elde Etme Metodları	8
1.2.1.1 Destilasyon	9
1.2.1.1.1 Su Destilasyonu	9
1.2.1.1.2 Buhar Destilasyonu	9
1.2.1.1.3 Vakum destilasyonu	10
1.2.1.2 Ekstraksiyon	10
1.2.1.2.1 Soxhlet Ekstraksiyonu	10
1.2.1.2.2 Mikrodalga Ekstraksiyonu	11
1.2.1.3 Presyon	12
1.3 Kanser	12
1.3.1 Hücre Siklusu ve Hücre Döngüsü	14
1.3.2 Apoptoz	15
1.3.3 Tümör Baskılayıcı Genler	16
1.3.4 Onkogenler	17
1.3.5 Kanser hücresinin özellikleri	17
1.4 Sitotoksite	19
1.4.1 Boyama Yöntemleri	20
1.4.2 Kolorimetrik Yöntemler	21
1.4.2.1 Nötral Kırmızısı Alımı (NRU) ve Kristal Viyole Testi	21
1.4.2.2 MTT Testi	21
1.4.2.3 XTT	22
1.4.2.4 MTS	22
1.4.2.5 WST	22
1.5 Koloni Formasyon Analizi	23
1.6 Yara İyileşme Analizi (Scratch Assay) ve Migrasyon	23
2. MATERYAL VE METOD	25
2.1 Bitki Materyallerinin Hazırlanması	25
2.1.1 Arazi çalışması	25
2.1.2 Bitkilerin Ham Ekstrelerinin Hazırlanması	25
2.1.3 Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi	25
2.2 Çalışmada Kullanılan Hücre Hatları	26
2.3 Hücrelerin Pasajlanması	27

2.4 Canlı Hücrelerin Belirlenmesi ve Hücre Sayımı	28
2.5 MTT Testi (Sitotoksosite Testi).....	28
2.6 Koloni formasyon (Klonojenik) Analizi	29
2.7 Yara İyileşme-Hücre Migrasyon Analizi (Scratch Testi)	30
2.8 İstatiksel analiz.....	31
3. BULGULAR.....	32
3.1 <i>Lamium purpureum</i> L. Uçucu yağ bileşenleri	32
3.2 Sitotoksik Etki.....	34
3.3 Tümörojenik etkilerin belirlenmesi.....	36
3.3.1 Scratch (Yara iyileşme analizi)	36
3.3.2 Koloni Formasyon Testi.....	39
4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	40
5. KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	54



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Lamiaceae familyasının dünya üzerindeki dağılışı (Erbil 2012).....	3
Şekil 1.2: <i>Lamium purpureum</i> L.	5
Şekil 1.3: Şekil 1.3: Kanserin gelişimi (Yavuz,2016).....	12
Şekil 1.4: Kansere vakaları dağılım grafiği (Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı,2024)..	13
Şekil 1.5: Tümore neden olan faktörler (Yavuz,2016).	14
Şekil 1.6: Hücre döngüsü evreleri (Aktuğ, 2014)	15
Şekil 1.7: Apoptozun morfolojik görünümü (Erdoğan ve Uzaslan,2003)	16
Şekil 1.8: Kültür ortamında normal hücrelerin ve kanser hücrelerinin proliferasyonu (Duman,2018).....	18
Şekil 1.9: Kansere hücresinin özellikleri (Hanahan ve Weinberg,2011).....	18
Şekil 1.10: MTT metodunda gerçekleşen kimyasal Değişim (Günerhan,2015).....	22
Şekil 2.1: Clevenger cihazı ile <i>Lamium purpureum</i> L. yağ eldesi.....	25
Şekil 2.2: Çalışmada kullanılan hücre soylarının görüntüleri.....	27
Şekil 2.3: MTT testinin yapılışı (Erkekoğlu ve Baydar,2021).....	29
Şekil 2.4: Koloni formasyon deneyinin akışının şematik olarak gösterimi (Gökhaner,2018)	30
Şekil 2.5: Yara iyileşme testi şematik gösterimi (Duman,2018)	31
Şekil 3.1: Mtt test sonucu grafikleri; 24, 48 ve 72 saatlik maruziyet sonrası <i>Lamium purpureum</i> yağına karşı Hep3B, PC3, SW480 ve HUVEC hücre hatlarında inhibisyon yüzdesi olarak ifade edilen hayatta kalma diyagramlarını göstermektedir. Değerler, üç bağımsız deneyin ortalaması \pm SD olarak verilmiştir.....	35
Şekil 3.2: 0 s Hep3B yara testi tekrarları	37
Şekil 3.3: 6 s Hep3B yara testi tekrarları	37
Şekil 3.4: 24 s Hep3B yara testi tekrarları	38
Şekil 3.5: <i>L.purpureum</i> yağının Hep3b hücre hattında hücre migrasyonuna etkileri	38
Şekil 3.6: Hep3B hücrelerinde koloni oluşumu analizine ait temsilî görüntülerdir.....	39
Şekil 3.7: <i>L.purpureum</i> yağının Hep3b hücre hattında koloni oluşumu üzerindeki etkisi	39
Şekil 4.1: <i>L.purpureum</i> yağının Hep3b hücre hattında yara iyileşmesi ve koloni oluşumu üzerindeki etkileri	44

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Flavonoidlerin yüzde miktarları (Erbil, 2012)	4
Tablo 1.2: Terpenlerin izopren birimi ve C atomu sayılarına göre sınıflandırılması (Abak,2018)	7
Tablo 1.3: Soxhlet ekstaksiyonunun avantajları ve dezavantajları (Akkoyunlu,2019).....	11
Tablo 1.4: Mikrodalga ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajlar (Akkoyunlu,2019)	11
Tablo 1.5: <i>in vitro</i> sitotoksisite testlerinin avantajları ve dezavantajları (Yavuz, 2016)....	20
Tablo 2.1: Hücrelerin büyütülmesi ve pasajlanması işlemleri sırasında kullanılan çözeltiler	28
Tablo 2.2: MTT testinde kullanılan çözeltiler	29
Tablo 3.1: Uçucu yağ bileşenleri	33
Tablo 3.2: Kontrol grubuna göre yağ uygulanan grupta yapılan istatistiksel analizin anlamlı ve anlamlı olmaması değerlendirilmiştir. ((+) işareti kontrol grubu ile yağ uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı, (-) işareti ise kontrol grubu ile yağ uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı değil).....	36

SEMBOL LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
ATP	: Adenozin trifosfat
C	: Karbon atomu
CO ₂	: Karbondioksit
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EDTA	: Ethylendiamintetrasedik Asit
FSC	: Fetal Sığır Serumu
g	: Gram
GC-MS	: Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
HCL	: Hidroklorik Asit
HEP3B	: İnsan Karaciğer Kanseri hücre hattı
HUVEC	: Human Umbilical Vein Endothelial cells
L.	: Linne
<i>L. purpureum</i>	: <i>Lamium purpureum</i>
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür
MTS	: [3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum
nm	: Nanometre
O ₂	: Oksijen
pH	: Hidrojen Gücü (Power of Hydrogen)
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PMS	: Fenazin Methosulfate
PC-3	: Prostat hücre hattı
ppm	: Milyonda birbirim
rpm	: revolutions per minute
RRI	: Relative Retention Index
s	: Saat
SW-480	: İnsan kolon kanseri hücre hattı
XTT	: 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid
WST	: 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam sırasında sürekli beni destekleyen yol gösteren değerli tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Berna SANÖN'e ve değerli hocam Prof. Dr. Hatice YILDIRIM'a sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Bu süreçte hayatımın her alanında beni destekleyen değerli eşim Yusuf TOPRAK'a, aileme, dostlarıma teşekkür ederim. Onların teşvikleri ve değerli katkıları olmadan bu çalışmayı tamamlamak mümkün olmazdı.

Üzerimde emeği olan sevgili arkadaşım Hazal Naz TÜRKMEN ve çalıştığım kurumda yüksek lisans yapmamı destekleyen sevgili yöneticim Hasan Emre AKIN'a sonsuz teşekkürlerimi iletmek isterim.

Bu süreçte 3 yaşında bir oğlumun olması benim için hem motivasyon kaynağı ve hem de zorlu bir deneyim oldu. Çalışan ve yüksek lisans sürecinde olan bir anne olarak bunu başardığım için mutlu olduğumu söylemek isterim. Bu dengeyi sağlamak benim için büyük bir öğrenme süreci oldu ve araştırmamı tamamlamama katkı sağladı.

Tezimi hazırlarken, birçok makale, birçok tez inceleme fırsatı buldum ve bu süreçte edindiğim bilgiler beni daha derin bir anlayışa yönlendirdi. Umarım bu çalışma gelecekteki araştırmalara veya uygulamalara katkıda bulunur.

Son olarak, bu çalışmanın gelecekteki çalışmalara faydalı olmasını ve bu alanda perspektif sunmasını ümit ediyorum.

Balıkesir, 2025

Kader TOPRAK

1. GİRİŞ

Bitkiler insanların yeryüzünde varolduğu andan itibaren ve günümüze kadar hayatın vazgeçilmez temel kaynaklarından biri olmuştur (Turan ve ark, 2012). Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı da neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir. Kuzey Irak'ta 1957 yılında Şanidar Mağarasında yapılan kazılarda ve bir şamana ait olduğu düşünülen mezarda çeşitli bitkiler (civanperçemi, ebegümece, peygamber çiçeği ve gül hatmi gibi) bulunmuştur. Bu mezarda bulunan öğeler insanlarla bitkilerin ilişkisinin ilk zamanlarına ait bir veri olarak kabul edilmektedir (Arslan ve ark,2015).

Ülkemizin coğrafi konumu, jeolojik yapısı, farklı iklim koşullarının yaşanması ve farklı toprak tiplerine sahip olmasından dolayı bitki çeşitliliği açısından zengin olmasını sağlamıştır. Asya, Avrupa ve Afrika kıtalarının kesişim noktasında olması, tür çeşitliliğini artmasını sağlayan önemli bir etken olmuştur. Türkiye, Güney Avrupa ve Güneybatı Asya floraları arasında bir köprüdür. Bu durum pek çok ekolojik ve bitkilerin coğrafi dağılımındaki farklılaşma ile ilgili olarak endemik bitki türlerinin de oluşumunu etkilemiştir (Erbil,2012).

Dünya Sağlık Örgütü 91 ülkede bir araştırma yapmıştır. Yapılan araştırmaya göre 20.000'den fazla bitki türü kimyasal ilaçlara alternatif olarak kullanılabilir (Çağlıyan,2022). Bitkilerin tedavi edici olarak kullanımı incelendiğinde, Dünya nüfusunun %80'inin bitkisel ilaçlarla tedavi olduğunu Dünya Sağlık Örgütü verileri de desteklemektedir. Türkiye'de tıbbi amaçlı kullanılan yaklaşık 600 bitki olduğu bilinmektedir (Sarı ve ark, 2010).

Lanium cinsine ait bitkiler, bünyelerinde barındırdıkları uçucu yağlar sayesinde tedavi edici olarak da kullanılmaktadır. Bu sebeple fitokimyasal araştırmalar için yaygın bir kaynak olmuşlardır. Türkiye'de birçok Lamium türü bulunmaktadır ve bu türlerin spazm giderici, damar ve doku büzücü, idrar söktürücü, balgam söktürücü gibi faydalara sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte hipertansiyon, kırık, travma gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadırlar (Yırtmaz, 2022). Anadolu'da *L. album*, *L. maculatum* ve *L. Purpureum*'un tonik olarak kullanıldığı ve doğal tedavi yöntemi olarak kabızlık tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Bitkinin kurutulmuş çiçekleri kas spazmlarını önleyici ve iltihaplanmayı azaltıcı etkilerinden dolayı halk arasında tedavi edici olarak

kullanılmaktadır. Bu özellikleri dikkate alındığında hayvan denekleri ile yapılan çalışmalarda; çeşitli iltihabi hastalıkları önleyici ve azaltıcı etkileri yanında, özellikle kan durdurucu etkisi ile tıpta kullanılabilecek tedaviler için alternatif oluşturmaktadır (Akkol ve ark,2008 ;Roman ve ark,2016). *Lamium* taksonları arasında kimyasal içeriklerin bölgesel olarak da farklılık gösterebildiğine ait çalışmalar vardır. Bu nedenle son yıllarda antioksidan, antifungal, antimikrobiyal aktiviteleri yanında iltihap önleyici, hücre büyümesini engelleyeci madde arayışlarında ön plana çıkmışlardır (Akkol ve ark ,2008; Roman ve ark, 2016). İnsanlarda yaygın olarak görülen eklem kireçlenmesi tedavisinde Lamiaceae familyasına ait, *Thymus longicaulis*, *Lamium purpureum* gibi türlerden elde edilen uçucu yağların tedavide önemli potansiyelleri bulunmaktadır (Çatak ve Atalay,2022).

Bitkilerden üretilen farklı bileşenler, son yıllarda kanser tedavisine alternatif olarak kullanılmaktadır. Bu bileşenlerin normal hücrelerde sitotoksik etki göstermemesi sadece kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermesi amaçlanır. Bu bileşenler, redoks dengesini değiştirerek hücre döngüsünü durdurma yeteneğine sahip olup, tümörün gelişmesini ve ilerlemesini engelleyebilir (Akkoyunlu,2019). Son yıllarda, kanser ilaçlarının geliştirilmesinde bu gibi bitkilerin tedavilerde etkili sonuçlarının bulunması nedeni ile türlerin korunması ön plana çıkarmıştır (Akkoyunlu ve Dulger,2019).

1.1 Lamiaceae Familyası

Lamiaceae familyası 1789 yılında De Jussieu tarafından ilk kez isimlendirilmiştir. De Jussieu ilk isimlendirdiğine Labiatae ismini vermiş ama 1836 yılında Lindley tarafından ismi değiştirilmiştir. Yeni ismi Lamiaceae olmuştur. Lamiaceae familyası birleşik çiçek yaprağına sahip familyalar içerisinde gelişmişlik düzeyi ileri seviye olarak kabul edilen bir familyadır. Genellikle açık yerleşim alanlarına uyum sağlamışlardır. Lamiaceae türlerinin büyük çoğunluğu hermafrodittir. Türkiye'deki endemik tür sayısına bakıldığında Lamiaceae familyası en fazla endemik tür sayısına sahip olan büyük familyalardan biridir (Davis, 1982; Saltan, 2021).



Şekil 1.1: Lamiaceae familyasının dünya üzerindeki dağılışı (Erbil 2012)

Lamiaceae, halk arasında ballıbabagiller ya da nane ailesi olarak da bilinen çiçekli bitkilerden oluşan geniş bir bitki ailesidir (Şekil 1.1.). Bu familyaya ait bitkiler genellikle aromatik özelliklere sahiptir. Yapraklarında veya çiçeklerinde uçucu yağ bileşikleri bulundurlar. Lamiaceae familyasındaki bitkiler halk arasında genellikle çay ya da baharat olarak kullanılır. Bununla birlikte Lamiaceae familyasına ait bitkiler ülkemizin ihracat ürünleri arasında önemli bir yere sahiptir. Birçok cinsi güzel görünüşü ve hoş kokuları dolayısıyla yetiştirilmektedir (Erbil,2012).

Lamiaceae familyası ile ilgili 1978-1991 yılları arasında kimyasal içeriğiyle ilgili yapılan 2889 çalışma olduğu bilinmektedir. Bu çalışmalarda Lamiaceae familyasını üyelerinin flavonoid içeriği belirlenmiştir ve flavonoid içeriğinin büyük bir kısmı flavonlardan oluşmaktadır (Erbil,2012) (Tablo 1.1). Bitkilerde yoğun miktarda bulunan flavonoidlerin güçlü birer antikanser ajanı olduğu bilinmektedir. Antimutajenik ve büyüme baskılayıcı etkileriyle birlikte hücre sinyal iletimi ve hücre döngüsünün kontrolündeki görevleri antikanser aktivede önemli rol oynarlar (Akkoyunlu,2019).

Tablo 1.1:Flavonoidlerin yüzde miktarları (Erbil, 2012)

Flavonid ismi	Yüzde miktarı
Flavon	%60
Flavonol	%16
Flavonon	%20
Dehidroflavonol	%2
Kalkon	%2

Lamium'un her türünün mikroorganizmalara ve oksidatif strese karşı etkili bileşenler olmasının yanında antikanser özelliklere de sahip olduğu bilinmektedir. Bu bitkiler sitotoksik özelliklerini genellikle kanser hücrelerini apoptoza teşvik ederek göstermektedir. Bu sebepten dolayı bu türlerden elde edilen uçucu yağlar ve bitki ekstraktları alternatif veya destekleyici kanser tedavisi sağlayabilmektedir (Güner,2023).

1.1.1 *Lamium purpureum* L. (Ballıbaba)

Alem: Plantae

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Altsınıf: Asteridae

Takım: Lamiales

Familya: Lamiaceae (Labiata)

Cins : Lamium

Tür: *Lamium purpureum* L.



Şekil 1.2: *Lamium purpureum* L.

Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'dan yayılan bu bitkinin türlerinin hepsi otsudur. *Lamium purpureum* L. tohum ve gövdeden gelişip kökleri sayesinde hızlıca yayılır. Çok farklı toprak koşullarına adapte olabilirler (Akkoyunlu,2019). Çiçek gelişimi genellikle Mart-Nisan-Mayıs aylarında görülür (Davis,1982; Deveci ve ark,2016) (Şekil 1.2). Bu bitkinin polenleri %25 oranında protein içermektedir. Bu bitkiye ait polenler 261 ppm potasyum, 63 ppm magnezyum, 28 ppm demir içermektedir (Cınbirtoğlu,2014). Arı yetiştiriciliğinde yapılan bir çalışmada bal arılarının Mart ve Nisan aylarında *Lamium purpureum* L. bitkisine ait polenleri tercih ettiği görülmüştür (Deveci ve ark,2016).

