



**TAFLAN (*Prunus laurocerasus* L.) MEYVESİNİN
ANTİPROLİFERATİF AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

BÜLENT YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KİMYA ANA BİLİM DALI
Prof. Dr. RAMAZAN ERENELER
2016**

Her hakkı saklıdır

**T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TAFLAN (*PRUNUS LAUROCERASUS L.*) MEYVESİNİN
ANTİPROLİFERATİF AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

BÜLENT YILMAZ

**TOKAT
2016**

Her hakkı saklıdır



Bu tez çalışması;

**Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
2015/30 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Bülent YILMAZ tarafından hazırlanan “**Taflan (*prunus laurocerasus* L.) meyvesinin antiproliferatif aktivitelerinin incelenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 3 MART 2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği İle Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA ANA BİLİM DALI nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.


Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Ramazan ERENELER


.....

Üye
Doç. Dr. İbrahim TÜRKEKUL


.....

Üye
Yrd. Doç. Dr. Salih ÖKTEN


.....

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ONAY


.....

Prof. Dr. Mehmet Ali SAKİN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Bülent YILMAZ

3 Mart 2016

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TAFLAN (*Prunus laurocerasus* L.) MEYVESİNİN ANTİPROLİFERATİF AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

BÜLENT YILMAZ

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Ramazan ERENLER

Bitkilerin ilaç olarak kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Etken madde içeren bitkisel ilaçlar, toprak üstü ve toprak altı kısımlarından oluşur. Doğal ürünler birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığı gibi, en önemli kullanım alanları kansere karşı gösterdikleri tesirdir. Bitkilerden izole edilen biyoaktif etken bileşikler kanser ilacı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada; taflan meyvesi suda iki saat kaynatıldı ve su kısmı sırasıyla hekzan, etil asetat ve n-bütanol ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. Elde edilen ekstraktların antiproliferatif etkileri HeLa (İnsan rahim kanser hücreleri), HT29 (İnsan kolon kanser hücreleri), C6 (Sıçan beyin tümörü) ve Vero (Afrika yeşil maymun böbrek epitelyum) kanser hücre hatlarına karşı araştırıldı. Antiproliferatif aktivite BrdU Elisa kitleriyle, sitotoksit testleri LDH kitleriyle gerçekleştirildi. Ekstraktların antiproliferatif etkilerinin düşük olduğu belirlendi. Ayrıca hekzan ekstraktının yağ asitleri analizleri GC-MS ile gerçekleştirildi ve linoleik asit, palmitik asit ve oleik asit oranları en yüksek bileşikler olarak belirlendi.

2016, 34 sayfa

Anahtar Kelimeler: Taflan, *Prunus laurocerasus*, Antiproliferatif aktivite, HeLa, HT29, C6, Vero kanser hücre hatları.

ABSTRACT

MASTER THESIS

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITIES OF *Prunus laurocerasus* FRUIT

BÜLENT YILMAZ

GAZIOSMANPASA UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

SUPERVISOR: Prof. Dr. Ramazan ERENLER

The usage of plants as drugs is as old as mankind. The plants drugs consisting of active compounds made up of upper soil part and below soil part. Natural products have been used for treatment of many illnesses. The significant usage of plants is the treatment of cancer. The active compounds derived from plants have been used for cancer drugs commonly. In this work, *Prunus laurocerasus* fruit was boiled in water for two hours and then, water part was partitioned with hexane, ethyl acetate and n-butanol respectively. The antiproliferative effects of extracts were carried out on HeLa (human cervix carcinoma), HT29 (human colon carcinoma), C6 (rat brain tumor), and Vero (African green monkey kidney epithelium) cells lines. BrdU cell proliferation ELISA and lactate dehydrogenase (LDH) assays were used for antiproliferation and cytotoxicity respectively. The plant extracts exhibited the low antiproliferative activity. Fatty acid analysis of hexane extract was executed by GC-MS and linoleic acid, palmitic acid and oleic acid were detected as the major products.

2016, 34 pages

Keywords: Taflan, *Prunus laurocerasus*, Antiproliferative activity, HeLa, HT29, C6, Vero cells lines.

TEŞEKKÜR

Tez alıőmam boyunca, bilgi, fikir ve her trl desteğini grdğm, her zaman benim için bir yol gösterici olan ve tez yazımında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ramazan ERENLER'e,

Bölümümüzün her türlü imkânından faydalanmamı sağlayan Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü yöneticilerine ve Bitki Araştırma Laboratuvarı elemanlarına;

Bu çalıőmamı 2015/30 proje no ile destekleyen Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna;

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme

Teőekkürü borç bilirim

Bülent YILMAZ

3 Mart 2016

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGE DİZİNİ.....	vi
SİMGE DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Taflan: (<i>Prunus laurocerasus</i>)	7
2.2. Literatür Özeti.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1. Bitkisel Materyal.....	11
3.4. Antikanser Aktivite Testleri.....	11
3.4.1. BrdU Hücre ELİZA (Cell ELISA) Testi.....	11
3.4.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Sitotoksosite Testi	12
3.4.4. Hücre Hatları.....	13
3.4.4.1. C6 Hücreleri (Sıçan glioma)	13
3.4.4.2. HeLa Hücreleri (Serviks adenokarsinomu)	13
3.4.4.3. HT29 Hücreleri (Kolon kanseri).....	14
3.4.4.4. Vero Hücreleri (Afrika yeşil maymun böbrek epitel).....	14
3.4.4.5. Hücre Kültürü	14
3.4.4.6. GC-MS Analizleri.....	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	16
4.1. Ekstraksiyon İşlemleri	16
4.2. Antikanser Aktivite Testleri.....	16
4.4. <i>Prunus laurocerasus</i> Ekstrelerinin Sitotoksik Aktivitesi	17
4.5. <i>Prunus laurocerasus</i> Ekstrelerinin Sitotoksisitelerinin Morfoljik Değerlendirilmesi.....	18
4.6 GC-MS Analizleri.....	20
ÖZGEÇMİŞ	22
KAYNAKLAR	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Doğal ürünlerin ilaç sanayidedeki yeri	3
Şekil 2.2. Antikanser ilaçlarındaki doğal ürün oranları	4
Şekil 2.3. Kansere karşı etkili doğal bileşikler	5
Şekil 2.4. Enfeksiyonlara karşı ilk doğal ürünler.....	6
Şekil 2.5. İlk antimikrobiyal ilaçlar olarak doğal ürünler.....	6
Şekil 2.6. Taflan (<i>Laurocerasus officinalis</i>) meyvesi.....	7
Şekil 2.7. Böğürtlen (<i>Rubus fruticosus</i> L)'den izole edilen triterpenoidler	8
Şekil 2. 8. <i>Fragaria ananassa</i> bitkisinden izole edilen flavonoidler.....	9
Şekil 4.1. Ekstraksiyon işlemleri	16
Şekil 4.2. HeLa, HT29, C6, ve Vero hücre hatları üzerinde taflan meyvesi ekstrelerinin ve pozitif kontrol 5FU'nun antiproliferatif etkileri	17
Şekil 4.3. Taflan meyve ekstrelerinin HeLa, HT29, C6, ve Vero hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi.	18
Şekil 4.4. Taflan meyve ekstrelerinin HeLa, HT29, C6 ve Vero hücre hatları morfolojileri üzerindeki etkileri.....	19