Ballıbaba türlerinin çiçekleri iki dudaklıdır ve pembe,koyu kırmızımsı, morumsu gibi değişen renklere sahiptirler. Çiçekler genellikle 10-18 mm uzunluğundadırlar (Deveci ve ark,2016; Solmaz,2009). Çiçekler genellikle yoğundur ve tepede sapın etrafında bulunmaktadır(Akkoyunlu,2019). Taksonomik açıdan ilgi çeken anatomik özellikleri şunlardır;

- Gövde ve yaprak saplı köşelerinde kollenkima varlığı veya yokluğu,
- Kökte yıl dairesinin sayısı,
- Yaprak saplarındaki iletim demetlerinin şekli
- Yaprak özellikleri
- Tüy örtüsü (Atalay ve ark,2016).

1.1.1.1 *Lamium purpureum* L. nin Kimyasal Yapısı

Lamium (ballıbaba) cinsinin ayırt edilmesinde kullanılan kimyasal bileşenler arasında şunlar sayılabilir,

- Hidroksisinamik asitler
- İridoid ve sekiridoidler gibi terpenoid bileşikler,
- Bitkisel pigmentler (Flavonoidler),
- Antosiyanin aglikonu,
- Fenolik bileşikler,
- Bitkisel savunma bileşenleri,
- Trimetilhlysinler (Betainler),

Bu bileşenler, *Lamium*'un çeşitli biyolojik aktivitelerini ve farmakolojik potansiyelini desteklemektedir (Salehi ve ark,2019). *Lamium*da bulunan bu kimyasalların varlığı, *in vitro* ve *in vivo* testlerle belirlenen çeşitli biyolojik etkiler gösterebilir. Bu etkiler arasında şunlar yer alır:

- Antioksidan
- Antiinflamatuvar
- Antimikrobiyal
- Antişistozomal (paraziter hastalıklara karşı etkili)
- Romatizma ve Artrit'te ağrı kesici
- Kabızlık tedavisi destekleyici
- Antinosiseptif (ağrı algısını azaltıcı)
- Antikanser

Lamium türlerinin biyolojik aktivitelerinin çoğu, temel bileşenlerine, yani bünyelerindeki fenolik bileşiklere ve uçucu yağlara bağlanmaktadır (Salehi ve ark,2019).

Yapılan bir çalışmada *Lamium purpureum* L. bitkisinde almitik asit, 7-tetradecenal, octadecadienoik asit, asetik asit, etil 9,12,15-oktadecatrienoat, hegzatriakontan, stearat ve benzil benzoatın ana bileşenler olarak belirlendiği tespit edilmiştir (Akkoyunlu ve Dülger, 2019).

1.2 Esansiyel Yağlar

Halk arasında uçucu yağ, esansiyel yağ veya aromatik yağ gibi farklı isimlerle adlandırılabilen bitkilerin uçucu yağları, bitki kimyasının başlıca bileşenleri arasında yer almaktadır. Esansiyel yağlar bitkilerin farklı bölgelerinden (yaprak, çiçek, kabuk, tohum

ve kök) elde edilir. Genelde ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilirler ve oda sıcaklığında genellikle sıvı formdadırlar. Bu bileşenler, buldukları bitkiye karakteristik bir koku ve yakıcı bir tat kazandırırken, oda sıcaklığında uçucu ve kokulu olmaları en belirgin özelliklerindedir(Beyaz,2014).

Yaklaşık 3000 civarında esansiyel yağın olduğu bilinmektedir. Bunlardan yaklaşık 300 tanesi ticari öneme sahiptir. Esansiyel yağlar, içerisinde çeşitli bileşenler barındıran karışımlardır. Bu sebeple biyolojik faaliyetleri çeşitlilik göstermektedir. Bünyesinde barındırdıkları etken maddenin özelliklerine göre etki dereceleri farklılık göstermektedir. Esansiyel yağların kendisi veya içerisindeki bazı bileşenler farmakolojide, gıda sanayinde, alkollü içeceklerde, kozmetik ve parfümeri gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bunun yanında doğal tedavi yöntemi olarak halk arasında kullanılmaktadır (Beyaz, 2014; Turhan,2015).

Uçucu yağların çoğu hafiftir ve su ile karışım oluşturmazlar. Sulu etonelde çözünebildikleri için diğer yağlardan ayrılırlar (Gültepe,2013). Kimyasal yapılarındaki en büyük grup sekonder metabolit olan terpenlerdir. Oksijenli formları uçucu yağların en önemli formlarıdır. Terpenlerin oksitlenmesiyle oluşan formlar uçucu yağın kendine has koku ve terapotik özellik kazanmasını sağlar. Terpenler uçucu yağların temel yapısıdır ve belli sayıda izopren birimlerine sahiptirler. Terpenler izopren birimi ve C atomu sayılarına göre sınıflandırılırlar (Abak,2018) (Tablo 1.2).

Tablo 1.2:Terpenlerin izopren birimi ve C atomu sayılarına göre sınıflandırılması (Abak,2018)

Terpenler	İzopren birimi sayısı	Karbon atomu sayısı
Monoterpenler	2	10
Seskiterpenler	3	15
Diterpenler	4	20
Sesterpenler	5	25
Triterpenler	6	30
Karotenoitler	8	40
Politerpen	>100	>500

Terpenlerin yanında az miktarda alkoller, aldehitler, esterler, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşenler de bulunmaktadır. Bu bileşenlerin kırılma indeksleri genellikle yüksektir ve optikçe aktif (Asimetrik karbon atomu bulundurma) özelliktedirler. Işık ve oksijenin

etkisiyle reçineleştiklerinden dolayı uzun süreli saklanması için koyu renkli şişelerde ve ağzı kapalı şekilde muhafaza edilmelidir (Kılıç,2008). Uçucu yağların içerisinde yağ miktarının oranı yağın verimidir. Uçucu yağların büyük bir bölümü yüksek verimlidir (Gültepe,2013).

Antimikrobiyal özelliklere sahip uçucu yağların büyük bir çoğunluğu, hidroksil gurubu bulunan fenolik bileşiklerden oluşmaktadır. Antimikrobiyal aktiviteleri, bünyelerinde bulunan fenolik bileşenlerden, aldehitlerden ve organik asitlerden kaynaklanmaktadır. Uçucu yağlarda bulunan fenol türevi bileşikler, mikroorganizmaların enzimatik sistemlerinin bozulmasına yol açabilir. Böylece canlının enzimatik faaliyetlerini durdurabilir. Fenolik bileşikler hücrenin besin maddesini alımını engelleyebilir veya hücre zarının hassaslaşmasına sebep olabilir. Nihayetinde hücredeki protonların hareket dengesinin bozulması ve ATP üretimi yapılamaması hücre ölümünün ana sebebi olur (Turhan,2015).

Esansiyel yağlar,son zamanlarda kanser hastalığını tedavi etme potansiyellerinin varlığı açısından araştırmalara konu olmuşlardır.Yapılan araştırmalar esansiyel yağların kanser hücrelerini hedef alabildiğini göstermiştir. Bununla birlikte kanser hastalarına esansiyel yağ uygulandığında yaygın olarak kullanılan kemoterapi ilaçlarının etkisini arttırabildiği gözlemlenmiştir (Akkoyunlu,2019).

Esansiyel yağlar, kanser hastalarında aromaterapi yoluyla da tedavide tamamlayıcı rol oynarlar. Ağrı yönteminde tamamlayıcı tedavi olarak kullanılabilir. Aromaterapi sinir sistemini uyarak serotonin ve endorfin gibi hormonların salınımını tetikleyerek ağrının giderilmesinde etkili olmaktadır. Aromaterapide kullanılan esansiyel yağlar lenfosit seviyesini yükselterek İmmün sistem üzerinde de olumlu etkiler bırakmaktadır. Kanser hastalarının bir diğer problemi olan yorgunluğun giderilmesinde de esansiyel yağlardan faydalanılmaktadır. Uçucu yağın solunması ile gerçekleştirilen aromaterapinin; yorgunluk ,depresyon ve uykusuzluk gibi bazı fiziksel problemler için de etkili olduğu bilinmektedir (Akeren ve Hintistan, 2021).

1.2.1 Uçucu Yağ Elde Etme Metodları

Esansiyel yağ elde edilmesinde esansiyel yağın bitkide bulunduğu yer ve bitkide miktarı etkilidir. Bu parametreler doğrultusunda çeşitli yöntemlerle esansiyel yağ elde edilebilir

Esansiyel yağ elde edilmesinde Destilasyon,Ekstraksiyon ve Presyon gibi yöntemler kullanılmaktadır (Akkoyunlu,2019).

1.2.1.1 Destilasyon

Destilasyon çok eski bir yöntemdir ve aynı zamanda en yaygın kullanılan yöntemdir. Buhar sayesinde ana malzemeden uçucu yağları meydana getiren bileşenlerin ayrılması ilkelerine dayanır (Çalikoğlu ve ark,2006).Temel prensibi,birbiriyle karışmayan iki sıvının buhar basınçlarının toplamının dış basınca eşit olduğu ve her iki sıvının da birlikte kaynatılması esasına dayanır. Birbiriyle karışmayan ve kaynama noktaları farklı olan iki maddeden oluşan karışım ısıtılır ve düşük kaynama noktasına sahip bileşen önce buharlaşır. Oluşan buhar bir soğutucu yardımıyla soğutulur ve sıvı hale getirilir. Ardından sıvı bir kaptan toplanır. Bu şekilde içerisinde uçucu yağ bulunduran droglar destilasyon yöntemiyle hiç bozulmaya uğramadan veya çok az bir bozulmaya uğrayarak elde edilebilirler (Abak,2018). Destilasyonun; Su Destilasyonu, Buhar Destilasyonu ve Vakum destilasyon gibi çeşitleri vardır (Akkoyunlu,2019).

1.2.1.1.1 Su Destilasyonu

Uçucu yağların elde edilmesinde en sık kullanılan yöntemdir.Bu yöntem, kaynama sırasında bozulmayan taze ve kuru bitki materyaline uygulanabilir. Yöntem, soğutucu ile bağlantılı bir balon içerisinde su ve bitki materyalinin kaynatılmasıyla, buhar gücüyle hareket eden uçucu yağ moleküllerinin soğutucu aracılığıyla yoğunlaştırılarak sudan ayrılması esasına dayanır. Ortaya çıkan uçucu yağ çok miktarda değildir ve volümetrik olarak ifade edilmektedir (Cellat,2011).

1.2.1.1.2 Buhar Destilasyonu

Bu işlemin prensibi bitkideki uçucu bileşenlerin su buharı yardımıyla sürüklenerek ayrılması esasına dayanır. İşlem basamaklarından ilki dışarıdan bir su banyosu veya mantolu ısıtıcı yardımı ile ısıtılan destilasyon ünitesine bitkisel materyalin yerleştirilmesidir. Buharlaşan suyla birlikte uçucu yağ soğutucudan geçerken yoğunlaşır ve toplama kabında birikir. Bir süre sonra yoğunluk farkından dolayı su ve yağ ayrılır. Uçucu yağ sudan daha ağır ise kabın dibine çöker. Bu durumda su ile karışmayan bir organik çözücü ile ekstrakte edilerek yağın ayrımı sağlanır (Yaman,2017).

1.2.1.1.3 Vakum destilasyonu

Bu yöntem kaynama noktaları çok yüksek olan ya da kaynama noktasında bozulabilen bileşikler için kullanılır. Kaynama, buhar basıncı dış ortamdaki basınç ile eşitlendiğinde gerçekleşir. Kaynamanın gerçekleşmesi için sıcaklığı arttırmak değil de basıncı düşürmek etkili olur. Böylece materyalin daha düşük sıcaklık ile kaynaması sağlanır (Akkoyunlu, 2019).

1.2.1.2 Ekstraksiyon

Ekstraksiyon katı veya sıvı formdaki bileşenlerin, çözünme özelliklerinin farklılığına göre ayrılması işlemidir. Bir çözücü kullanarak maddenin içindeki istenilen bileşenlerin çıkarılmasını ifade eder (Akkoyunlu,2019).

Destilasyon yöntemi genellikle iyi bir saflık ve hoş bir aroma sağlar. Ancak bu yöntem, sabit olmayan veya yüksek buhar basıncına duyarlı aromatik bileşiklere uygulandığında verimi olumsuz yönde etkileyebilir. Bu etkenler dikkate alındığında koku bileşenlerinin çiçeklerden ayrılabilmesi için farklı çözücüler ile ekstraksiyon işlemi yapılır (Cellat,2011). Ekstraksiyonun Soxhlet Ekstaksiyonu ve Mikrodalga ekstraksiyonu gibi çeşitleri vardır (Akkoyunlu,2019).

1.2.1.2.1 Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet Ekstaksiyonu orjinal bir katı materyelden sıvı ekstraksiyonu için Franz Von Soxhlet tarafından geliştirilmiştir. Basıncılı Solvent ekstraksiyonu, yüksek basınç ve sıcaklıktaki solventlerin kullanıldığı katı materyalden analitlerin ekstrakte edilmesine yarayan bir yöntemdir. Bu yöntemde fazla miktarda örnek ekstrakte edilebilir ve filtasyon gerektirmez. Basit bir metodolojisi vardır fakat uzun zaman alır (Akkoyunlu,2019) (Tablo 1.3).

Tablo 1.3: Soxhlet ekstaksiyonunun avantajları ve dezavantajları (Akkoyunlu,2019).

Avantajı	Dezavantajı
Fazla Miktarda örnek ekstrakte edilebilir.	Fazla miktarda organik solvent kullanılır
Filtrasyon gerektirmez	Uzun zaman alır
Basit bir metodoloji vardır	Ekstraksiyon sonrası buharlaştırma/deriştirme basamağı vardır
Uygun maliyetli basit ekipman kullanılır	

1.2.1.2.2 Mikrodalga Ekstraksiyonu

Mikrodalga ekstraksiyonu klasik yöntemlere göre daha farklıdır. Elektromanyetik dalganın neden olduğu hücre yapısındaki değişiklikler sonucu ortaya çıkan ekstraksiyon işlemidir. Düzgün ve hızlı ısıtma özelliği en önemli avantajlarından (Akkoyunlu,2019). Mikrodalga enerjisinin etkinliği çözücünün içeriğine, bitki materyaline ve uygulanan mikrodalga gücüne bağlı olarak değişmektedir. Mikrodalga ekstraksiyonu iki ayrı yöntem ile gerçekleştirilir. En sık kullanılan yöntem,kapalı sistem ekstraksiyonudur. kapalı sistem ekstraksiyonunda sıcaklık ve basınç kontrol edilebilir. İkinci yöntemse açık sistem ekstraksiyonudur. Bu yöntem de çözücü dış ortamla doğrudan etkileşime girer. Mikrodalga ekstraksiyonu ile bitkilerdeki polifenoller ve liganlar ayrışabilmektedir (Cellat,2011). Bu yöntem hızlı sonuçlanır ve ekstraksiyon parametreleri kontrol edilebilir fakat bu yöntemde seçilen solventlerin mikrodalga ışımasını absorplanır (Akkoyunlu,2019) (Tablo 1.4).

Tablo 1.4:Mikrodalga ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajlar (Akkoyunlu,2019)

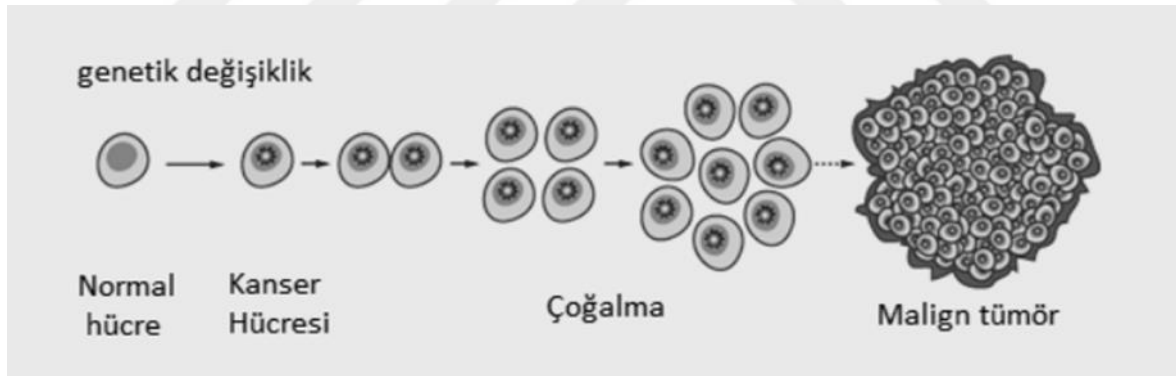
Avantajı	Dezavantajı
Hızlı sonuçlanır	Seçilen solventler mikrodalga ışımasını absorplayabilir
Ekstraksiyon parametreleri kontrol edilebilir	Temizleme gerektirir
Kurutucu ajanlar gerektirmez	

1.2.1.3 Presyon

Presyon bir presleme yöntemidir. Yağın verimi kullanılan bitki türüne ve presleme koşullarına bağlı değişebilir ama genel olarak diğer uçucu yağ elde etme yöntemlerine göre daha düşüktür. Bununla birlikte bu işlemde sıcaklık uygulanmadığı için yağın kimyasal yapısı bozulmaz ve kalitesi yüksek olur (Çalikoğlu ve ark,2006). Narenciye (bergamot, greylift, limon, portakal ve mandalina) yağları gibi daha yoğun uçucu yağlar destilasyon yönteminde bozulabildiği için genellikle bu bitkilerden uçucu yağ etmede presleme kullanılır. Narenciye kabukları hazırlanır soğuk presleme kullanılarak uçucu yağ eldesi gerçekleştirilir (Cellat,2011).