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

Çizelge 4. 1. Hekzan ekstaktında bulunan yağ asitleri 21



SİMGE DİZİNİ

Simge	Açıklama
μg	Mikrogram
mg	Miligram
kg	Kilogram
μL	Mikrolitre
mL	Mililitre
L	Litre
mM	Milimolar
μM	Mikromolar
ppm	Milyonda bir kısım
mM	Milimolar
μM	Mikromolar

1. GİRİŞ

Karayemiş Rosaceae familyası *Prunoideae* cinsi ve *laurocerasus* türüne ait bir bitkidir. Bu bitki, *Laurocerasus officinalis* Roemer veya *Prunus laurocerasus* L. Mill. gibi isimlerle bilinmektedir. Bitkinin tabii yayılma alan Karadeniz'in doğu bölgeleri, Kafkaslar, Toroslar, Kuzey ve Doğu Marmara'dır. Bu bölgeler içerisinde karayemiş, Rize, Trabzon (Maçka-Meryemana Vadisi), Giresun, Sinop (Ayancık), Zonguldak (Devrek), Kastamonu, Bartın, Bolu, İzmit (Keltepe), Adapazarı, İstanbul (Belgrat Ormanı, Alemdağ), Bursa (Uludağ) ve Osmaniye (Gâvurdağları)'de orman veya orman kıyılarında doğal olarak yetişmektedir (Islam ve Vardal, 2009). Karayemiş (*Prunus laurocerasus*) anavatanı Doğu Karadeniz Bölgesi olan ve bölgemizde "taflan" adıyla bilinen meyve ve süs bitkisi olarak yetiştiriciliği yapılan bir meyvedir. Karadeniz bölgesinde yol kenarlarında, ev bahçelerinde, parklarda çok sık rastlanır. Meyvesi pazarlarda satılır ve bölge halkı tarafından severek taze olarak tüketilir. Ayrıca reçeli, pekmezi, tuzlaması yapılır ve kurutulmuş olarak tüketilir. Meyvelerinin mide ve bağırsak hastalıklarına iyi geldiği, şeker hastaları için uygun olduğu; tokluk verdiği için diyet meyvesi olduğu, çekirdeğinin iç kısmının tansiyon ilacı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca kışın yapraklarını dökmeyeceği için yapraklar hayvan yemi olarak kullanılır. Bunun yanı sıra, meyveleri likör yapımında da kullanılır. Köklerinin derin olması nedeniyle meyilli arazilerde erozyonla mücadelede etkilidirler.

Karayemiş bitkisi yaz-kış yaprağını dökmeyen (her dem yeşil) boylu çalı ya da ağaç formundadır. Ağaçları 6-10 m kadar boylanabilmektedir. Özellikle kayın ormanlarının altında yer alır. Ormancılık bakımından zararlı bir alt flora bitkisidir. Kökleri derine gider. Düzgün ve genellikle dik bir gövde yapar. Gövde grimsi siyah, donuk siyah renktedir. Sert odun dokusu ve kuvvetli bir dal sistemi vardır. Karayemişlerde ağaç başına verim 20-110 kg arasında değişmektedir. Ortalama verim 50 kg'dır. Vejetasyon döneminde yağışın yeterli olması meyve iriliğini artırmaktadır (Islam, 2002). Toprak isteği bakımından çok seçici değildir. Tınlı-kumlu geçirgen, organik maddece zengin ve bitki besin elementleri bol topraklarda iyi yetişir. Toprak pH'sı 5-7 arasında asit karakterli topraklar uygundur. Karayemiş bitkisi besinlerinin yaklaşık % 90'ını kökleri ile alır. Kökleri yeterince oluşmamış ve gelişmemiş bir bitki, diğer tüm koşullar sağlansa bile gereği gibi gelişemez. Bu nedenle büyüme döneminde kök gelişimine

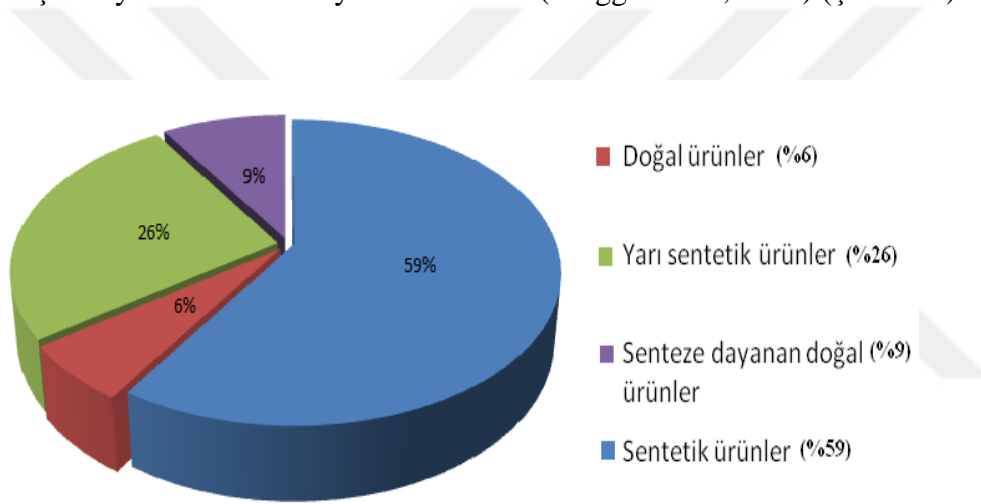
önem verilmelidir. Uygun kök gelişimi koşullarının sağlanabilmesi için, ortamının bitkinin fotosentez yapımını artıran (bol güneş ışığı almalı, yeterli karbondioksit gazı bulunmalı) koşulları taşınması sağlanmalıdır. Ayrıca, karayemiş bitkisinin yetiştirildiği toprağın hava içeriğinin artırılması için tavlandırılması gereklidir. Bu dönemde toprak hafif nemli olursa, köklerin fotosentez ürünlerinden yararlanması artar ve dolayısıyla kökler daha iyi gelişim gösterir (Sulusoglu, 2012).