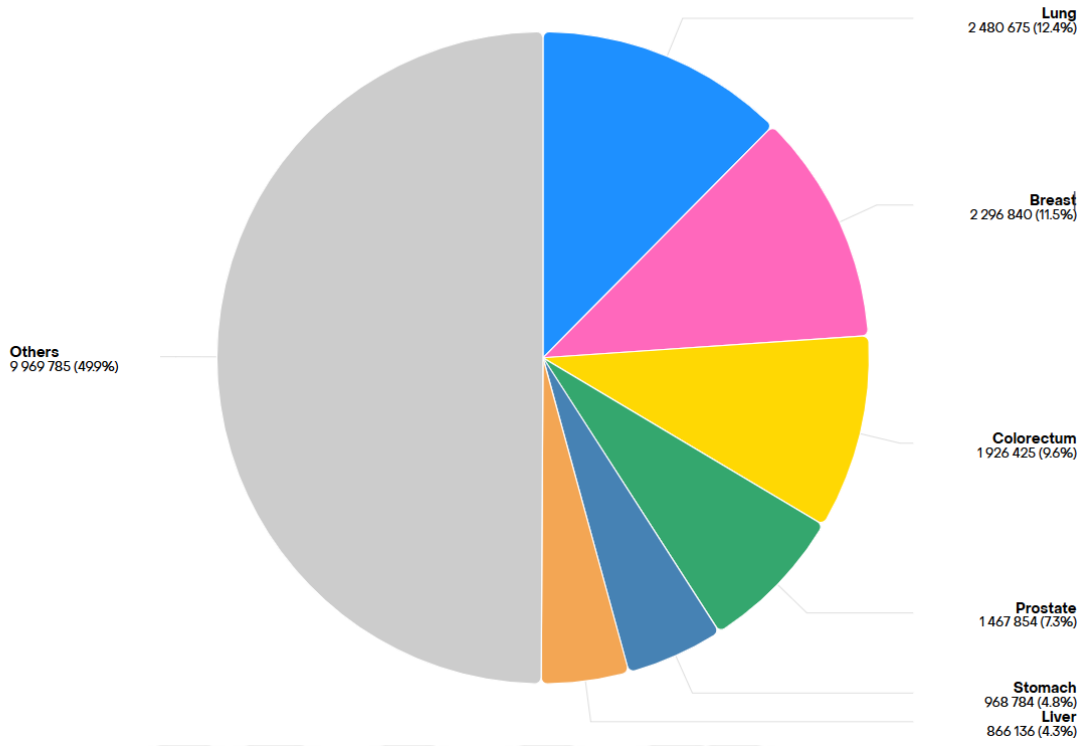
1.3 Kanser

Kanser, DNA hasarının sonucunda hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünüp çoğalarak büyümesi ve yayılması olarak ifade edilebilir. Bu hücreler olağan sınırları dışında büyüyerek, çevresinde bulunan normal hücreleri işgal edip diğer organlara da yayılırlar. Normal hücrelerde bölünme sayısı sınırlı iken kanser hücrelerinde bu şekilde değil tam tersi bir durum söz konusudur (Felekoğlu,2021) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3: Kanserin gelişimi (Yavuz,2016)

Kanserin gelişiminde genetik faktörlerin yanı sıra çevresel etmenlerin de önemli bir rolü vardır. Kanseri, profili az gelişmiş ve gelişmiş ülkelerde birbirinden farklılık göstermektedir (Felekoğlu,2021). Uluslararası kanser ajansı verilerine göre dünyada en sık görülen kanserler arasında akciğer kanseri ve göğüs kanseri vardır (Şekil 1.4). Türkiye’de erkeklerde mesane, akciğer ve mide kanseri sık görülürken, kadınlarda ise kolorektal ve meme kanseri daha sık görülmektedir (Felekoğlu,2021).



Şekil 1.4: Kanser vakaları dağılım grafiği (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı,2024)

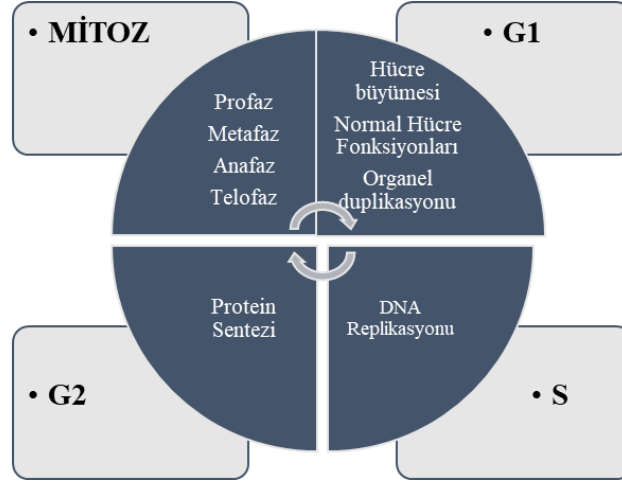
Kanser görülme sıklığı ve ölüm oranlarındaki artış ülkeden ülkeye değişmektedir. Ülkelerin ekonomik düzeyleri, sosyal ve kültürel yaşam tarzları gibi unsurlara bağlı olarak bu oranlar değişiklik gösterir (Tok, 2019). Batılı toplumlarda kanser gelişme oranı 1/3'tür ve kansere yakalananların 1/5'i yaşam kaybı ile sonuçlanmaktadır. Kanser görülme sıklığında Türkiye 10 ülke arasında 2.sıradadır (Akeren ve Hintistan, 2021). Tüm kanserler DNA dizisindeki birtakım bozulmalardan kaynaklanmaktadır. Kanserlerin %10-%15 ebeveynlerden kalıtım yoluyla aktarıldığı kalan %85-90'lık bölümün ise yaşam sürecinde DNA'nın maruz kaldığı çevresel faktörler ile yapısının bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çevresel faktörlere maruz kaldığımız kimyasal maddeler, ilaçlar, aflatoksinler, yağlı yiyecekler, yanmış yağ içeren besinler gibi örnekler verilebilir. Bununla birlikte sigara, alkol, asbest, kömür tozu gibi etkenlerde kansere sebep olabilmektedir. Human papilloma, T hücreli lösemi virüsü gibi biyolojik etmenler de hücrede bozulmaya yol açarak kanser oluşturabilirler. Radyasyon, güneş ışığı, gama ışınları, ultraviyole ışınlar da kansere sebep olabilecek etmenlerdir (Yokuş ve Çakır,2012) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5: Tümöre neden olan faktörler (Yavuz,2016).

1.3.1 Hücre Siklusı ve Hücre Döngüsü

Normal dokularda hücre bölünmesi, genetik olarak özdeş iki hücre üretilmesini sağlamak için çok organizmanın ihtiyaç duyduğu bir süreçtir. Bu süreç evrimsel olarak korunur ve hücre döngüsü kontrol mekanizmalarıyla sıkı bir şekilde düzenlenir. Hücre döngüsü denetim noktaları, döngünün aşamaları arasında hücrenin düzgün bir şekilde ilerleyip ilerlemediğini denetler. Hücre döngüsü sırasında oluşan genetiksel bozuklukların birikmesini ve sonrasında yayılmasını engeller. Denetim noktaları, hücre döngüsünün ilerlemesini geciktirebilir veya onarılamaz DNA hasarı oluştuğunda buna yanıt olarak hücrenin döngüden çıkışını sağlayabilir ya da hücre ölümünü başlatabilir (Mathhews ve ark,2002). Hücre döngüsü süreci hücrenin kendi kopyası olan iki hücreye çoğalması ile biyokimyasal olarak başlatılır. Hem iç hem de dış büyüme faktörleri ile düzenlenir. Kansere ilişkili mutasyonlar, hücre döngüsü kontrolünü bozarak hücrelerin döngüyü terk etme yeteneğini zayıflatır ve bu da sürekli hücre bölünmesine yol açar. Hücre döngüsü kontrol mekanizmaları ve kanserdeki rolü hakkında elde edilen yeni ve ayrıntılı bilgiler hücre döngüsü süreçlerinin kanser tedavisinde nasıl kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (Mathhews ve ark,2002). Organizmanın yaptığı bir faaliyet olan hücre döngüsünün süresi hücreler arasında farklılık gösterebilir ve canlıdan canlıya değişebilmektedir. Hücre döngüsü dört aşamada gerçekleşmektedir (Selçuk,2011; Yokuş ve Çakır,2012).



Şekil 1.6: Hücre döngüsü evreleri (Aktuğ, 2014)

Hücre dönüsü evrelerinde en önemli görülen aşamalar, DNA replikasyonunun gerçekleştiği S evresi ve hücrenin iki eş hücreye bölündüğü M evresidir. İnterfaz (G1-S-G2) sırasında hücresel içerik çoğaltılır ve mitozda genetik olarak özdeş 2 hücreye ayrılır. G1 evresinde hücre döngüye girme kararını verir. Hücre bölünmeden önce büyür. G1 evresinde DNA eşlenmesi olmamakla birlikte RNA ve protein sentezi devam eder. S Evresi sentez evresidir. DNA eşlenmesi S fazında gerçekleşir. S evresinde hücre genetik meteryalini çoğaltır ve hücre bölünmesinin temelini atar. G2 fazında hücre kromozom ayrılmasına yol açan süreci başlatma gibi önemli bir kararı verir. G2 evresinde DNA eşlenmesi olmaz ama RNA ve protein sentezinin devam eder (Matthews ve ark,2022; Williams ve Stoeber, 2011) (Şekil 1.6).

S fazını M fazından ayıran interfaz dönemleri olan G1 ve G2 boşluk fazları olarak adlandırılmıştır. G1, S fazından önceki ve G2 de S fazından sonraki fazdır. Bu boşluk dönemleri hücre döngüsünün düzenlenmesi için oldukça önemli dönemlerdir Matthews ve ark,2022; Williams ve Stoeber, 2011).

G1 aşamasında hücreler S fazına girmezlerse G0 fazı olarak adlandırılan ve tekrar hücre döngüsüne girmeden önce günlerce, aylarca ve yıllarca bu fazda olacağı bir duraklama dönemine girer. Bu döneme dinlenme dönemi denebilir (Aktuğ,2014).

1.3.2 Apoptoz

Apoptoz, organizmanın sağlığını korumak için hasarlı hücrelerin ortadan kaldırılmasını kapsayan, kontrollü ve programlanmış hücre ölüm yöntemidir. Apoptoz, organizmanın

yaşam döngüsünde hücrel dengeyi korumak amacıyla biyolojik sistemlerin dengeyi korumasına yönelik bir mekanizmadır (Tok, 2019) (Şekil 1.7).

Apoptoz patolojik ve fizyolojik açıdan çok önemli bir süreçtir. Apoptatik hücre sayısına bakılarak organizmanın sağlıklı olup olmadığı belirlenebilir. Apoptozun en ilginç yönü çevre dokularda herhangi bir yıkıma neden olmamasıdır. Bu özellik apoptozu, nekroz hücre ölümünden ayıran en önemli farktır. (Güner,2023; Dağdeviren,2021).



Şekil 1.7: Apoptozun morfolojik görünümü (Erdoğan ve Uzaslan,2003)

1.3.3 Tümör Baskılayıcı Genler

Tümör baskılayıcı genler, hücre siklusunda önemli bir yere sahiptir (Hanahan ve Weinberg, 2011). Tümör baskılayıcı genler, hücrenin bölünmesini ve büyümesini kontrol eden ve hücrelerin normal faaliyetlerini sürdürmesini sağlayan genlerdir. Bu genler, DNA hasarını onarıp gerektiğinde apoptoz sürecini başlatabilirler. Sağlıklı hücrelerde bu genler aracılığıyla şifrelenen proteinler DNA hasarı oluştuğunda veya dışarıdan büyümeyi sınırlandıran sinyallere yanıt olarak hücre döngüsünü durdurabilirler (Selçuk,2011). Tümör baskılayıcı genler, bir mutasyon ile değiştiğinde ya da aktif olma özelliğini kaybettiğinde hücre büyümesini ve onarımını kontrol etme etkileri daha az olur (Çetiner ve ark,2021). Bu şekilde görevlerini yerine getirmezler ve hücrenin döngüyü terk etme veya hücrenin dinlenme dönemine girmesini sağlama yetileri kaybolur (Ulusoy,2022). Bunun sonucunda döngü G1 fazında durmaz ve bir sonraki aşama olan S fazında sayıları 2 katına çıkar (Çetiner ve ark,2021). Kanser oluşumundaki temel sebep büyüme sürecinin denetimden uzak gerçekleşmesidir (Yokuş ve Çakır,2012). Kanser tipinin tümör baskılayıcı genlerden kaynaklandığını söyleyebilmek için iki ebeveynden alınan genin de mutasyona uğraması gerekir. Bir ebeveynden alınan gen mutasyona uğramış ama diğer ebeveynden alınan gen mutasyona uğramamışsa, sağlam gen fonksiyonları yerine

getirmeye devam eder. Sağlam olan gen de mutasyona uğrarsa tümör baskılanması engellenmiş olur (Ulusoy, 2022).

Sonuç olarak tümör baskılayıcı genlerin 3 ana görevi vardır.

1. Hücelere yavaşlamalarını ve bölünmeyi durdurmalarını söyleyerek hücre içindeki çoğalmayı kontrol etmek,
2. Hücre bölünmesinden kaynaklanan ve tümör oluşumuna neden olabilecek hücresel düzeydeki DNA hasarını onarmak,
3. Hasarlı hücrelerin programlanmış hücre ölümü (apoptoz) sürecini başlatmak (Çetiner ve ark,2021).

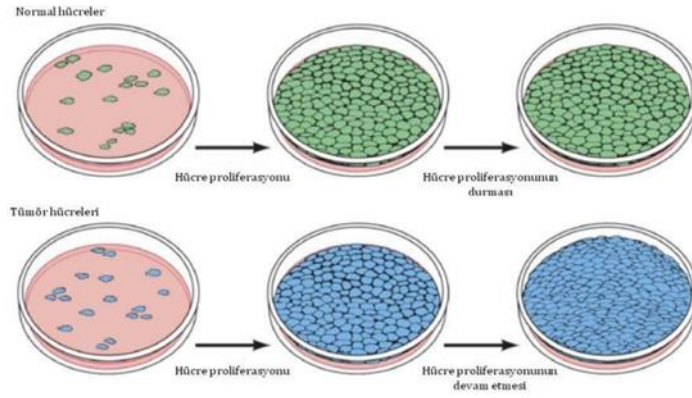
1.3.4 Onkogenler

Protoonkogenler hücre büyümesini kontrol eden genlerdir. Bu genler protein kodlarlar. Yapılarının değişmesi ya da etkilerinin artması sonucunda onkogen haline dönüşürler. Onkogenlerin bazıları hücreyi apoptozdan korur. Diğerleri ise büyüme faktör gereksinimini azaltır ve hücrenin sürekli olarak çoğalmasını sağlar. İnsanlarda kanserin başlaması ve ilerlemesi hücrelerde genetik değişimleri kapsayan çok aşamalı bir olaydır. Genetik değişimler onkogenlerin aktive olması ve tümör baskılayıcı genlerin aktivasyonunu kaybetmesine neden olur (Işıkdoğan ve ark,2003).

1.3.5 Kanser hücresinin özellikleri

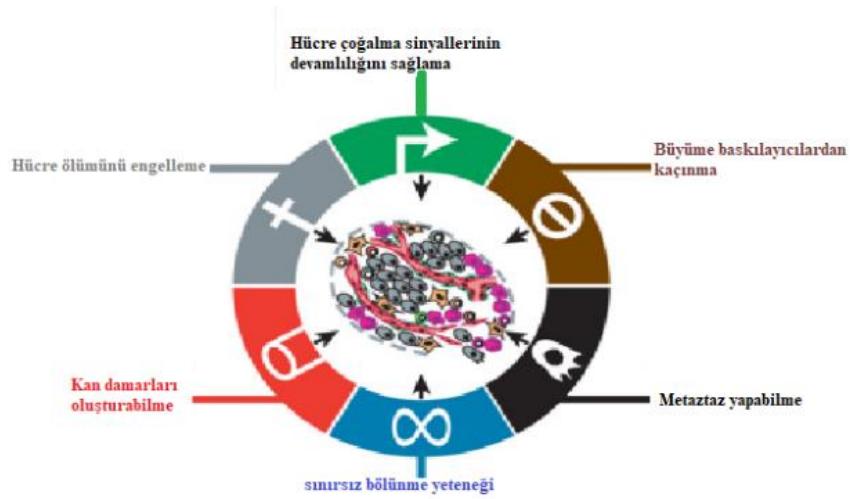
Kanser hücrelerin normal şekilde davranmasını düzenleyen mekanizmaların bozulması sonucu ortaya çıkar. Kanser gelişiminde, tek bir hücrenin genetik değişiklikler sonucu kontrolsüz bir şekilde çoğalması tümör başlangıcına neden olur (Duman,2018).