Bu çalışmada; Karadeniz Bölgesi'nde aktif şekilde meyvesinden yararlanan "taflan" meyvesinin antiproliferatif aktiviteleri incelenecek ve yağ asitleri belirlenecektir.



2. GENEL BİLGİLER

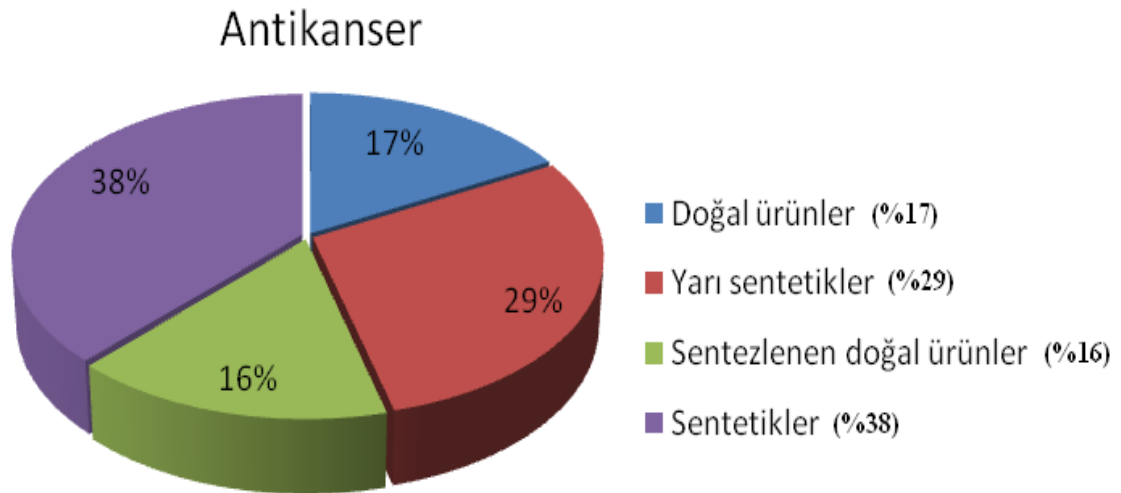
Bitkiler, eski çağlardan beri tedavi amaçlı kullanılmaktadır. İçerdikleri biyoaktif sekonder metabolitlerden dolayı, ilaç hammaddesi başta olmak üzere geniş bir kullanım alanına sahiplerdir (Wang ve ark., 2011). Bitkisel ilaçlar, toprak üstü ve toprak altı kısımlardan oluşur ve etkin madde içerirler. Bitkisel materyaller; meyve suları, reçineler, yağ asitleri, uçucu yağlar ve diğer maddeler içermesine rağmen, bitkisel ilaçlar, aktif maddelerle birlikte tatlandırıcı içermektedirler (Harvey, 2008). Doğal ürünlerin doğrudan kullanımı, doğal ürünlerin modifiye edilmesi, (yarı sentetik ürünler), ilaç sanayinde önemli bir yer tutmaktadır (Cragg ve ark., 1997) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Doğal ürünlerin ilaç sanayideki yeri

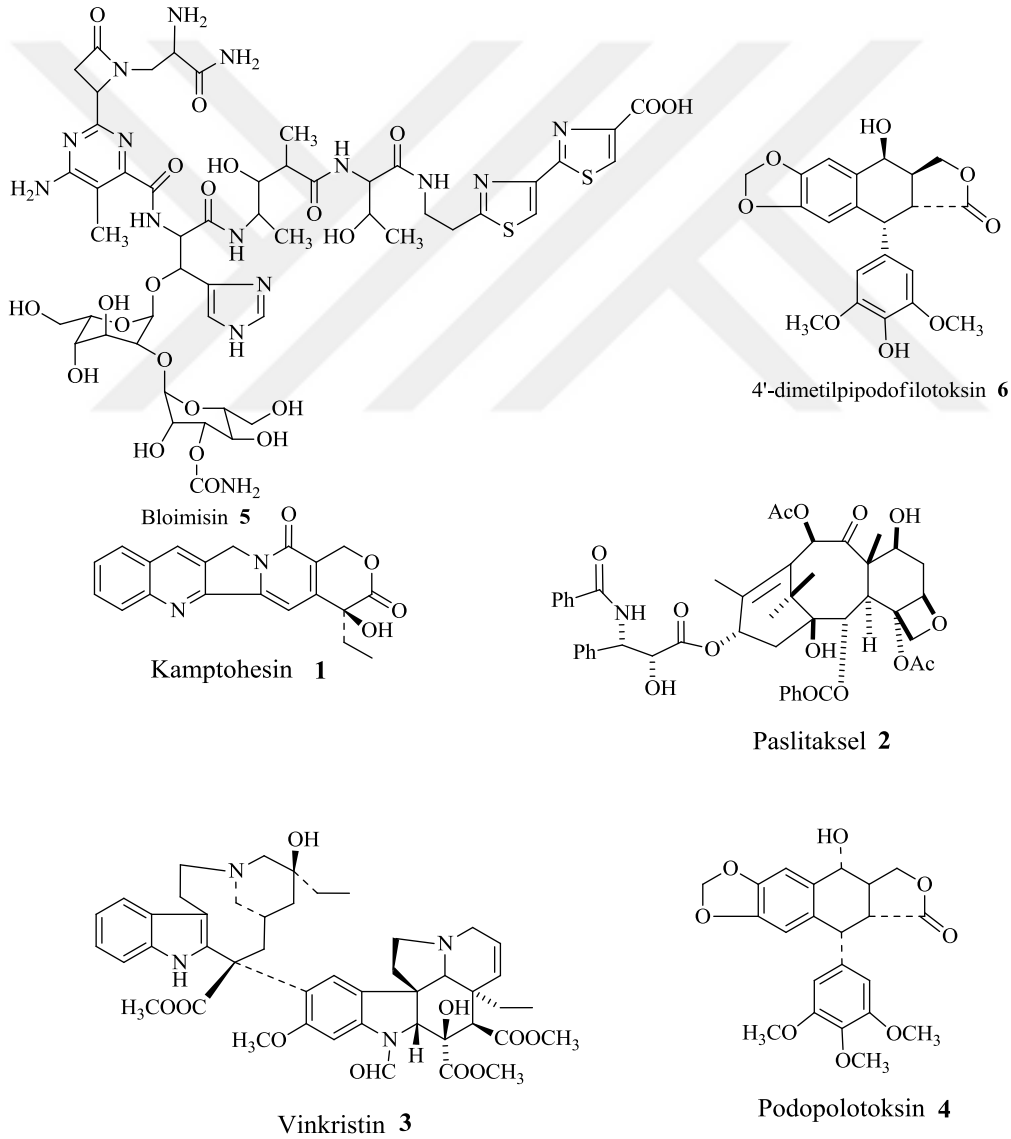
Etken madde niteliğinde olan sekonder metabolitlerin bitkilerden izolasyonu, son yılların en önemli çalışma konularındandır. Etken maddelerin izolasyonu, yapılarının belirlenmesi, farmakolojik etkilerinin ortaya konması üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Doğal ürünler birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığı gibi, en önemli kullanım alanları kansere karşı gösterdikleri tesirdir. Kanser, vücuttaki hücrelerin anormal olarak çoğalmasıdır. Kanser hücreleri normal hücrelere saldırmakta ve onları yok etmektedirler (de Mesquita ve ark., 2009). Her yıl milyonlarca insan kanserden ölmektedir. Amerikan Kanser Kurumuna göre yılda, dünyada gerçekleşen ölümlerin %2-%3'ü kanserden kaynaklanmaktadır. Böylece kanser, yılda dünyada yaklaşık 3.5 milyon insanın ölümüne sebep olmaktadır. Bazı antitümör ilaçlar kansere karşı