Kanser hücrelerinin belki de bilinen en temel özelliği proliferasyonu sürdürebilme yetenekleridir. Normal dokular, hücre büyümesini teşvik eden büyüme faktörleri tarafından dikkatlice kontrol ederler. Bu şekilde normal doku yapısı ve fonksiyonunun korunması sağlanır. Kanser hücreleri kendi büyüme faktörlerini oluşturup yönetebilirler ve çoğalma sinyalini devam ettirebilirler (Hanahan ve Weinberg,2011) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8: Kültür ortamında normal hücrelerin ve kanser hücrelerinin proliferasyonu (Duman,2018)

Kanser hücreleri damar oluşmasını hızlandıran büyüme faktörlerini salgılayabilirler. Kanser hücreleri çevredeki sağlıklı dokulardan oksijen ve besin maddesi alabilmek için yeni kan damarları oluştururlar. Kanser hücrelerinin damar oluşturma özelliği durdurulursa tümör büyümesi durdurulabilir (Duman,2018).



Şekil 1.9: Kanser hücrelerinin özellikleri (Hanahan ve Weinberg,2011)

Kanser hücreleri farklılaşmama özelliğine sahiptir. Normal durumlarda hücreler belirli bir fonksiyonu yerine getirecek şekilde özelleştikten sonra hücre bölünmesini durdurur. Kanser hücreleri ise kontrolsüz çoğalmaya devam eder. Normal hücrelerde farklılaşmanın

en önemli ögesi apoptozdur; fakat kanser hücrelerinde farklılaşmadığından apoptoz da meydana gelmez. Bu şekilde kanser hücresi daha uzun süre hayatta kalır(Hanahan ve Weinberg,2011).

Kanser hücreleri büyüme faktörlerinden kaçabilirler. Normal hücreler belli bir büyümeye ulaştıktan sonra hücre döngüsünü dış ortamdan alınan sinyallerle durdururlar. Döngüyü G0 evresine alırlar. Kanser hücreleri normal hücreler gibi yoğunluğa bağlı olarak büyümeyi durdurmazlar. Normal hücrelerle kanser hücrelerin önemli farklarından biri de normal hücrelerin büyüme faktörlerine ihtiyaç duyması, kanser hücrelerinin bu faktörlere daha az ihtiyaç duymasındır (Duman,2018; Hanahan ve Weinberg,2011) (Şekil 1.9).

1.4 Sitotoksite

Hücre kültürleri canlı dokuların vücut dışı bir ortamda yaşatılmasını ifade eder. Canlı dokuların sürekli olarak üretimi ve gelişmesi anlamına gelir ve temel olarak hücre yapısı, çoğalma, tamir mekanizmalarının değerlendirilmesinde kullanılırlar (Gülal, 2015).

Sitotoksik, hücre ölümüne neden olan demektir. Sitotoksite, analizi yapılan maddenin dozuna ve maruziyet süresine bağlı olarak, hücrelere farklı şekillerde zarar verme olayıdır. Hücreler sitotoksik maddeye maruz kaldığı zaman ölebilir veya bölünerek çoğalma özelliklerini kaybedebilirler (Tokur ve Aksoy,2017).

Hücre metabolizmasında spesifik fonksiyonun değerlendirilebilir olması, etik açıdan ve hassasiyetten dolayı *in vitro* sitotoksite testleri kullanılır. Toksik maddeler hayvan deneylerine geçmeden önce elimine edilerek hem hayvan hem de insan denemelerine kıyasla daha geniş kullanım alanına sahiptir. Tüm bunlar *in vitro* sitotoksite testlerinin avantajlarından bazılarıdır(Yavuz, 2016) (Tablo 1.5).

Tablo 1.5: *in vitro* sitotoksosite testlerinin avantajları ve dezavantajları (Yavuz, 2016)

AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
Hücre metabolizmasında türe özgü fonksiyon değerlendirilebilir	Her test için bir hücre kullanılabilir
Çok sayıda örnek kısa zamanda değerlendirilebilir	Kültür hücreleri konak hücreden farklıdır
Nicel ve karşılaştırılabilir sonuçlara ulaşılabilir	<i>in vitro</i> ortam organizmada bulunan immün sistem, inflamatuvar sistem ve dolaşım sistemi gibi karmaşık mekanizmalara sahip değildir
Test yöntemleri standardize edilebilir	
Etik açıdan ve hassasiyetten dolayı, toksik maddelerin hayvan deneylerine geçmeden önce elimine edilebilir	
Hem hayvan hem de insan denemelerine kıyasla daha geniş kullanım alanına sahiptir	

Sitotoksitenin belirlenmesinde; Boyama yöntemleri ve Kolorimetrik yöntemler sıkça kullanılan yöntemlerdir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

1.4.1 Boyama Yöntemleri

Boyama yöntemi genellikle hücrelerin canlılık durumunun belirlenmesinde kullanılır. Bu yöntemler ile canlılık yüzdesi belirlenebilir. Boya maddesi olarak Tripan mavisi, Eozin, Kongo kırmızısı ve Eritrosin B kullanılmaktadır. Bu yöntem canlı hücrenin ortama ilave edilen boyayı hücre dışında bırakması, ölü hücrenin de boyayı hücre içine alması esasına dayanır (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

Tripan mavisi biyolojik bilimlerde hücre canlılığının yani sitotoksitenin belirlenmesinde en sık tercih edilen boyalardandır. Tripan mavisi canlı hücrelerin zarından geçemez. Çünkü canlı hücrelerin zarı bir bütündür. Ölü hücrelerin zarından geçebilir ve hücre boyanır. Bu yöntem basit ve ucuzdur. Membran bütünlüğü bozulan hücreler mikroskop yardımıyla sayılabilir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

1.4.2 Kolorimetrik Yöntemler

Sitotoksite tesleri arasında en çok tercih edilen yöntemlerdir. Kolorimetrik yöntemler ucuzdur ve tekrarlanabilirliği yüksektir. Metabolik aktiviteye bağlı olarak hücre ölümünü ya da hücre proliferasyonunu ölçen testler daha sık kullanılır (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

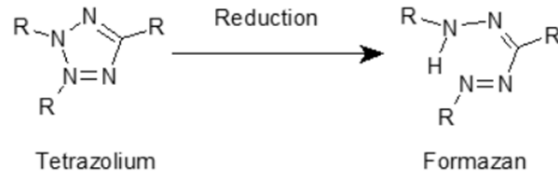
1.4.2.1 Nötral Kırmızısı Alımı (NRU) ve Kristal Viyole Testi

Nötral kırmızısı testi canlı hücrelerin boyayı içine alabilme ölü hücrelerin ise boyayı lizozomlarında biriktirememesi esasına dayanır. Nötral kırmızısı biyolojik pH'taki net yükü sıfır olan zayıf katyonik bir boyadır. Ph'daki net yükünün sıfır olması boyanın hücre zarını geçmesine olanak sağlar. Nötral kırmızısı canlı hücrelerde depo edilebilen ve hücreyi boyayabilen bir bileşiktir. Ph'daki net yükünün sıfır olması boyanın hücre zarını geçebilmesini sağlar. Boya canlı hücrenin lizozomlarında tutulur. Ölü hücrelerde lizozom aktivitesi olmadığından boyanmazlar. Bu test sadece canlı hücreleri boyayabilir ve canlı kalan hücreler değerlendirilir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021; Gülal, 2015).

Kristal viyole suda çözünebilir ve mavi-mor renkli bir çözeltili oluşturan bir bileşiktir. Bu yöntem kristal viyolenin canlı bir yüzeye yapışarak büyüyen ve çoğalan hücrelerin protein ve DNA'larına bağlanmasına ve ölü hücrelerin ise yüzeye yapışma özelliği olmadığından kristal viyoleyi DNA ve proteinlere bağlayamaması esasında dayanır (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

1.4.2.2 MTT Testi

MTT hücre canlılığı değerlendirme testleri arasındadır. Yöntem mitokondrial dehidrogenaz aktivitesindeki değişimleri inceleme esasına dayanır (Gülal, 2015; Ulusoy, 2022). MTT sarı renkli bir tuzdur (Erkekoğlu ve Baydar). Metiltiyazol tetrazolyum dehidrojenaz enzimlerince parçalanır ve mor renkli suda çözünmeyen formazana dönüşür (Şekil 10). Formazan daha sonra çözülür ve yoğunluğu spektrofotometre ile değerlendirilir. Absorbans genellikle 540 ya da 570 nm dalga boyunda ölçülür (Akkoyunlu, 2019). Tetrazolyum halkası yalnızca canlı hücrelerin mitokondrileri tarafından kırılabilmesi ve mor renkli formazanlara dönüştürülebilmesinden dolayı bu yöntemde sadece canlı hücreler belirlenir (Gülal, 2015; Ulusoy, 2022).



Şekil 1.10: MTT metodunda gerçekleşen kimyasal Değişim (Günerhan,2015)

Çoğalan hücreler proliferasyon göstermeyen hücrelerden daha fazla metabolik aktivite gösterdiğinden dolayı bu yöntemde hücre canlılığı ve sitotoksikite belirlenmesinin yanında hücre aktivasyonu ve proliferasyonu da belirlenebilir (Gülal,2015; Ulusoy, 2022). Bu yöntem hızlı, güvenilir, tekrarlanabilirliği yüksek ve uygun fiyatlı olması sebebiyle en çok tercih edilen sitotoksikite değerlendirme yöntemidir (Erkekoğlu ve Baydar,2021) (Şekil 1.10).

1.4.2.3 XTT

Yöntemin esası hücre enzimlerinin aktivitesini ölçmeye dayanır. MTT testi gibidir fakat MTT'ye göre daha yüksek bir hassasiyetle çalışan bir metottur. Bu teste oluşan formazan bileşikler suda çözünür durumdadır. Bu yüzden ekstra çözücüye gerek yoktur (Yalçın,2013).

1.4.2.4 MTS

MTS, fenazin metosulfate (PMS) varlığında formazan üretir. MTT'nin basamaklı aşamalarına gerek kalmadan reaktif ekleme yapılabilir. Bu nedenle tek adım MTT olarak bilinmektedir (Yalçın,2013). Canlı hücreler tarafından MTS indirgenir ve renkli bir kristal olan formazan oluşur. Renk absorbansı da 493 nm'de ölçülür. Kolay uygulanabilir, ucuz, doğru, hızlı ve kesin sonuçlar vermesi bu yöntemin avantajlarıdır. Hücre tipine bağlı olarak farklı sonuçlar alınabilir. Uygulama süreci zaman alabilir ve hücre sayısı çok olduğunda testin hassasiyetini etkileyebilir (Erkekoğlu ve Baydar,2021).

1.4.2.5 WST

WST suda çözünür formazan içeren bir bileşiktir. Bu formazanlar farklı şekillerde absorpsiyon yapabilme yeteneğine sahiptir. MTT'ye göre daha avantajlı bir testtir (Yalçın,2013). Günümüzde en çok tercih edilen (2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-

disülfofenil)- 2H tetrazolyum yapısındaki WST-1 ve 2-(2-metoksi-4- nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H tetrazolyum, monosodyum tuzu yapısında olan WST-8'dir. Bu testlerde hücre canlılığı spektrofotometrik olarak belirlenir. (Erkekoğlu ve Baydar,2021).

1.5 Koloni Formasyon Analizi

Koloni formasyon analizi 50 yıldan uzun zamandır kullanılan bir analiz yöntemidir. Bu tekniği tanımlayan orijinal makale 1956 yılında yayınlanmıştır. Koloni formasyon analizi çoğunlukla, sitotoksik ajanların ve diğer kanser karşıtı ajanların etkilerinin farklı hücre hatları üzerinde koloni oluşturabilme yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Rafehi ve ark,2011).

Koloni formasyon analizi (Klonojenik analiz) hücrenin koloni oluşturma yeteneğini inceleyen bir laboratuvar yöntemidir. Koloni, genellikle 50 hücre gibi bir sayıdan sonra oluşan hücre topluluğunu ifade eder. Tedavi öncesi veya sonrası hücreler uygun şekilde seyreltilir ve belirli bir süre boyunca koloni oluşturması beklenir. Koloniler glutaraldehit ile sabitlenir ve kristal viyole ile boyanır. Ardından görüntülenerek sayılır. Bu yöntem, tedavi sonrası hücrelerin hayatta kalma kapasitesini ölçmede oldukça etkilidir ve kanser araştırmalarında sıkça kullanılır (Franken ve ark, 2006).

Farklı araştırma soruları, farklı hücre tiplerinin farklı koşullarda ve farklı hızlarda büyümesi bu testin uygulanmasında çeşitli farklılıklar yaratmıştır. Teste sitotoksik tedaviler de dahil edilebilir. Bu tedaviler, hücrenin çoğalma kapasitesini veya hayatta kalma durumlarını etkileyebilir. Testin sonunda elde edilen veriler çoğunlukla matematiksel analizlerle değerlendirilir. Bu analizler, tedavi edilen hücrelerin hayatta kalma oranını ve tedaviye yanıtlarını anlamak için kullanılmaktadır (Brix ve ark,2021).

1.6 Yara İyileşme Analizi (Scratch Assay) ve Migrasyon

Yara iyileşmesi biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri içeren hücre migrasyonunun rol aldığı önemli bir süreçtir.Migrasyon, canlı hücrelerin temel bir özelliğidir.Normal gelişim, bağışıklık yanıtları, kanser yayılması ve iltihaplanma ve benzeri hastalık süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Hücre migrasyonunu incelemek için kullanılan yöntemler, onkoloji, bağışıklık bilimi, damar biyolojisi, hücre bilimi ve gelişim bilimi ve benzeri sağlık bilimi dallarında oldukça önemli bir yere sahiptir. (Castaneda ve ark,2002).

Temel adımları, hücre monolayerinde bir “çizik” oluşturmayı, çizik yapıldıktan hemen sonra ve hücrelerin çizik alanını kapatmak için göç ettikleri süreç boyunca düzenli aralıklarla görüntü almayı, ardından hücrelerin göç hızını karşılaştırarak hesaplamayı içerir. Diğer yöntemlerle kıyaslandığında, *in vitro* çizik testi özellikle hücre-matris ve hücre-hücre etkileşimlerinin hücre göçü üzerindeki etkilerini incelemek için uygundur. Ayrıca bu yöntem, hücre göçünü *in vivo* yara iyileşmesi sırasında meydana gelen sürece benzetir. Göç sırasında hücre içi olayları gözlemlemek amacıyla canlı hücrelerin görüntülenmesi için de uygundur. Bunun yanı sıra, homojen hücre popülasyonlarının göçünün izlenmesine ek olarak, çizik kenarındaki bireysel hücrelerin göçünü ölçmek için de adapte edilmiştir. (Liang ve ark,2007)



2. MATERYAL VE METOD

2.1 Bitki Materyallerinin Hazırlanması

2.1.1 Arazi çalışması

Çalışmada bitki kaynağı olarak belirlenen *Lamium purpureum* L. bitki örnekleri, çiçeklenme dönemi olan Mart-Nisan-Mayıs aylarında 10-15 kg kadar toplanarak güneş görmeyen uygun bir ortamda kurutularak analiz için hazır hale getirildi.

2.1.2 Bitkilerin Ham Ekstrelerinin Hazırlanması

Uçucu yağ eldesi su buharı distilasyonu prensibine dayalı çalışan Clevenger cihazı ile yapılmıştır. Bitki örneklerinden 100 g alınarak 2000 µl lik cam balona yerleştirilmiştir. Üzerine 500 mL su ilave edilerek 3-3,5 saat süresince distilasyon işlemi yapılmıştır (Karataş ve ark,2022) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Clevenger cihazı ile *Lamium purpureum* L. yağ eldesi

2.1.3 Uçucu Yağların Kimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi

Lamium purpureum bitkisinin farklı organlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi) yöntemiyle hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Uçucu yağ bileşenlerinin analizinde, Shimadzu GC-MS QP 2010 ULTRA cihazı kullanılmıştır. Analizlerde RXİ-5MS Kapiler kolon (30m; 0.25 mm; 0.25 µm) kullanılmıştır. Retensiyon indeksi (RI) hesaplanmasında n-alkan serisi referans olarak kullanıldı. Bileşenlerin tanımlanması kütle spektrumlarının elektronik Wiley ve Nist laboratuvarları ile kıyaslanarak yürütüldü. Çalışma koşulları aşağıda verilmiştir.

Taşıyıcı gaz: Helyum (1 ml/dk. akış)

Kolon fırını sıcaklığı: 40 °C

Enjeksiyon sıcaklığı: 250 °C

Basınç: 100 kPa

Enjeksiyon modu: split

Split oranı: 25

Enjeksiyon hacmi: 1ul

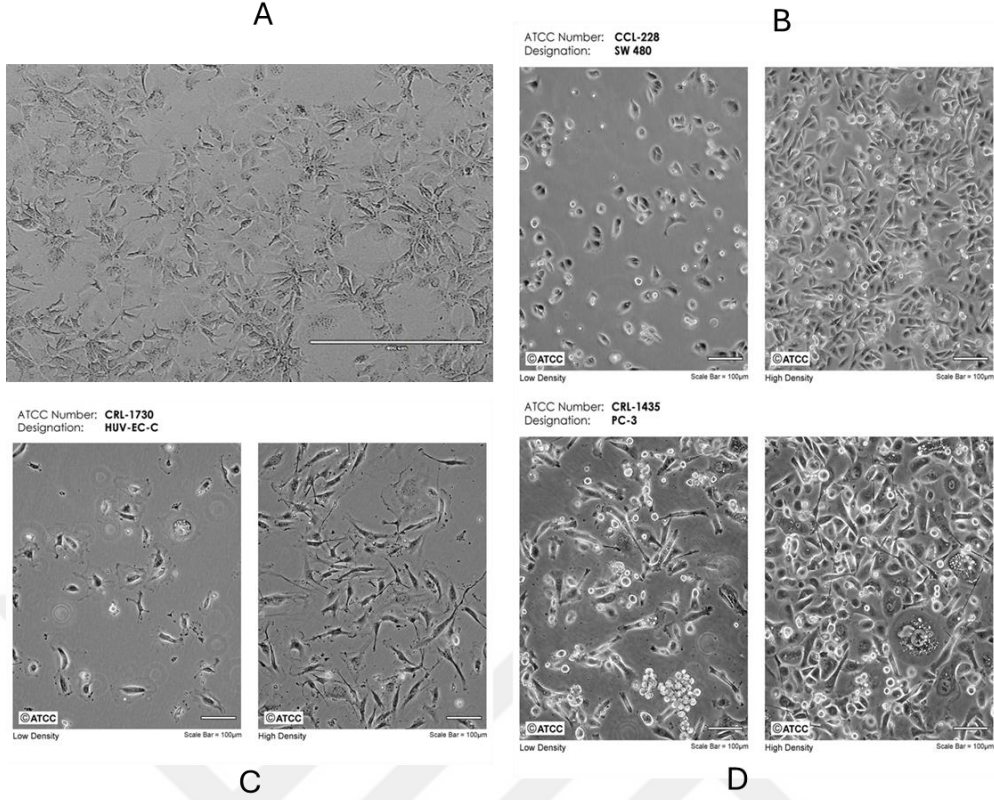
Fırın sıcaklık programı: 40 °C'de 3 dk., 40 °C'den 240 °C'ye 4 °C/dk. artışla, 240 °C, Toplam 53 dk.