kullanılmaktadır, fakat bunların yan etkilerinden dolayı kullanımları kısıtlanmıştır (Fouche ve ark., 2008). Kanserin ölümcül etkisi, kullanılan kemoterapi ve radyasyon terapilerin ciddi yan etkilerinin olması, birçok kanser hastalarını alternatif ve tamamlayıcı tedaviye yönlendirmektedir. Son zamanlarda yapılan bilimsel araştırmalar, yan etkisi olmayan ve kanseri tedavi edebilen ilaçların geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmaktadır (Georgaki ve ark., 2009). Bugün kullanılan ilaçların %80'i doğal ürünlerden oluşmakta veya doğal ürünlerden elde edilen moleküllere farklı gruplar takılarak etkinliği artırılmaktadır (Pezzuto, 1997). Dünya Sağlık Örgütüne göre, gelişmekte olan ülke nüfusunun %80'i ilk tedavi için geleneksel ilaçlar kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan bir çalışmada kanser hastalarının %60'ı vitaminler ve bitkisel ilaçlarla tedavi olmaktadır (Madhuri ve Pandey, 2008). Doğal kaynaklı, yeni antikanser ilaçlarının keşfi üzerinde bilimsel ve ticari ilgi oldukça fazladır (Cragg ve Newman, 2003). Doğal ürünlerin antikanser olarak kullanılma potansiyeli, 1950'li yıllarda Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından keşfedildi ve bundan sonra birçok doğal kaynaklı antikanser ajanlarının ortaya konması bu alandaki keşfe önemli katkılar sağladı (Cragg ve Newman, 2005). Böylece tıbbi bitkilerden yeni antikanser bileşiklerin izolasyonu, antikanser ilaç gelişiminin öncüsü olmuştur (Şekil 2.2). *Podophylum peltatum*'dan izole edilen podophyllotoxin kansere karşı ilk bulunan moleküldür. 4'-demethylepipodophyllotoxin den türevlendirilen etoposide ve teniposide klinik olarak kanser tedavisinde kullanılmaktadır (Nicolaou ve ark., 1999).



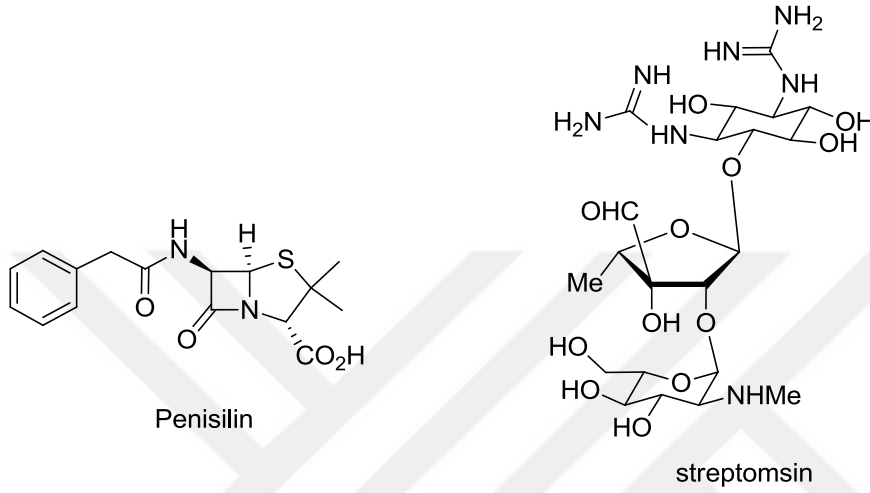
Şekil 2.2. Anti kanser ilaçlarındaki doğal ürün oranları

Doğal ürünler, anti kanser ilaçlar içerisinde önemli bir kısmı oluşturmaktadır. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü, 1960-1982 yılları arasında 35000 bitki örneğinden elde edilen 114000 ekstrakte üzerinde kanser taraması gerçekleştirdi ve bu Enstitü, 1987’de insan kanser hücrelerine karşı yeni bir doğal ürünler programı başlattı. 20 ülkeden topladıkları 28800 bitki örneğinin anti kanser taramalarını gerçekleştirdi. Bu çalışmaların sonucunda klinik olarak yararlı ve satışa uygun ilaçlar ortaya çıktı. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü geçen 10 yıl içerisinde 87 anti kanser ilacını onayladı. Onayladığı bu ilaçların %62’si doğal ürünlerden oluşmaktadır veya doğal ürünler model alınmıştır (Cragg ve ark., 1997). Bu ilaçlardan bazıları Şekil 2.3’te verilmektedir.