İnterface sıcaklığı: 250 °C

2.2 Çalışmada Kullanılan Hücre Hatları

Araştırma için belirlenen kültürler, Balıkesir Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim dalından temin edilmiştir. Çalışmamızda insan endotel hücre hattı HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial cells), SW-480 (İnsan kolon kanseri) ve Hep3B (İnsan karaciğer kanseri) PC 3 (Prostat Kanseri) hücre hattı kullanıldı (Şekil 2.2).

Hücre kültürü deneylerinde ticari yolla edinilen DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) kullanıldı. 45 ml DMEM besiyerine 5 ml FCS eklendi. Son konsantrasyonda %10 FCS içeren DMEM kültür ortamı sağlandı. Hücreler hücre hatları büyütülmek için -80 °C'den çıkarıldı. Ardından 37 °C sıcaklıkta olan su banyosuna alındı ve böylelikle hücrelerin çözölmeleri gerçekleştirildi. Çözölen hücrelerin üzerine DMEM eklenen hücreler 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernant uzaklaştırıldı, pellet alındı ve dipte kalan hücreler 1 ml DMEM ile çözöldü ve petriye ekim yapıldı. 37 °C ve %5 CO₂ içeren inkübatöre konuldu.



Şekil 2.2: Çalışmada kullanılan hücre soylarının görüntüleri

(A) Hep3 Hücre Hatları (Karaciğer Kanseri Hücre Hatları Veritabanı,2024), (B) Sw480 Hücre Hatları; (C) Huvec Hücre Hatları, (D) Pc3 Hücre Hatları (Atcc: The Global Bioresource Center | Atcc,2024

2.3 Hücrelerin Pasajlanması

Hücreler içerisinde %10 FCS içeren medyumda pasaj yapılarak üretildi. Hücreler yüzey alanının büyük çoğunluğunu kapladıktan sonra(%80-90) petrilereki medyum uzaklaştırıldı. Ardından hücreler 2 ml steril PBS ile bir kez yıkandı. Yıkamanın ardından PBS uzaklaştırıldı. Hücrelerin yüzeyden kalması için 2 ml tripsin-EDTA eklendi. Yüzeyden kalkan hücrelere tripsin-EDTA'nın 2 katı olacak şekilde %10 FCS içeren DMEM eklenerek 15 ml'lik steril falkon tüpüne aktarıldı. 1000 rpm'de 5 dk santrifüj gerçekleştirildi bu şekilde hücrelerin dibe çökmesi sağlandı. Santifürüjden sonra süpernatant atıldı. Geriye kalan pellet medyum ile çözündürülüp petrilere paylaştırıldı ve 37 °C'de %5 CO₂ ortamında 24 saat büyütüldü.Ardından hücre kültürünün devamlılığını sağlamak için hücrelerin bir kısmı -80'e konuldu. Bu işlem için santrifürüj aşamasından sonra süpernatant atıldı hücrelerin üzerine 1 ml FCS eklendi. 3-4 damla DMSO eklendi ve kademeli olarak donduruldu. Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1: Hücrelerin büyütülmesi ve pasajlanması işlemleri sırasında kullanılan çözeltiler

PBS	Hücreleri yüzeyden kaldırırken ölü hücrelerden arındırmak için yıkama sıvısı olarak kullanıldı.
Tripsin-EDTA	Hücreleri yüzeyden kaldırmak için kullanıldı.
FCS	FCS, Fetal Sığır serumdur. Hücrelerin büyümesi ve çoğalması için gerekli birçok bileşeni içerir.
DMEM	Farklı hücre tipleri için uygun bir ortam sağlamak için kullanılan besiyeridir.

2.4 Canlı Hücrelerin Belirlenmesi ve Hücre Sayımı

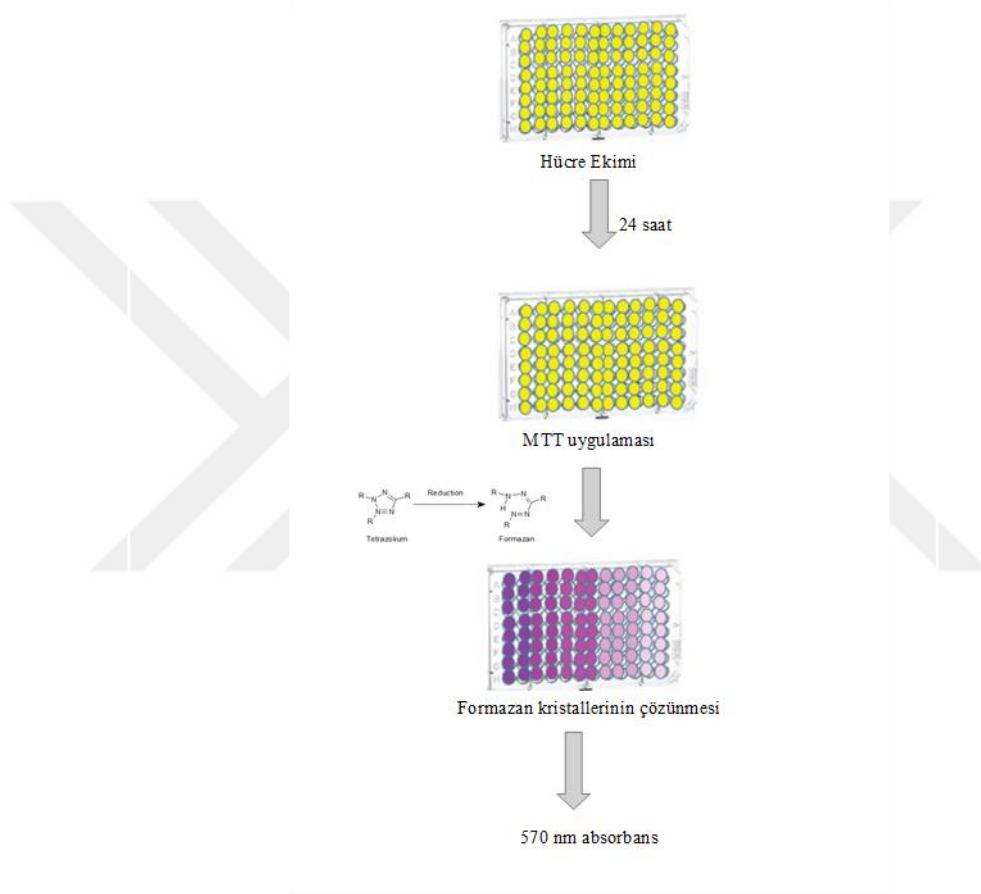
Hücre canlılığının belirlenmesinde hemositometre ile birlikte tripan mavisi boya kullanıldı. Bu yöntemde hazırlanan hücre süspansiyonuna tripan mavisi eklenerek ışık mikroskobu altında hücrelerin canlılığı incelenebilmektedir. Deneylerde kullanılmak üzere yeterli çoğunluktaki hücreyi elde edebilmek için tripan mavisi ve hemositometre lamı ile hücre sayımı yapıldı. Hücre süspansiyonunun bir kısmı (10 µL) , tripan mavisi (1:1 seyreltme oranında) ile muamele edildi. Hazırlanan hücre ve tripan mavisi karışımından birkaç damla alındı ve hemosimete lamına yerleştirildi. Üzerine lamel yerleştirilerek mikroskopta sayıldı. Tripan mavisi testinin prensibi canlı hücrelerin boyayı geçirmesi ve ölü hücrelerin boyayı geçirerek boyanması esasına dayanır bu sebeple boyanmayan hücreler sayıldı.

2.5 MTT Testi (Sitotoksosite Testi)

Hücre hatlarında sitotoksik etkilerin belirlenebilmesi amacıyla ilk olarak hücreler 96 kuyucuklu plakalara ekildi. 24 saat boyunca hücrelerin yüzeye tutunması için inkübasyon yapıldı ve hücrelere *L. purpureum* yağı 6.25 µg/µl, 12.5 µg/µl, 25 µg/µl, 50 µg/µl, 100 µg/µl dozlarında uygulandı. 24, 48 saat ve 72 saat sonunda MTT solüsyonu son konsantrasyon 0,5 mg/mL olacak şekilde uygulandı. 4 saat 37 °C, %5 CO₂ ortamında inkübe edildi. 4 saat sonunda plakadaki sıvılar uzaklaştırılıp , izopropanol ile kristal yapının çözünmesi sağlandı (Tablo 2.2). Ardından spektrofotometride 570 nm de ölçüm alındı (Şekil 2.3).

Tablo 2.2: MTT testinde kullanılan çözeltiler

MTT Solüsyonu	İzopropano
Hücrelerin metabolik aktivitesini ölçmek için kullanıldı.	MTT testinde formazan kristallerini çözmek için kullanıldı



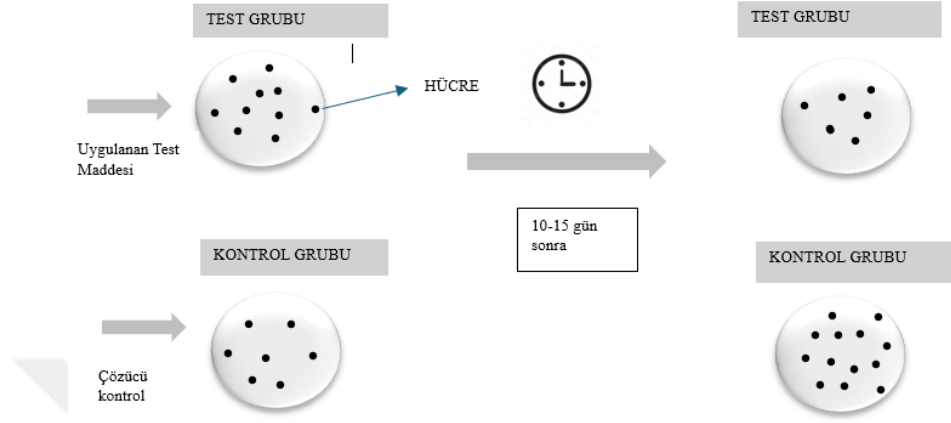
Şekil 2.3: MTT testinin yapılışı (Erkekoğlu ve Baydar,2021)

2.6 Koloni formasyon (Klonojenik) Analizi

Hücreler %10 FBS içeren DMEM içerisinde büyütüldü. Tam doluluğa (%80-90) ulaşan hücreler Tripsin-EDTA ile kaldırıldı. Sayılan hücreler 6-well'e hücre konsantrasyonu 1×10^3 veya 1×10^4 olacak şekilde ekildi ve bir gece inkübasyona bırakıldı.

Koloni oluşumu başladıktan sonra DMEM'den $50 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ alındı ve yerine $50 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ *L.purpureum* yağı (%25 oranda) eklendi. Ertesi gün %25 oranındaki *L.purpureum* yağı uygulandı 10-15 gün koloni formasyonu için inkübe edildi. Süre sonunda koloniler ilk

olarak gluteraldehit ile fikse edildi ve ardından kristal viyole ile boyandı (Şekil 2.4). Kolonilerin görüntülenerek koloni sayımı için Image J programı kullanıldı.

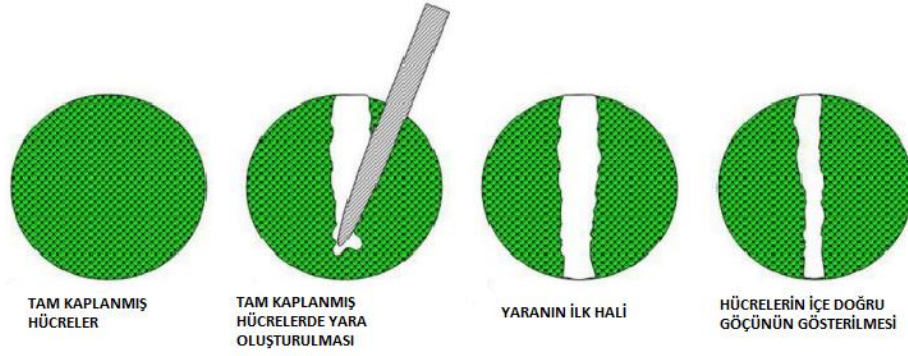


Şekil 2.4: Koloni formasyon deneyinin akışının şematik olarak gösterimi (Gökhaner,2018)

2.7 Yara İyileşme-Hücre Migrasyon Analizi (Scratch Testi)

Yara iyileşme testi için, hücreler 6-well'e her kuyucuğa 500.000 hücre/ kuyucuk olacak biçimde ekim yapıldı. Ardından hücrelerin bütün yüzeye yapışması için bir gece inkübe edildi. Ertesi gün *L. purpureum* yağı $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (%25) oranında uygulaması yapıldı. Bu işlemin hemen ardından standart olacak şekilde pipet ucu yardımıyla kuyucuğun ortasına çizik atıldı(Şekil 2.5). Ardından 0. saatte hücreler fotoğraflandı.Takip eden 6. ve 24. saatlerde yeniden fotoğraflandı. Fotoğraflar İmage J programı kullanılarak analiz edildi. Kontrol grupları ile ekstrakt uygulanmış gruplar karşılaştırılarak hücrelerin % göç etmeleri aşağıdaki formüle göre hesaplama yapıldı.

$$\% \text{ Alan Kaplama Oranı} = (\text{Başlangıç hasar alanı} - \text{Uygulama süresi sonrası hasar alanı} / \text{Başlangıç hasar alanı}) \times 100 \quad (2.1)$$



Şekil 2.5: Yara iyileşme testi şematik gösterimi (Duman,2018)

2.8 İstatiksel analiz

Deney sırasında elde edilen veriler kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırmak suretiyle değerlendirildi. *L.purpureum* yağının farklı kanser hücre hatlarında (SW480, PC3 ve Hep3B) ve kanser olmayan hücre hattı olan HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial cells) hücrelerinde sitotoksik etkisi ve tümörejenik özelliklerine etkilerinin belirlenmesi için istatiksel analiz yapıldı. Varyans analizi ANOVA ONE WAY ANALYSIS kullanılarak yapılmıştır. $P \leq 0.05$ anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2050 yılına gelindiğinde Dünya genelindeki insanların %16'sının kanser olacağını tahmin etmektedir. Geçmişten günümüze kanser insanların yaşamını birçok yönden etkilemiştir. Bilim insanları kimyasalların, radyasyonun, virüslerin kansere yol açabileceğini ve kanser ile ilişkili genlerin gelecek nesillere aktarılabilceğini tespit etmişlerdir (Karaman,2018).

Çalışmamız kapsamında farklı kanser hücre hatlarında (SW480, PC3 ve Hep3B) ve kanser olmayan hücre hattı olan HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial cells) hücrelerinde *Lamium purpureum* L. bitkisinin hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağ ekstresinin sitotoksik etkisi ve tümörojenik özelliklerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sitotoksik etkilerin belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlarda ve 24, 48 ve 72 saat zaman aralıklarında 4 farklı hücre hattı üzerindeki etkileri MTT testi ile belirlenmiştir. Yüksek sitotoksik etki görülen Hep3B hücrelerinin tümörojenik özelliklerine etkisi ise yara iyileştirme testi (scratch assay) ve koloni formasyon testi ile belirlenmiştir.

Bu amacımız doğrultusunda izlenen basamaklar aşağıda verilmiştir.

- İş Planının Oluşturulması
- Arazi Çalışması
- *L.Purpureum* Bitkisinden Yağ Eldesi Ve Bileşiminin Belirlenmesi
- Kullanılacak Hücre Hatlarının Seçimi, Büyütülmesi Ve Pasajlanması, Hücre Canlılık Testi
- MTT Testi,Klonolojik Analiz,Scratch Testi
- Sonuçların Raporlanması

3.1 *Lamium purpureum* L. Uçucu yağ bileşenleri

Lamium purpuruem L. bitkisinin bitki örnekleri toplanıp güneş görmeyen bir yerde kurutuldu. Bitkiden uçucu yağ eldesi su buharı distilasyonu prensibine dayalı çalışan Clevenger cihazı ile yapıldı. Bitkinin farklı organlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle

Spektroskopisi) yöntemiyle hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Uçucu yağın bileşimi aşağıdaki Tablo 3.1'deki gibidir.