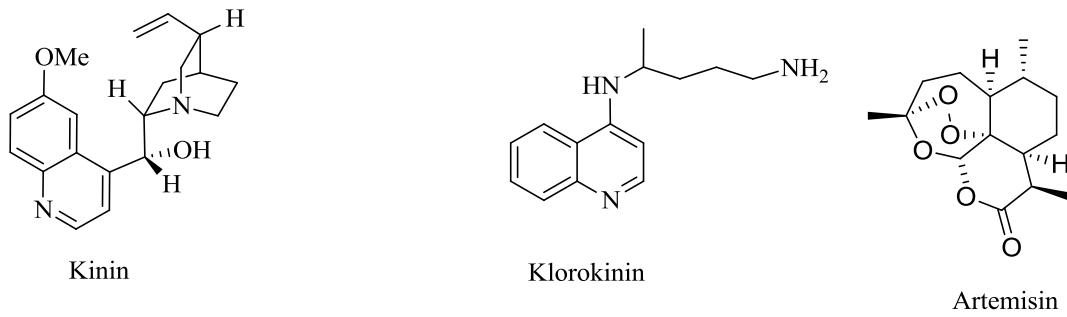
Şekil 2.3. Kansere karşı etkili doğal bileşikler

Anti enfeksiyon olarak doğal ürünler kullanılmaktadır. Bu alanda ilk önemli buluş penisilindir. Bundan önce hastalığın tedavisi mümkün değildi, hatta hastalık ölümlerle sonuçlanıyordu ancak penisilin keşfinden sonra enfeksiyon tedavi mümkün oldu. Penisilinden sonraki buluş streptomisindir (Şekil 2.4) (Farnsworth ve ark., 1985).



Şekil 2.4. Enfeksiyonlara karşı ilk doğal ürünler

Doğal ürünler antimikrobiyal özellik taşımaktadırlar. Kinin ilk antimikrobiyal ilaçtır ve bunu klorokinin gibi ilaçlar takip etmiştir (Şekil 2.5) (Miller, 2000).



Şekil 2.5. İlk antimikrobiyal ilaçlar olarak doğal ürünler

2.1. Taflan: (*Prunus laurocerasus*)

Taflanın meyveleri olgunlaştıkça kırmızı renkten mor renge dönüşmekte olup çekirdek ve meyveleri halk arasında bronşit, egzama, mide hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır.

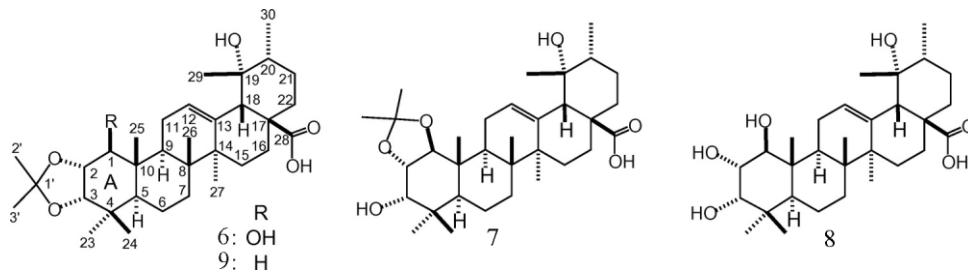


Şekil 2.6. Taflan (*Laurocerasus officinalis*) meyvesi

2.2. Literatür Özeti

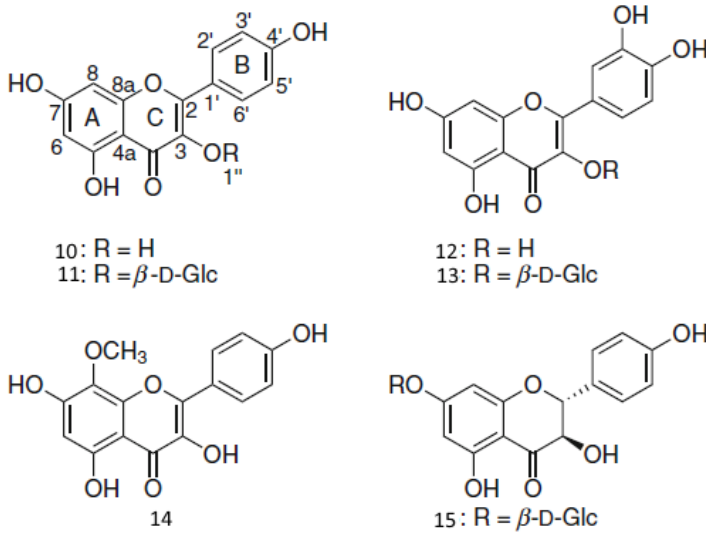
Taflanın meyve ve çekirdeklerinin etanol ekstraktı üzerinde yapılan *in-vivo* deneylerinde, çekirdek ekstraktının farelerdeki kan şekerini %20 oranında inhibe ettiği belirlendi. Ayrıca çekirdek ekstraktının oleik asit, linoleik asit ve palmitik asit ana ürünleri içerdiği GC-MS analizi ile ortaya kondu (Orhan ve ark., 2015). Yapılan başka bir çalışmada taflanın ikinci derece şeker hastalığına karşı faydalı olabileceği ortaya kondu (Zeytinluoglu ve Zihnioglu, 2015). Sırbistan'da yapılan bir çalışmada, taflanın yaprak ve meyveleri üzerinde değişik ekstraksiyon teknikleri (mikro dalga, klasik ve soklet) kullanılarak elde edilen ekstraktların toplan fenolik, toplam flavonoid ve antioksidan aktiviteleri incelendi. Ekstraksiyon tekniklerinin sonuçlar üzerinde önemli etkilerinin olduğu ortaya kondu. Soklet ekstraksiyon ile en fazla ekstrakte elde edildikten, mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen ekstrakt, en fazla fenolik ve flavonoid içerdiği ve en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği gözlemlendi (Karabegovic ve ark., 2014). Taflanın metanol ekstraktında, klorjenik asit (ana ürün), luteolin 7-