Tablo 3.1 : Uçucu yağ bileşenleri

NO	BİLEŞİKLER	RRI	YÜZDELER
1	α -pinene	1022	2.15
2	Sabinene	1120	1.80
3	β -pinene	1125	2.35
4	Cis-carveol	1227	1.40
5	Carvacrol	1300	3.25
6	Caryophyllene	1430	1.85
7	α -Humulene	1454	3.27
8	α -Amorphene	1475	2.63
9	Germacrene-D	1480	7.79
10	β -selinene	1490	4.38
11	Bicyclogermacrene	1497	2.01
12	δ -Cadinene	1518	4.16
13	Spathulenol	1576	2.00
14	Caryophyllene oxide	1587	2.22
15	α -Cadinol	1652	2.60
16	Valeranone	1672	1.90
17	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	1845	21.35
18	Tetradecanal	1930	2.60
19	Hexadecanoic acid	1965	2.70
20	Phytol	2560	14.10
21	Pentadecanoic acid	2700	4.48
	Total		90.99

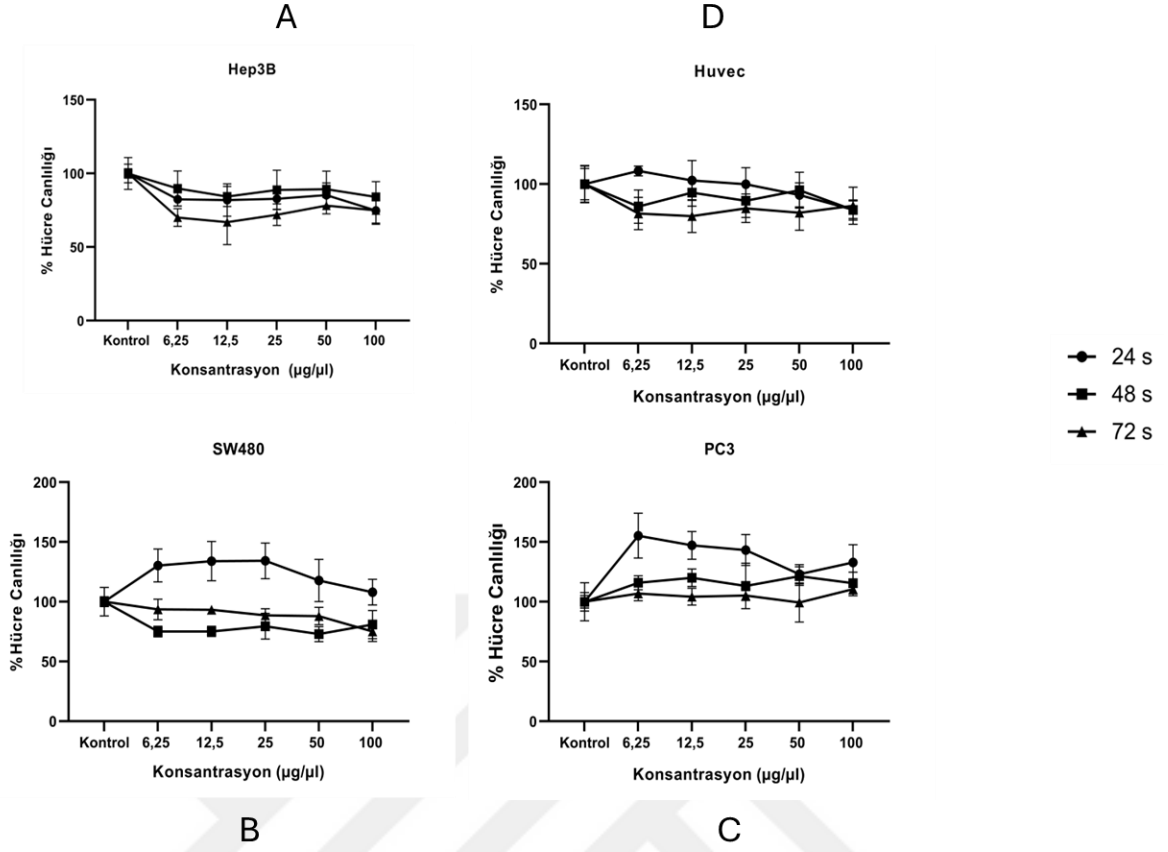
Analizlerimiz sonucunda toplam içeriğin %90.99'unu temsil eden 21 bileşik tanımlandı. Bu bileşikler içerisinde, 2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl %19.35, phytol %13.10 ve germacrene-D %5.79 ana bileşen olarak tespit edildi.

3.2 Sitotoksik Etki

L.purpureum farklı hücre hatlarındaki ve farklı zaman aralıklarındaki hücre canlılığı üzerine etkileri MTT ile belirlenmiştir (Şekil 3.1).

Hep3B hücre hattında *L. purpureum* yağının antiproliferative etkisi incelendiğinde 24 saat ve 72 saat uygulama sonucunda tüm konsantrasyonlarda kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulundu. Uygulanan konsantrasyonlar arasındaki farklar ise istatistiksel olarak anlamlı değildir. 48 saat uygulama sonucunda ise sadece kontrol grubu ile 12,5 µg/µl *L. purpureum* yağı uygulanan grup arasındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diğer uygulanan konsantrasyonlardaki azalmalar anlamlı değildir (Şekil 3.1 A).

İnsan kolon adenokarsinoma hücre hattı olan SW480 hücrelerinde *L. purpureum* yağının hücre canlılığı üzerine etkileri incelendiğinde yine 24 saat sonucunda 100 µg/µl uygulanan grup haricindeki tüm gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücre proliferasyonunda artış gözlenirken, en yüksek konsantrasyon olan 100 µg/µl grubundaki değişiklik kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmadı. 100 µg/µl uygulanan grupta hücre viabilitesi kontrol grubu ile yakın olduğundan, bu grup ile 6,25; 12,5; 25 ve 50 µg/µl uygulanan gruplar arasındaki farklılık yine istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 48 saat *L. purpureum* yağı uygulaması SW480 hücrelerinde tüm konsantrasyonlar için kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalmaya neden olurken, 72 saatte sadece bu fark 50 µg/µl ve 100 µg/µl uygulanan gruplar için anlamlı bulunmadı. 48 saat süresince *L. purpureum* yağının uygulanan gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermediği ancak 72 saatte 100 µg/µl uygulanan grup ile diğer tüm konsantrasyonlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 3.1 B).



Şekil 3.1: Mtt test sonucu grafikleri; 24, 48 ve 72 saatlik maruziyet sonrası *Lamium purpureum* yağına karşı Hep3B, PC3, SW480 ve HUVEC hücre hatlarında inhibisyon yüzdesi olarak ifade edilen hayatta kalma diyagramlarını göstermektedir. Değerler, üç bağımsız deneyin ortalaması \pm SD olarak verilmiştir.

PC3 hücrelerinde hücre viabilitesi 24 saat uygulama sonunda 50 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ uygulanan gruptaki hücreler haricinde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. 6,25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ uygulama yapılan grup ile 50 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ uygulanan grup arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diğer gruplar arasındaki farklılıklar ise anlamlı bulunmadı. Farklı konsantrasyonlarda 72 saat *L. purpureum* yağı uygulaması kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücrelerin viabilitesinde anlamlı bir azalma ya da artışa sebep olmazken, 48 saat için yalnızca kontrol grubu ile 12,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ uygulanan grup ile kontrol grubu ve 50 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ uygulanan grup arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturdu. 48 ve 72 saat için ısırgan yağı uygulanan gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 3.1 C).

İnsan göbük damarı endotel hücreleri olan HUVEC hücre hattı çalışmamızda kanser olamayan hücrelerde *L. purpureum* yağının etkisinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı. 24 saat ve 48 saat sürelerde uygulanan yağ, kontrol ile karşılaştırıldığında, yalnız en yüksek

konsantrasyon olan 100 µg/µl hücre grubundaki, hücre viabilitesindeki azalma için istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diğer konsantrasyonlarda kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Uygulanan konsantrasyonlar arasındaki farklar yine istatistiksel olarak anlamlı değildir. 72 saat uygulama sonucunda ise; yalnızca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 50 µg/µl ve 12,5 µg/µl uygulanan gruplardaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer konsantrasyonlar kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Uygulanan konsantrasyonlar arasındaki farklar yine istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 3.1 D).

Tablo 3.2: Kontrol grubuna göre yağ uygulanan grupta yapılan istatistiksel analizin anlamlı ve anlamlı olmaması değerlendirilmiştir. ((+) işareti kontrol grubu ile yağ uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı, (-) işareti ise kontrol grubu ile yağ uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı değil)

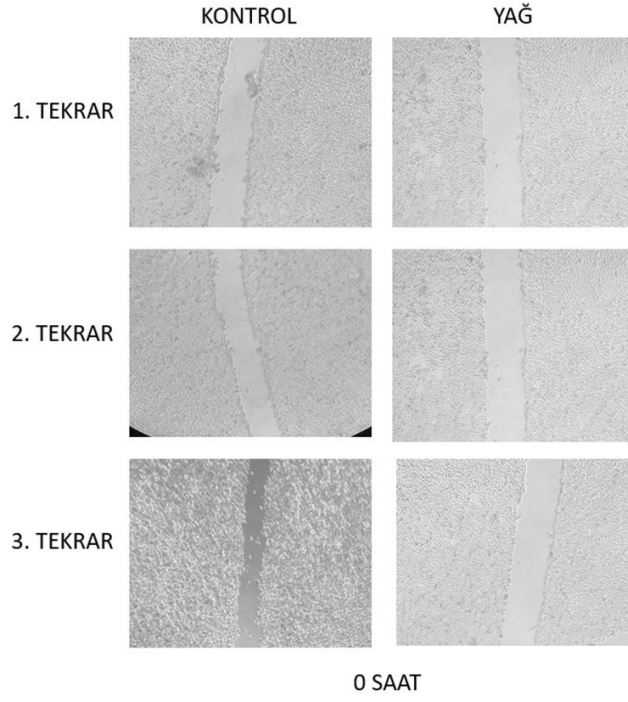
Uçucu yağ	Çalışılan hücre hatları											
	24 SAAT				48 SAAT				72 SAAT			
	µg/µl	HEP3B	HUVEC	SW480	PC3	HEP3B	HUVEC	SW480	PC3	HEP3B	HUVEC	SW480
6,25	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
12,5	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
25	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
50	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
100	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-

3.3 Tümörojenik etkilerin belirlenmesi

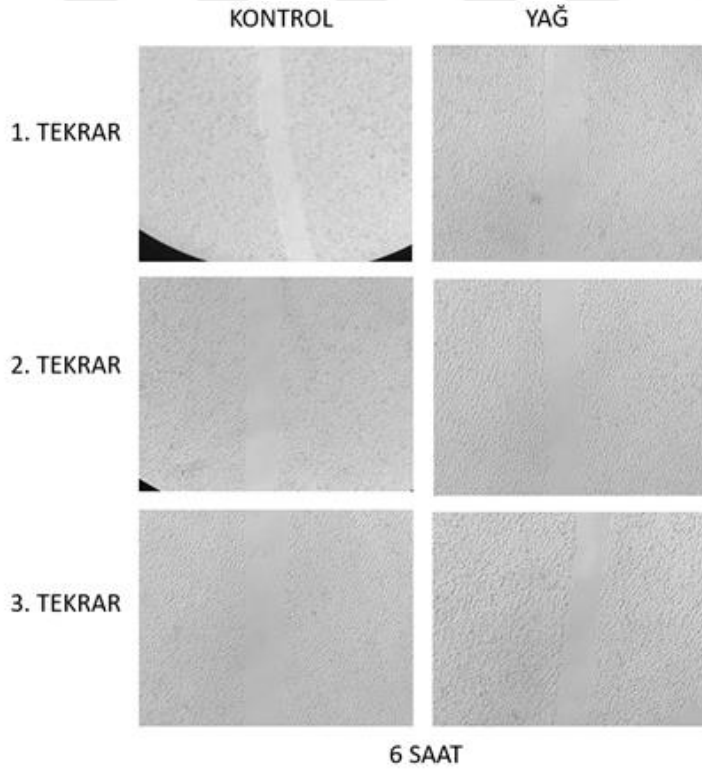
3.3.1 Scratch (Yara iyileşme analizi)

L. purpureum yağının karaciğer kanseri hücrelerinin göçü üzerindeki etkileri belirlendi. İşlem tekrarlı gerçekleştirildi.

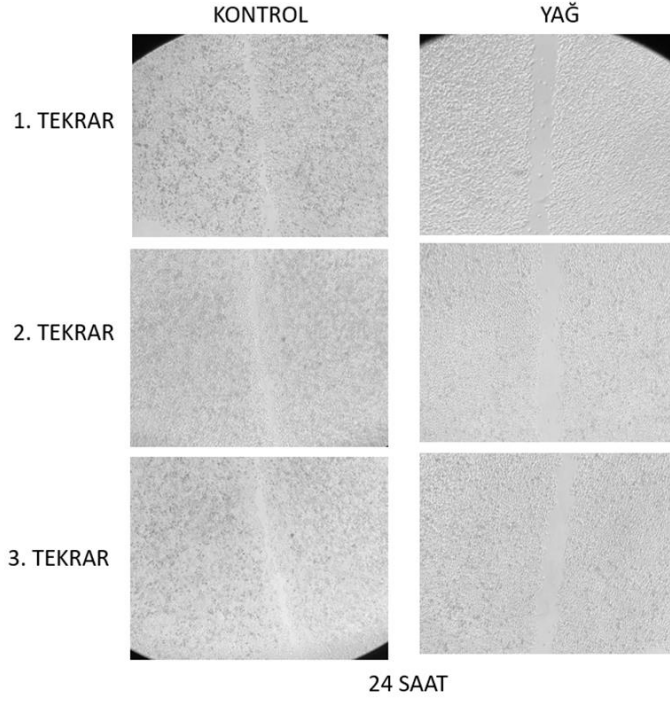
Şekil 3.2’de 0.Saatte 3 tekrarlı olacak şekilde yapılan yara iyileşme analizi sonuçları gösterilmiştir. Şekil 3.3’de 6. Saatte 3 tekrarlı olacak şekilde yapılan yara iyileşme analizi sonuçları gösterilmiştir. Şekil 3.4’de 24. Saatte 3 tekrarlı olacak şekilde yapılan yara iyileşme analizi sonuçları gösterilmiştir.



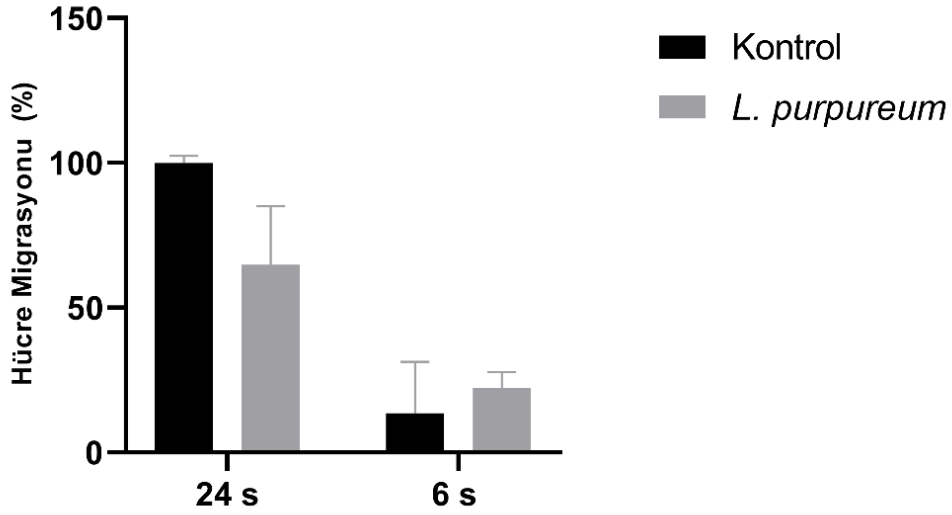
Şekil 3.2: 0 s Hep3B yara testi tekrarları



Şekil 3.3: 6 s Hep3B yara testi tekrarları



Şekil 3.4: 24 s Hep3B yara testi tekrarları

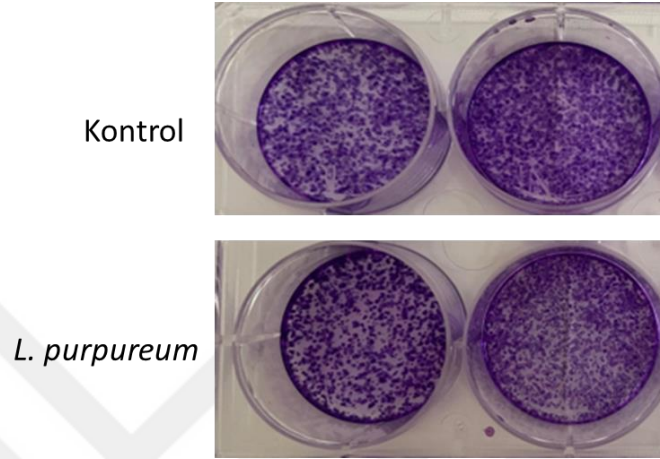


Şekil 3.5: *L.purpureum* yağının Hep3b hücre hattında hücre migrasyonuna etkileri

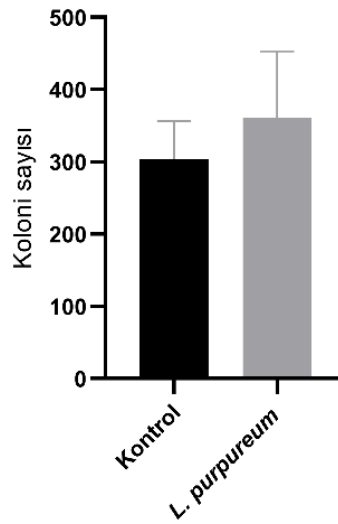
Hücre migrasyonunun analiz edildiği yara iyileşme testi sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, *L.purpureum* yağı uygulanan gruptaki hücre migrasyonunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 24 saatte anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir. (F=24,142; df=3,7; p=0,001) (Şekil 3.5).