glukozit, apigenin-7-glukozit, kaempferol-3-glukozit, kuarsetin-3-glukozit, hidroksi sinamik asit ve naringenin bileşiklerinin bulunduğu HPLC ile belirlendi (Karabegovic ve ark., 2013). Taflan yapraklarının dört farklı ekstraktı üzerinde yapılan antifungan çalışmasında, en yüksek etki metanol ve aseton ekstraktlarında belirlendi (Sahan, 2011). *Prunus laurocerasus* L. var. *serbica* Pancic türünün yapraklarından elde edilen uçucu yağında, benzaldehit (99.7), (E)-2-hekzanal ve (Z)-2-oksimenon ana ürünler olarak belirlendi (Stanisavljevic ve ark., 2010). *Prunus* türlerinde siyanogenik glukozitler bulunmaktadır. *P. serotina*, ve *P. virginiana* türleri amidalin içermektedir (Santamour, 1998). Taflanın ait olduğu Rosaceae familyası önemli bitkilerin ait olduğu bir familyadır. Bu familyaya ait bitkiler üzerinde birçok çalışmalar yapılmıştır. Bu familyadan olan *Aruncus dioicus* bitkisi 24 adet bileşik içermekte ve kafeoglukoz türevleri ana ürünleri oluşturmaktadır. Ayrıca bitki filizlerinin siyanogenik prunasin bileşimini bütün gelişme basamaklarında içerdiği belirlendi. Bitki gelişiminde sinanur içeren prunasin içeriği artmaktadır. İlk yeşil yaprakların gelişiminden sonra filizlerin gıda amaçlı kullanılmaması gerektiği inancını bu durum doğrulamaktadır (Fusani ve ark., 2016). Yine Rosaceae familyasından olan böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.)'den ursan tipi triperpenoidler izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları 2,3-*O*-isopropiliden-1 β ,2 β ,3 β ,19 α -tetrahidroksiurs-12-en-28-oik asit (**6**), 1,2-*O*-isopropiliden-1 β ,2 α ,3 α ,19 α -tetrahidroksiurs-12-en-28-oik asit (**7**), 2,3-*O*-isopropiliden-2 α ,3 α ,19 α -trihidroksiurs-12-en-28-oik asit (**3**) olarak belirlendi (Ono ve ark., 2016).



Şekil 2.7. Böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.)'den izole edilen triterpenoidler

Rosaceae familyasından olan *Fragaria ananassa* bitkisi metanol ile ekstrakte edilmiş ve ekstrakt sırasıyla EtOAc, n-butanol ve su ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuş. Ekstraktlarda uygulanan kromatografik yöntemler sonucu kaempferol (10), astragalın (11), kuersetin (12), isokuersetin (13) seksangularetin (14) ve sinensin (15) bileşikleri izole edilerek yapıları spektroskopik yöntemlerle belirlenmiştir.



Şekil 2. 8. *Fragaria ananassa* bitkisinden izole edilen flavonoidler

Taze meyve ve kuru meyveden yapılan pekmezin antioksidan kapasitelerini değerlendiren bir çalışmada süper oksit radikali ve hidrojen peroksit giderme aktivite testleri kıyaslanmıştır. Yapılan testler sonucunda antioksidana sahip bazı moleküllerin bozulmasından dolayı taze meyveden yapılan pekmezin kuru meyveden yapılan pekmezden daha yüksek aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Alasalvar ve ark., 2006).

Taflanın meyvesindeki şeker içeriğinin, meyve gelişimi ve olgunlaşma sürecindeki değişimi incelenmiş ve şeker içeriği, fruktoz, sukroz, glukoz ve şeker alkolü olan sorbitol olup fruktoz ve glukoz ana bileşenler olarak bulunmuştur. Çiçeklenme döneminin başlangıcından sonra fruktoz ve glukoz miktarı azalmaya başlamıştır. Fruktoz ve glukoz miktarı, 65-86. gün aralığında artarak meyve ağırlığının % 23,6 ve %20,8'i değerine ulaşmıştır. Sorbitol ise çiçeklenme periyodunun başlangıcından 58. günde maksimum seviyesi olan % 13,4'e ulaşmıştır. Glikoz, fruktoz ve sorbitol miktarlarında çiçeklenmeden sonraki 79-85. günler arası (hasat zamanı) hızlı bir artış gözlenmiştir (Ayaz, 2001).

Taflan meyvesindeki fenolik maddelerin çiçeklenme sonrası dönemdeki değişimleri incelenmiştir. Çalışmada çiçeklenmeden 40 gün sonra kullanılan meyvenin fenolik madde içeriği; p-kumarik, kafeik ve ferulik asit (sinamikler) ve benzoik, 4-

hidroksibenzoik, vanilik, 3,4-dihidroksbenzoik asit (benzoikler) olarak tanımlanmıştır. Benzoik, 4-hidroksibenzoik, vanilik ve kafeik asitler çiçeklenmeden 6 hafta ile 12 hafta sonraki periyotta arttığı gözlenmiştir. Ferulik ve vanilik asit miktarlarının da olgunlaşma sonrası periyot olan çiçeklenmeden sonraki 12-16 hafta arasında arttığı gözlenirse de bu artış istatistiki olarak anlamlı ($p=0.05$) bulunmamıştır. Taflan yaprakları, ateş düşürücü etkisinin olmadığı tespit edilip ayrıca denek hayvanlarında mide gastritine sebep olmadığı da aynı çalışmada ortaya konmuştur (Erdemoglu ve ark., 2003). Taflan çekirdeğinde varlığı bilinmekte olan bir fitosterol olan β -sitosterol ayrıca bitkilerde yaygın olarak bulunan bir steroid türevidir. Kanseri hastası yapılmış olan ve fitosterol içerikli besinler ile beslenen denek hayvanlarında, kanserli hücrelerin büyümesini düşürdüğü, tümör boyutlarının küçüldüğü ve prostat, kolon ve meme kanserine yakalanma riskinin düştüğü yapılan çalışmalar sonunda ortaya konmuştur (Awad ve ark., 1997; Awad ve ark., 2000; Awad ve ark., 2001; Ju ve ark., 2004).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Karayemiş bitkisi Ordu ili Kabadüz ilçesi Gürpınar köyünden 2013 yılı temmuz ayında toplanılarak kurutuldu. Kurutulunan meyveler hekzan, etil asetat, n-butanol ve su ile ekstrakte edildi. İlgili ekstraktlar üzerinde antiproliferatif aktivite testleri yapıldı. Hekzan ekstraktından GC-MS ile yağ asitleri belirlendi.

3.4. Antikanser Aktivite Testleri

3.4.1. BrdU Hücre ELİZA (Cell ELISA) Testi

Bu tez çalışmasında taflan meyve ekstrelerinin hücre proliferasyonuna olan etkilerini ve IC₅₀ değerlerini ölçmek amacıyla BrdU ELİZA testi kullanılmıştır. ELİZA BrdU testi genomik DNA çoğalmasına duyarlı olup, buna paralel olarak hücre çoğalması hakkında fikir veren bir testtir. Test maddeleri ile kanser hücre hatları 24 saat inkübe edildikten sonra bu test protokolü uygulanmıştır. Buna göre, inkübasyonun sonunda ortama bir primidin analogu olan BrdU (5-bromo urasil) eklenir ve 4 saat daha inkübe edilerek, DNA polimerazın BrdU'yu DNA'nın yapısına eklemesi beklenir. Sonra ortama DNA yapısına eklenen bu BrdU'yu tanıyan ve üzerinde peroksidaz enzimi taşıyan Anti-BrdU antikoru eklenir. Antikora bağlı enzim, ortama eklenen substratı 450-650 nm dalga boyunda maksimum pik veren bir ürüne çevirir. Spektrofotometrede kolorimetrik olarak bu pik değerinde absorban ölçümü yapılarak % inhibisyon değerleri hesaplanır.

Kültürü yapılan hücreler her bir kuyucuğa 5000 hücre olacak şekilde pipetlenir. Plate yüklenen hücrelerin üzerine DMSO ile çözündürülmüş test maddeleri ve pozitif kontrol (25, 50, 100, 150, 200, 250, 375 ve 500 µg/mL) eklenerek kuyunun son hacmi besi yeri ile 200 µL'ye tamamlanır ve 24 saat inkübe edilir. Her bir kuyuya 20 µL BrdU labeling reagent eklenir ve plate 4 saat inkübe edilir. Süre sonunda plate ters çevrilerek dökülür, kurutma kâğıdında ters vurularak kurulanır, sonra üzerine fix-denat'dan 100 µL eklenir, 45 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra plate ters çevrilerek dökülür ve kurulanır.

Her bir kuyuya Anti-BrdU-POD solüsyonundan 50 µL koyulur ve plate 2 saat inkübe edilir. Her bir kuyuya washing buffer'dan 200 µL koyulur, hafif sallanır, dökülür, kurulanır, yıkama işlemi hızlıca üç kez tekrarlanır. Yıkamadan sonra hiç beklemeden substrat solüsyonundan her bir kuyuya 50 µL eklenir ve 45 dakika inkübe edilir. Süre sonunda her bir kuyuya 1 M H₂SO₄'den 25 µL eklenir ve hiç beklemeden Elisa Reader cihazında 450-650 nm çift dalga boyunda absorbans ölçümü yapılır. Bulunan absorbans değerlerinden % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri hesaplanır.

3.4.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Sitotoksite Testi

Test edilecek moleküllerin hücre sitotoksik aktiviteleri LDH yöntemi ile belirlenmiştir. Test edilen maddeye bağlı olarak inkübasyon süresinde ölen hücre miktarındaki artış, kültür süpernatnında LDH artışıyla sonuçlanacaktır. Hücre hasarı sonucu ortama salınan sitoplazmik enzimlerin ölçümü bu deneylerin temelini oluşturur. LDH sitoplazmik bir enzim olup, çoğu hücrede bulunur ve stabildir. Bu amaçla LDH hücre sitotoksite kiti üreticinin prosedürüne göre kullanılmıştır. Bu testin solüsyonları ve prosedürü aşağıda verilmiştir.

Kültürü yapılan hücreler her bir kuyucuğa 5000 hücre olacak şekilde pipetlenir. Plate yüklenen hücrelerin üzerine DMSO ile çözündürülmüş IC₅₀ dozunda test maddeleri, yüksek kontrol için %2 Triton X-100 (LDH salınımına etkisi %100 kabul edilecek), düşük kontrol için test maddesi içermeyen hücre hattı, besi yeri kontrol için sadece besi yeri içeren kuyu ve pozitif kontrol olarak IC₅₀ dozunda 5-FU eklenerek kuyuların son hacmi besi yeri ile 200 µL'ye tamamlanır ve 24 saat inkübe edilir. Her bir kuyudan hücre içermeyen 100 µL kültür süpernatnı alınarak başka bir mikropate transfer edilir. Üzerine kit içinde bulunan taze hazırlanmış reaksiyon karışımından 100 µL/kuyu olacak şekilde eklenir ve yarım saat karanlıkta inkübe edilir. Stop solüsyonu olarak 50 µL/kuyu olacak şekilde 1 N HCl eklenir. Bu işlem sonunda 492-630 nm'de okuma yapılır ve bulunan absorbans değerlerinden % sitotoksite hesaplanır.

Bitki türevli yenilebilir/yenilemez ürünler büyük oranda antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşikler (örneğin; fenolik asitler, flavanoidler, antosiyaninler, taninler, lignanlar ve kateşinler) içerir. Bu fenolikler, kalp hastalıkları, bazı kanser türleri ve

oksidatif strese bağlı diğer hastalıklara yakalanma riskini arttırdığı bilinen zararlı serbest radikalleri engeller (Ness ve Powles, 1997). Bu bileşiklerin antioksidan özellikleri temelde onların hidrojen atomu vericisi veya indirgeme ajanı olarak davranmalarından dolayı indirgeyebilme yeteneklerinden kaynaklanır. Bu doğal antioksidanlar; serbest radikal toplayıcısı, zincir kırıcı, proantioksidant metal iyonlarını kompleksleştiricisi olarak davranır.

Meyvelerin, sebzelerin ve diğer bitki türevli ürünlerin antioksidan aktivitesini bir tek testle kesin olarak tespit etmek zordur. Doğal kaynaklı ürünlerin antioksidan aktivitesini değerlendirmek/tahmin etmek için birçok test önerilmiştir. Doğal ürünlerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için en azından iki test uygulanmalıdır.

3.4.4. Hücre Hatları

3.4.4.1. C6 Hücreleri (Sıçan glioma)

C6 sıçan (*Rattus norvegicus*) glioma (glial hücre kanseri) hücreleri adheren özellikte olup, fibroblast morfolojisi gösterir. Bu hücreler glukokortikoid reseptörlere sahiptir, bu reseptörlerin uyarılması gliseril fosfat dehidrogenaz sentezine neden olur. Bu hücrelerde önemli miktarda S-100 ve somatotropin üretimi de olur. N-nitrosometilüre ile indüklenen rat (Wistar-Furth ırkı) glial tümöründen klonlanmıştır (Benda ve ark., 1968). Poliovirüslere dirençlidirler (ATCC). C6 hücreleri yüksek proliferatif özellik ve çekirdek pleomorfizmi gösterirler, patolojik olarak kanamalı tümör nekroz bölgeleri oluşumuna neden olurlar (Grobben ve ark., 1995).