3.3.2 Koloni Formasyon Testi

DMEM içerisinde büyülen ve tam doluğa oluşan hücreler sayıldıktan sonra inkübasyona bırakıldı ve ertesi gün *L.purpureum* yağı uygulandı. 10-15 gün koloni formasyonu için inkübe edilen hücreler kristal viyole ile boyanarak görüntüleri alındı. Koloni sayımı için Image J programı kullanıldı.



Şekil 3.6: Hep3B hücrelerinde koloni oluşumu analizine ait temsili görüntülerdir.



Şekil 3.7: *L.purpureum* yağının Hep3b hücre hattında koloni oluşumu üzerindeki etkisi

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bitkiler insanların ortaya çıkışından günümüze kadar hayatın ana kaynaklarından biri olmuştur(Turan ve ark,2012). Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı da neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir (Arslan ve ark,2015). Dünya Sağlık Örgütü'nün 91 ülkede yaptığı araştırmaya göre 20.000'den fazla bitki türü kimyasal ilaçlara alternatif olarak kullanılabilir (Çağlıyan,2022). *Lamium* cinsine ait bitkiler, bünyelerinde barındırdıkları uçucu yağlar sayesinde tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de birçok *Lamium* türü bulunmaktadır. *Lamium* türlerinin diüretik etkili, balgam söktürücü, kas gevşetici, damar ve doku daraltıcı gibi faydalara sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte hipertansiyon, kırık, travma gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadırlar (Yırtmaz,2022).

Bitkilerden üretilen bileşenler, son yıllarda kanser karşıtı madde olarak kullanılmaktadır. Bu bileşenler, redoks dengesini değiştirerek hücre döngüsünü durdurma yeteneğine sahip olup, tümörün gelişmesini ve ilerlemesini engelleyebilir (Akkoyunlu,2019). *Lamium*'un her türünün güçlü antibakteriyel, antioksidan, antiviral ve antikanser özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. *Lamium*da bulunan iridoidler bu cins için taksonomik gösterge olarak tanınmaya başlanmıştır. Sitotoksik özelliklerini genellikle kanser hücrelerinin apoptozunu başlatarak göstermektedir. Bu sebepten dolayı bu türlerden çıkarılan uçucu yağlar ve bitki özleri alternatif veya destekleyici kanser tedavisi sağlayabilmektedir (Güner,2023).

Çalışmamızda *L. purpureum* bitkisinin uçucu yağı kullanılmıştır. Uçucu yağların bilimsel olarak ilgi görmesinin nedeni biyolojik olarak aktif bileşikler olarak kullanılmasıdır. Uçucu yağlar bitki kökenli kimyasal maddeleri bünyelerinde bulundurduklarından dolayı antimikotik, sitotoksik, antioksidan, antimikrobiyal ve antidiyabetik özelliklere sahiptirler(Akkoyunlu,2019). Bitkilerden veya bitki bazlı droglardan elde edilen uçucu yağlar hücre zarından kolaylıkla geçebilmektedir. Akciğerlerden ve deriden de kolaylıkla emilebilirler. Bununla birlikte doğrudan vücuda ilaç ya da gıda katkı maddesi şeklinde alınabilirler. Bitkilerde elde edilen esansiyel yağlarda doğal olarak bulunan bileşenler kanser dahil birçok hastalığın tedavisinde kullanım alanı bulmuşlardır (Abak,2018). Bitkilerden üretilen bileşenler, son yıllarda antikanser ajanları olarak kullanılmaktadır. Bu bileşenler hücre zarına zarar vermek, apoptozu teşvik etmek, enzim sistemini inhibe

etmek gibi yollarla tümörün gelişimini ve ilerlemesini inhibe etme yeteneğine sahiptirler (Akkoyunlu,2019).

Kanser dünyada en çok ölüme sebep olan hastalıklardan birisidir (Charkhian ve ark, 2021). Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi, kök hücre gibi tedavi yöntemleri tek başına veya birlikte kullanılmaktadır (Akeren ve Hintistan,2021). Kanser tedavisinde DNA hasarının oluşturulması amaçlanır. Bu işlem ister radyoterapi ister kemoterapi yoluyla yapılsın, organizmanın genetik yapısını bozarak kanser hücrelerinin ölümüne yol açmayı hedefler. Bu şekilde kanser hücrelerinin ölümüne yol açma olasılığı, sağlıklı hücrelere göre daha yüksektir. Bu yaklaşım kanseri tedavi etmede en etkili yoldur ancak aynı zamanda sağlıklı hücrelere de zarar verir (Matthewsve ark,2022). Kanser tedavisi olumsuz pek çok yan etkiye sebep olduğundan dolayı hastalar tamamlayıcı tedavi yöntemlerine başvurumaktadırlar (Akeren ve Hintistan,2021). Kemoterapinin toksik etkileri karaciğer ve böbreklerde hasara, bağışıklık sisteminin zayıflamasına, kusma, saç dökülmesi, mide hastalıkları ve anemi gibi yan etkilere de neden olmaktadır (Charkhian ve ark, 2021).

Günümüzde yapılan çalışmalar alternatif tıp olarak adlandırılan ve temeli bitki olan çalışmaların öneminin arttırmış ve bu çalışmalar yaygınlaşmıştır (Tok,2019). Bilimsel ve ekonomik açıdan farmakolojik özelliğe sahip bitkilerin uçucu yağ içeriklerinin araştırılması oldukça önemlidir. Bilinen bütün antibiyotiklere karşı mikroorganizma direncinin artabilmesi, araştırmaların bitki kaynaklarına ve bu kaynakların hücredeki etkilerinin araştırılması yönüne çekilmesine neden olmuştur (Abak,2018).

Yakın çalışmalara bakıldığında ortak olarak germacrene-D değerinin çalışmalarda ana bileşenler arasında olduğu görülmektedir (Konarska 2021,Flamini 2005, CDJones 2012). En yüksek değeri %29.17 olarak bulunmuştur(Konarska 2021). Yapılan bir çalışmada *L. purpureum* L.'nin etanol ekstratında kimyasal analizler sonucunda ana bileşenin %22,55 oranında palmitik asit olduğu belirlenmiştir. Ana bileşiklerin oranları şöyledir; %22,55 palmitik asit, %20,65 7-tetradekenal, %7,40 9,12-oktadecadienoik asittir(Akkoyunlu,2019). Jones ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada, *L. purpureum* yağında α -pinen, β -pinen, 1-okten-3-ol, β elemen ve germacren-D baskın olarak bulunmuştur (CDJones 2012). Bizim çalışmamızda α -pinen, β -pinen oranları düşüktür (Tablo 3.1).

Başka bir çalışmada 7-Tetradekenal gözlenmiştir. Tetradekenal, bir tetradekanın hidridinden türetilen uzun zincirli bir yağlı aldehittir (Anonymous,2019).

Lamium türleri arasında en çok çalışılmış olan *L. album* bitkisinde de tetradekan dikkat çeker. Morteza-Semnani ve arkadaşları Lamiace ailesinden *Lamium album* L. uçucu yağını analiz etmek için GC ve GC-MS yöntemini kullanmışlardır. Kimyasal bileşiminde kırk üç bileşen tespit etti. Bunlardan en önemlileri şunlardı: 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon %10,2 ve 4-hidroksi-4-metil-2-pentanon %9,1 (Morteze-semnani 2016).

Başka bir çalışmada, Catalina bölgesinden (Cluj-Napoca) toplanan *Lamium album* üzerinde GC-MS analizi yapılmıştır. Yüksek oranda palmitik asit (256,6 µg/g) içerdiği gösterilmiştir (Iordache 2009).

Uçucu yağ üretimi ve içeriği sadece bitkinin genetiğine bağlı değildir. Endojen faktörler, Bitkinin gelişim aşamaları gibi dışsal faktörlerin yanı sıra, çevre gibi bitkinin maruz kaldığı, uçucu yağların üretimini ve içeriğini değiştirebilir (Prins 2010).

Çalışmamız sonucunda BAUN Çağış Yerleşkesinden toplanan örneklerin GC-MS analizi sonuçlarının yapılan çalışmalardaki analiz sonuçları ile karşılaştırıldığında germacren-D, α-pinen, β-pinen ortak bileşenlerine sahip olduğu, 2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl %19.35, phytol %13.10 bileşenlerinin yüksekliği ile de diğer çalışmalardan ayrıldığı görülmüştür. Bulunan bu farklı bileşenler *Lamium* cinsine ait bileşenlerine katkı sağlamıştır (Tablo3.1).

Bitkisel ürünler arasında, güçlü kokulu bileşikler içeren bitkilerden elde edilen uçucu yağların güçlü antikanser özellikler taşıdığı bilinmektedir. Ulusoy (2022) yaptığı bir çalışmada karanfil, kekik, ardıç ve incir çekirdeği uçucu yağları kullanılarak, bu uçucu yağların A2780 yumurtalık kanseri hücre hattı, HT-29 kolorektal kanser hücre hattı ve MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerindeki potansiyel etkilerine bakmıştır. Üç kanser hücresi için de yağların canlılık seviyesinde önemli ölçüde düşüş meydana geldiği ve kanser hücrelerini öldürdüğünü görmüştür. MTT veri analizlerinde ve mikroskop görüntülerinde farklı konsantrasyonlarını kullanmış olduğu uçucu yağların artan dozlara ve hücre hattına bağlı olarak hücre canlılığında düşüş meydana geldiği görmüştür. A2780 yumurtalık kanseri, HT-29 kolorektal kanser, MCF-7 meme kanseri hücreleri için yapılan

migrasyon analizlerinde hücre göçünün meydana gelmediğini fakat 48. saat sonunda hücrelerin gözle görülür derece canlılık seviyelerinin düştüğü gözlemlenmiştir.

Çağlıyan (2022) yaptığı çalışmada, *Lamium orientalis* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen metanol (MeOH) ekstraktlarının antikanser, antibakteriyel ve anti-Quorum Sensing (anti-QS) aktivitelerini değerlendirmiştir. Antikanser aktiviteyi MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerinde MTT testi ile analiz etmiştir. En iyi antikanser aktivitenin kök MeOH ekstraktında gözlemlenmiş, 48 saat sonunda IC50 değerinin 425,7 µg/mL olarak hesaplamıştır. Antibakteriyel etkinliği, sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle test etmiş ancak ekstraktların çalışılan konsantrasyonlarda minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerini belirleyememiştir. Anti-QS aktivite testlerinde, *Chromobacterium violaceum* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşları üzerine yaptığı analizlerde ekstraktların viyolasin pigment üretimi ve biyofilm oluşumunu inhibe etmediğini görmüştür. Sonuç olarak, *L. orientalis* kök MeOH ekstraktının MCF-7 hücre hattı üzerinde antikanser aktivite gösterdiğini, ancak antibakteriyel ve anti-QS aktivitelerinin sınırlı olduğu belirlenmiştir.

Tezimiz kapsamında farklı kanser hücre hatlarında (SW480, PC3 ve Hep3B) ve kanser olmayan hücre hattı olan HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial cells) hücrelerinde *Lamium purpureum* L. bitkisinin hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağ ektresinin sitotoksik etkisi ve tümörejenik özelliklerine etkileri belirlenmiştir. Sitotoksik etkilerin belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlarda (6,25-12,5-25-50-100 µg/ul), farklı zaman aralıklarında (24, 48 ve 72) ve farklı kanser hücre hatları (SW480, PC3 ve Hep3B) ile kanser olmayan hücre hattı olan HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial cells) hücreleri üzerindeki etkileri MTT testi ile belirlenmiştir (Şekil 3.1).

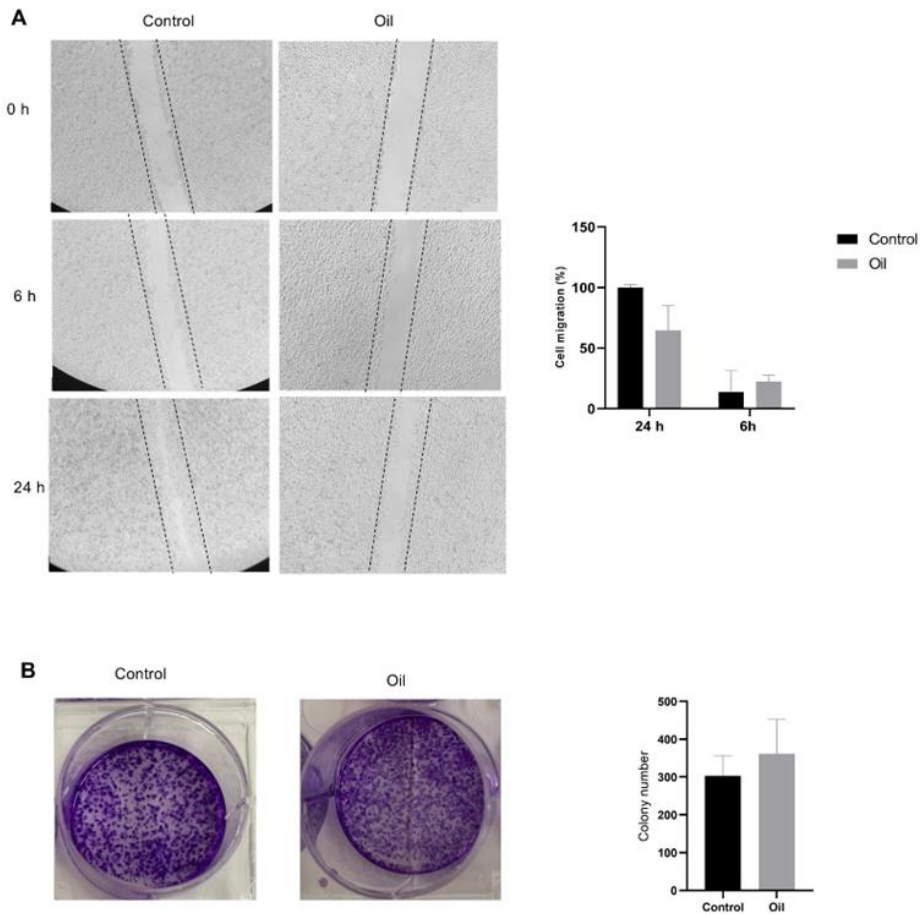
PC3 hücrelerinde hücre canlılık durumu 24 saat uygulama sonunda 50 µg/µl uygulanan gruptaki hücreler haricinde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yağın sitotoksik etkisinin olduğu gözlemlendi (Tablo 3.2).

İnsan kolon adenokarsinoma hücre hattı olan SW480 hücrelerinde *L.purpureum* yağının hücre canlılığı üzerine etkileri incelendiğinde 48 saat sonunda, SW480 hücrelerinde tüm

konsantrasyonların kontrol grubu ile kıyaslandığında sitotoksik etki gösterdiği görüldü(Tablo 3.2).

HUVEC (İnsan göbek damarı endotel hücreleri) hücre hattı ile yapılan çalışmada *L.purpureum* yağının etkisi belirlendi. 72 saat uygulama sonucunda yalnızca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; yalnız $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ve $12,5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ uygulanan gruplarda sitotoksik etki gösterdiği gözlemlendi(Tablo 3.2).

Hep3B hücre hattında *L.purpureum* yağının antiproliferative etkisi incelendiğinde 24 saat ve 72 saat uygulama sonucunda tüm konsantrasyonlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek sitotoksik etki gösterdiği görüldü. Hep3B hücrelerinin tümörojenik özelliklerine etkisi ise yara iyileştirme testi (scratch assay) ve koloni formasyon testi ile belirlendi.



Şekil 4.1: *L.purpureum* yağının Hep3b hücre hattında yara iyileşmesi ve koloni oluşumu üzerindeki etkileri

Hep3B hücrelerinin koloni formasyon analizinde, kontrol grubuyla *L.purpureum* yağı uygulanan gruplar arasında koloni sayılarında gözlemlenen farklılık, istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş; ancak elde edilen sonuçlar, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermiştir ($p > 0.05$) (Tablo 9) (Şekil 4.1).

Hep3B hücre hattında hücre migrasyonunun analiz edildiği yara iyileşme testi sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. *L.purpureum* yağı, Hep3B hücrelerin hareketliliği ve migrasyon kapasitesinde azalmaya neden olduğu ve bu değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$) tespit edildi (Tablo 3.2) (Şekil 4.1).

Akkoyunlu (2019) yaptığı çalışmada *Lamium purpureum* L. ile *Lamium galeobdolon* (L.) L. bitkilerinin esansiyel yağlarını Clevenger cihazı kullanarak su buharı distilasyonu ile elde etmiş ve antikanser etkilerini incelemiştir. GC-MS analizinde *L. purpureum* etanol ekstresinde palmitik asit, 9,12-oktadekadienoik asit ve benzil benzoat gibi bileşiklerin, *L. galeobdolon* etanol ekstresinde ise 2(3H)-benzoksazolon, palmitik asit ve tetrakosan gibi bileşiklerin baskın olduğunu tespit etmiştir. Uçucu yağların B16F10 melanom hücre hattı üzerinde MTT testi ile antikanser aktivitelerini değerlendirmiştir. *L. purpureum*'un 50 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek antiproliferatif etki gösterdiğini gözlemlemiş ve %14 oranında hücre canlılığında azalma kaydetmiştir. 100 µg/mL dozda ise antiproliferatif etkinin azaldığını, hücre canlılığının arttığını gözlemlemiştir. Disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal aktivitelerde her iki bitkinin antifungal etkinliğinin antibakteriyel etkinliğinden daha yüksek olduğunu görmüştür. *L. Purpureum*'un 100 µL'lik dozda *Candida tropicalis* mantarına karşı antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmiştir.

Güner (2023) yaptığı çalışmada *Lamium purpureum* bitkisinden elde edilen SSH,SSSE,SSK,SSEA ve SSME ekstrelerinin prostat kanseri hücre hattı (LNCap) üzerindeki sitotoksik ve apoptatik etkilerini incelemiştir.Hücre canlılığı ve sitotoksikite WST-8 yöntemi ile değerlendirmiş, LC₅₀ değerini hesaplamıştır. Mitokondriyal membran potansiyelindeki değişiklikleri JC-1 testi ile, apoptatik süreçleri ise Kaspaz 3/7 aktivitesi ile analiz etmiştir.SSME ekstresinin en düşük LC₅₀ değeriyle en güçlü sitotoksik etkiyi gösterdiğini, SSH ve SSK için mitokondriyal membran potansiyelinde anlamlı bir değişim göstermediğini tespit etmiştir. SSSE ve SSME ekstrelerinin Kaspaz 3/7 aktivitesinde artış gözlemiş ancak bu artışı istatistiksel olarak anlamlı bulmamıştır. Çalışmanın sonucunda

Lamium purpureum bitkisini ekstrelerinin prostat kanseri hücrelerinde apoptotik indüksiyonu tetiklemediğini fakat sitotoksik etki gösterdiğini görmüştür.

Daha önce yapılan çalışmaların göstergesinde gerçekleştirdiğimiz sitotoksite testlerinin literatür ile uyumlu olduğu söylenebilir.

L. purpureum L. Bitkisinin toplam içeriğinin %90.99 unu temsil eden 21 bileşik bulunması tıbbi açıdan bir oldukça değerlidir. Daha önce yapılan çalışmalar da *Lamium* türlerinin sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu sitotoksik etkilerinin palmitik asit (heksadekanoik asit) ve çeşitli kimyasal içeriklerden kaynaklandığını düşünmektedir (Akkyounlu,2019). Yapılan farklı araştırmalar, palmitik asidin tümör baskılayıcı aktivitelere yol açtığını ve antikanser ilaçlarda temel bir bileşik olarak kullanılabileceğini göstermektedir(Akkyounlu,2019). Bizim çalışmamızda palmitik asit oranı %2.7 bulunmuştur. *L. purpureum* L'nin Hep3B hücreleri üzerinde sitotoksik etki yaratmasının nedeni içeriğinde bulunan palmitik asitten ve yüksek orandaki diğer bileşiklerden kaynaklanmış olabilir. Terpen ve Alkan grupları antikanser ve gıda koruma özellikleri ile de birçok kaynakta dikkat çekmektedir. Yapılan bu çalışmada terpen gruplarının hissedilir değerlerde olması bulunan sonuçların varlığını desteklemektedir.

Sentetik üretilen ilaçların ve kemoterapinin sağlıklı hücrelerde istenmeyen yan etkilere yol açmaları ve klinik uygulamalarda yüksek maliyetli olmaları doğal içerikli ilaçların geliştirilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Bu öngörüler doğrultusunda yapılan çalışmada görüldüğü üzere *L. purpureum* esansiyel yağının Hep3B hücre hattında sitotoksik etkisi bulunmaktadır. Bu bitki tamamlayıcı kanser tedavilerinde, ilaç drogları ve aroma terapide doğal bir alternatif olarak kullanılabilir.

Bu çalışma ışığında, ileride yapılacak çalışmalara *L.purpureum* yağının daha yüksek konsantrasyonlarının antikanser etkisinin test edilmesi önerilmektedir. İlave olarak farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktlar kullanarak antikanser aktivitesinin araştırılması için yeni bir ivme kazandırılması planlanmaktadır.

5. KAYNAKLAR

- Abak, F. (2018). *Şanlıurfa ili Lamiaceae (ballıbabagiller) familyasının florası bazı taksonların fitokimyasal ve etnobotanik özellikleri* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 527386).
- Akeren, Z. and Hintistan, S. (2021). Kanser hastalarının semptom yönetiminde aromaterapi kullanımı. *Sakarya Üniversitesi Holistik Sağlık Dergisi*, 4(3), 136–154.
- Akkol, E., Yalçın, F. N., Kaya, D., Çalış, İ., Yeşilada, E., and Ersöz, T. (2008). In vivo anti-inflammatory and antinociceptive actions of some *Lamium* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 166-172.
- Akkoyunlu, A. (2019). *Lamium purpureum L. ve Lamium galeobdolon (L.) L. türlerinin biyolojik aktivitelerinin ve kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 575087).
- Akkoyunlu, A., and Dulger, G. (2019). Chemical composition of *Lamium purpureum L.* and determination of anticancer activity of its essential oil on melanoma. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7, 1755–1763.
- Aktuğ, H. (2014). Apoptozis ve hücre döngüsü. *Ege Tıp Dergisi*, 53(1), 60–64.
- Anonymous. (2019, April 4). Tetradecanal.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/tetradecanal>
- Arslan, N., Baydar, H., Kızıl, S., Karık, Ü., Şekeroğlu, N., and Gümüşçü, A. (2015). Tıbbi aromatik bitkiler üretiminde değişimler ve yeni arayışlar. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi* (pp. 483-507).
- Atalay, Z., Celep, F., Bara, F., and Doğan, M. (2016). Systematic significance of anatomy and trichome morphology in *Lamium* (Lamioideae; Lamiaceae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 225, 60-75.
- Aydemir, A. T. (2011). *PMMA kaplanmış süperparamanyetik nanoparçacıkların kemoterapi ilaçları ile yüklenmesi ve insan karaciğer hücreleri (Hep3B) üzerinde etkilerinin belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 282914).
- Beyaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: Antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 45, 53.

- Brix, N., Samaga, D., Belka, C., Zitzelsberger, H., and Lauber, K. (2021). Analysis of clonogenic growth in vitro. *Nature Protocols*, 16(4), 4963-4991.
- Castaneda, M., den Hollander, P., Kuburich, N. A., Rosen, J. M., and Mani, S. A. (2022). Mechanisms of cancer metastasis. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 87, pp. 17-31).
- Cellat, K. (2011). *Bazı endemik bitkilerin uçucu yağ bileşenlerinin ekstrakte edilmesi ve içeriklerinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 283263).
- Charkhian, H., Ghafour, A. A., and Tuncer, S. B. (2021). Lactobacillus acidophilus'un HepG2 kanser hücrelerinde bakteriyosin toksisitesinin MTT yöntemi ile değerlendirilmesi. *4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences*, November 24-26.
- Cınbirtoğlu, Ş. (2014). *Bal arısı (Apis mellifera L.)'nin ilkbahar döneminde polen toplama aktivitesi ile tercih edilen bitki türlerine ait polenlerin bazı morfolojik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 363727).
- Çağlıyan, E. (2022). *Lamium orientalis bitkisinin farklı organlarına ait metanol ekstraktlarının antikanser ve bazı biyolojik özelliklerinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 735019).
- Çalikoğlu, E., Kıralan, M., and Bayrak, A. (2006). Uçucu yağ nedir, nasıl üretilir ve Türkiye'deki durumuna genel bir bakış. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Çatak, E., & Atalay, A. (2022). Lamiaceae (Labiatae) (ballıbabagiller) familyası'nın ekonomik ve tıbbi değerleri. *Engineering, Natural & Medical Sciences*, 9(20), 150–157.
- Çetiner, A. U., Yıldırım, B. Ç., Yaşar, K., Gökçe, A., and Koçyiğit, N. (2021). Kanser hücrelerinin genetik yapısı ve mekanizmaları. Erişim adresi: <https://www.researchgate.net/>
- Dağdeviren, T. (2021). Programlı hücre ölümü; apoptoz. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(3), 120-135.
- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and East Aegean Islands* (Vol. 10).

- Deveci, A., Nur, G., Kirpik, M., Harmankaya, A., and Yıldız, Y. (2016). Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1).
- Duman, İ. (2018). *Endometrium adenokarsinoma hücrelerinde d vitamininin proliferasyon, migrasyon ve invazyon üzerine etkileri* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 501461).
- Erbil, N. (2012). *Ardahan yöresinde yetişen Lamiaaceae (Labiatae) familyasına ait bazı türlerin biyoaktiviteleri* (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 309142).
- Erdoğan, B. B., and Uzaslan, E. K. (2003). Apoptozis mekanizmaları: Tümör gelişiminde fas-fas1 bağımlı apoptozis. *Türkiye Klinikleri Archives of Lung*, 4(3), 165-174.
- Erkekoğlu, P., and Baydar, T. (2021). Güncel in vitro sitotoksikite testleri. *Hacettepe University Journal Of The Faculty Of Pharmacy*, 41(1), 45-63.
- Felekoğlu, R. (2021). *Yeni sentezlenen antitirozinaz aktiviteye sahip kojik asit türevlerinin A375 malin melanoma hücre hattında sitotoksikite ve hücre ölümü üzerine etkisinin aydınlatılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 662945).
- Flamini, G., Cioni, P. L., and Morelli, I. (2005). Composition of the essential oils and in vivo emission of volatiles of four Lamium species from Italy: *L. purpureum*, *L. hybridum*, *L. bifidum* and *L. amplexicaule*. *Food Chemistry*, 91(1), 63-68.
- Franken, N. A., Rodermond, H. M., Stap, J., Haveman, J., and Van Bree, C. (2006). Clonogenic assay of cells in vitro. *Nature Protocols*, 1(5), 2315-2319.
- Gökhaner, G. (2018). *Yeni sigma-1 reseptör antagonisti SIRA (E-52862)'nın ve rimkazol'ün U87MG glioblastoma hücrelerinde sfingosin kinaz sinyal yolağı üzerinden antikanser etkisinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 484839).
- Gülal, E. (2015). *Bitki ekstraktlarının çürük etkeni bakteriler üzerindeki antibakteriyal etkinliği, sitotoksikite ve apoptoz-nekroz indekslenmesinin in vitro olarak incelenmesi*. (Uzmanlık Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 417318).
- Gültepe, A. (2013). *Papaver somniferum L. çiçeklerinin esansiyel yağ içeriği, antimikrobiyal ve antifungal özelliklerinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi).

- Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 336967).
- Güner, A. (2023). *Lamium purpureum* bitkisinin prostat kanseri hücre hattında antikanser etkisinin incelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 806274).
- Günerhan, K. T. (2015). *HEP3B hücrelerinde VEGF sitokininin ADAMTS-1 geni üzerine etkilerinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 395614).
- Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
- Iordache, A., Culea, M., Gherman, C., & Cozar, O. (2009). Characterization of some plant extracts by GC–MS. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 267(2), 338-342.
- Işıkdoğan, A., Yalçın, B., and Akbulut, H. (2003). Onkogenler ve otoimmün hastalıklar. *Türkiye Klinikleri Journal of Immunology Rheumatology*, 3(1), 31-38.
- Jones, C. D., Woods, K. E., and Setzer, W. N. (2012). A chemical ecological investigation of the allelopathic potential of *Lamium amplexicaule* and *Lamium purpureum*. *Open Journal of Ecology*, 2, 167-177.
- Karaca, F. (1992). *Defne yapraklarından süperkritik ekstraksiyon ile esansiyel yağ eldesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 23229).
- Karaciğer Kanseri Hücre Hatları Veritabanı Hep3B hücre hattı. (2024). Erişim adresi: <https://lcl.zucmanlab.com/hcc/cellLines/Hep3B>
- Karaman, M. (2018). *Pankreatik kanserde susturulan CA9 ve TSPAN8 genlerinin etkilerinin in vitro ve in vivo olarak araştırılması* (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 529523).
- Karataş, Ş. M., Mehmet, Ö. Z., Fidan, M. S., Baltacı, C., and Üçüncü, O. (2022). Gümüşhane yöresinde yetişen *Ribes petraeum wulfen* (frenk üzümü) bitkisinden uçucu yağının elde edilmesi, kimyasal içerik ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12(2), 498-511.
- Kılıç, A. (2008). Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10(13).
- Konarska, A., Weryszko-Chmielewska, E., Matysik-Woźniak, A., Sulborska, A., Polak, B., Dmitruk, M., and Rejdak, R. (2021). Histochemical and phytochemical analysis of

- Lamium album* subsp. *album* L. corolla: Essential oil, triterpenes, and iridoids. *Molecules*, 26(14), 4166.
- Liang, C. C., Park, A. Y., and Guan, J. L. (2007). In vitro scratch assay: A convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature protocols*, 2(2), 329-333.
- Matthews, H. K., Bertoli, C., and de Bruin, R. A. (2022). Cell cycle control in cancer. *Nature reviews Molecular cell biology*, 23(1), 74-88.
- Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., and Akbarzadeh, M. (2016). Chemical composition of the essential oil of the flowering aerial parts of *Lamium album* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(3), 773-777.
- Niksic, H., Becic, F., Koric, E., Gusic, I., Omeragic, E., Muratovic, S., Miladinovic, B., and Duric, K. (2021). Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines. *Scientific Reports*, 11(1).
- Park, M. T., & Lee, S. J. (2003). Cell cycle and cancer. *BMB Reports*, 36(1), 60-65.
- Prins, C. L., Vieira, I. J., and Freitas, S. P. (2010). Growth regulators and essential oil production. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22, 91-102.
- Rafehi, H., Orłowski, C., Georgiadis, G.T., Ververis, K., El-Osta, A., and Karagiannis, T.C. (2011). Clonogenic Assay: Adherent Cells. *Journal of Visualized Experiments*, doi: 10.3791/2573.
- Roman, I., Puică, C., Toma, V., Necula, R., Grigoras, V.A., and Costa, A. (2016). Effects of *Lamium album* and *Lamium purpureum* extracts administration on the liver function in anakinetic stress conditions. *Studii și Cercetări, Biology*, 20, 31-42. Erişim adresi: <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/>
- Salehi, B., Armstrong, L., Rescigno, A., Yeskaliyeva, B., Seitimova, G., Beyatli, A., Sharmeen, J., Mahomoodally, M. F., Sharopov, F., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Abenavoli, L., Capasso, R., and Sharifi-Rad, J. (2019). *Lamium* plants A comprehensive review on health benefits and biological activities. *Molecules*, 24(10).
- Saltan, N. (2021). *Türkiye'de yetişen Leonurus L. türleri üzerine farmasötik botanik yönden araştırmalar* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 668607).
- Sarı, A. O., Oğuz, B., Bilgiç, A., Tort, N., Güvensen, A., and Şenol, S. G. (2010). Ege ve Güney Marmara bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 20(2), 1-21.

- Sarı, Z. B. (2019). *Endotel hücreleri ve larinks kanseri hücrelerinin karşılıklı konuşmalarının hücre çoğalması, invazyon ve metastaza etkilerinin incelenmesi* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 566217).
- Selçuk, G. (2011). *Karaciğer (Hep3b), prostat (pc3) ve meme (mcf7) kanseri hücre hatlarında tgf- β ve tnf- α sitokinlerinin tümör ilişkili CaxIX ve CaxII ekspresyonuna etkileri* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 300051).
- Solmaz, E. (2009). *Lamium purpureum L. var. türünün farklı ekstrelerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi ve aktivitede rol oynayan fenoliklerin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 245508).
- Terzioğlu, G., Keskin, A. Ü., and Yanıkkaya Demirel, G. (2013). Hücre proliferasyonu ölçüm yöntemleri ve çeşitli ticari proliferasyon kitlerinin karşılaştırılması. *Turk J Immunol*, 1(3), 74-89.
- Tok, K. (2019). *Farklı kanser hücre hatlarında buğday çimi (Triticum aestivum L.) ekstraktının apoptotik ve otofajik etkilerinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 561594).
- Tokur, O., and Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksosite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112-118.
- Turan, F., Rengin, G., and Sayın, S. (2012). Su ürünleri yetiştiriciliğinde esansiyel yağlar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 35-40.
- Turhan, D. (2015). *Bazı esansiyel yağların staphylococcus aureus ve escherichia coli üzerine antimikrobiyal etkisinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 405042).
- Uçar, E., Odabaşı Köse, E., Özyiğit, Y., and Turgut, K. (2015). Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 118-12.
- Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı. (2024). Kanser istatistikleri. Erişim adresi: https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations. Erişim tarihi: 1, 2024.

- Ulusoy, G. (2022). *Bazı uçucu yağların çeşitli kanser hücre hatları üzerindeki potansiyel etkilerinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 754073).
- Williams, G. H., and Stoeber, K. (2012). The cell cycle and cancer. *The Journal of Pathology*, 226(2), 352-364.
- Yalçın, G. T. (2013). *Flavonoidlerin kanser hücrelerine etkisi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 329293).
- Yaman, T. (2017). *Gül yağı eldesinde destilasyon işlemi öncesi ultrases uygulamasının işlem süresi, uçucu yağ bileşimi ile proses verimine etkisinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 463689).
- Yavuz, B. (2016). *Klorojenik asidin insan servikal kanser hücreleri (HeLa) üzerindeki sitotoksik etkisinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 426803).
- Yırtmaz, T. (2022). *Kemik doku rejenerasyonu için ballıbaba ekstraktı ile kaplanmış gümüş nanopartikül katkılı kitosan/PCL nanofiber üretimi ve karakterizasyonu* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 755025).
- Yokuş, B., & Çakır, D. Ü. (2012). Kanser biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (1), 7

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı :Kader Toprak

Doğum tarihi ve yeri :

e-posta :

Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Lisans	Sakarya Üniversitesi/Gıda Mühendisliği	2017
Lise	Savaştepe Anadolu Öğretmen Lisesi	2013