3.4.4.2. HeLa Hücreleri (Serviks adenokarsinomu)

HeLa hücreleri adheren olup insan kaynaklı kanser hücre hattıdır ve epitelyal morfoloji gösterirler. Serviks epitelyal adenokarsinom hücreleridir. HeLa hücreleri 1952 yılında 31 yaşında zenci bir kadından alınmıştır. Bu hücrelerin immünoperoksidaz boyama ile keratin pozitif oldukları gösterilmiştir. Poliovirüslere duyarlı olup, human papilloma

virus 18 (HPV-18) dizileri içerirler. P53 ifadeleri düşük, pRB ifadeleri normal bulunmuştur (Capes-Davis ve ark., 2010).

3.4.4.3. HT29 Hücreleri (Kolon kanseri)

HT29 hücreleri adheren özellikte olup insan kaynaklı kanser hücre hattıdır (44 yaşında Kafkas kökenli bir kadından izole edilmiştir) ve mikrovillus içerir. HT29 hücreleri ürokinaz reseptörlerine sahiptir ancak plazminojen aktivatör aktivitesi belirlenmemiştir. HT29 hücreleri CD4 için negatiftir ancak hücre yüzeyi galaktoz seramid ifadesine sahiptir (HIV için alternatif reseptör olabilir). HT29 hücrelerinde c-myc, K-ras, H-ras, N-ras, Myb, sis ve fos onkogenleri ifade edilir. Bu hücrelerde p53 antijeni çok miktarda üretilir ve 273 nolu kodonda G>A mutasyonu olur, bunun sonucu Arg>His aminoasidine dönüşür. Kolorektal adenokarsinom olan HT29 hücreleri epitelyal morfoloji gösterirler. HT29 hücreleri IgA (immünglobülin A), CEA (karsinoembriyogenik antijen), TGF-binding protein (transforme edici büyüme faktörü-beta bağlayıcı protein) ve musin üretirler. HLA, Rh+, A kan grubu gibi antijenleri taşıyıcıdır (ATCC).

3.4.4.4.Vero Hücreleri (Afrika yeşil maymun böbrek epitel)

E. coli toksinlerini (vero toksin de denir) taramada sıklıkla kullanılır. Virüs araştırmalarında, konak hücre olarak kullanılır. Tripanosomalar gibi ökaryotik parazitler için konak hücre olarak kullanılır. Vero hücre hattı sürekli ve aneuploid'dir. Sürekli olduğundan senesens göstermezler. Aneuploidy anormal kromozom sayıları ile karakteristiktir. Vero hücre hattı virüsle infekte olduğunda tip I interferonları salgılayamaz (interferon yetmezliği). Ancak interferon reseptörleri vardır, başka kaynaklardan elde edilen interferonlar ortama eklenince bunlara cevap verirler.

3.4.4.5.Hücre Kültürü

Tüm hücre hazırlama işlemleri laminar kabinde, steril ortamda gerçekleştirildi. Sıvı azot tankından çıkarılan hücreler 37°C sıcaklıktaki benmaride 1-2 dakika bekletildikten

sonra %10 (v/v) FBS (Fetal Bovine Serum), %2 (v/v) PenStrep (Penisilin-Streptomisin) ve %0,22 (wt/v) NaHCO₃ ilave edilen katkılı DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium, High Glucose (4.5 g/L) besi yeri içeren steril T75'lik hücre kültür flasklarında 37°C %5 CO₂ ortamında 3-4 gün inkübe edildi. Hücreler konfluent hale geldiğinde, flasklerdeki besi yeri döküldü ve hücreler 10 mL DPBS (Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline) ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra DPBS döküldü ve adheren hücreleri zeminden çözmek için flaske 5-6 mL %0,25'lik Tripsin-EDTA solüsyonu ilave edildi. Hiç beklenmeden flask el yardımıyla biraz çalkalanarak hücrelerin yüzeyden ayrılması sağlandı ve oluşan hücre süspansiyonu 50 mL'lik steril falkon tüplere aktarıldı. Bu falkon tüplere, tripsini nötralize etmek için 10 mL katkılı taze besi yeri eklendi ve hücreler 1500xg'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısım aspire edildikten sonra hücre pelleti üzerine 4 mL taze besiyeri eklenerek steril pastör pipetle hücreler süspansiyon haline getirildi. Süspansiyon haline getirilen ilk kuşak hücreleri eksponansiyel log fazına sokmak için üçer gün arayla 4 hücre ekimi daha yapıldı. Sonunda eksponansiyel log fazına sokulan hücreler çalışma için uygun hale getirildi. Hücre konsantrasyonunu belirlemek için hücre süspansiyonundan alınan 20 µL hücre ile 20 µL %0,4 (wt/vol) tripan mavisi solüsyonu karıştırıldı, bu karışımın 20 µL'si Thoma lamına pipetlenerek mikroskop altında birinci sayım alanından 5 kare, ikinci sayım alanından 5 kare olmak üzere toplam 10 kare sayıldı [1 mL hücre süspansiyonu içindeki hücre sayısı = 10 karede sayılan toplam hücre sayısı / 10 x 2 (Tripan mavisi seyreltme faktörü) x 16 (bir sayım alanındaki toplam kare sayısı) x 10 000 (katsayı)]. Sayım işleminden sonra yeni bir steril 15 mL'lik falkon tüp içinde çalışılacak hücre stok süspansiyonu hazırlandı.

3.4.4.6. GC-MS Analizleri

Yağ asitlerinin analizi Perkin Elmer Clarus 500 marka kromatografi cihazında yapılmış olup; FID alev iyonizasyon dedektörü ve Restek(Rtx-2330) kapiller kolon (30 m x 0.25 mm x 0,2 µm) kullanıldı. Yağ asitlerinin teşhisinde standart olarak 37 yağ asidinin metil esterleri karışımı kullanıldı. GC cihazının dedektör sıcaklığı 250°C, enjektör sıcaklığı 250°C, enjeksiyon split 50/1, taşıyıcı gaz akış hızı helyum 1 ml/dk olarak cihaza verildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ekstraksiyon İşlemleri

Taflan meyvesi suda iki saat kaynatıldı ve su kısmı sırasıyla hekzan, etil asetat ve n-bütan ile SIVI-SIVI ekstraksiyona tabi tutuldu. Elde edilen ekstraktların antiproliferatif etkileri HeLa (İnsan rahim kanser hücreleri), HT29 (İnsan kolon kanser hücreleri), C6 (Sıçan beyin tümörü) ve Vero (Afrika yeşil maymun böbrek epitelyum) kanser hücre hatlarına karşı araştırıldı. Hekzan ekstraktı GC-MS analizine tabi tutuldu ve yağ asitleri belirlendi.

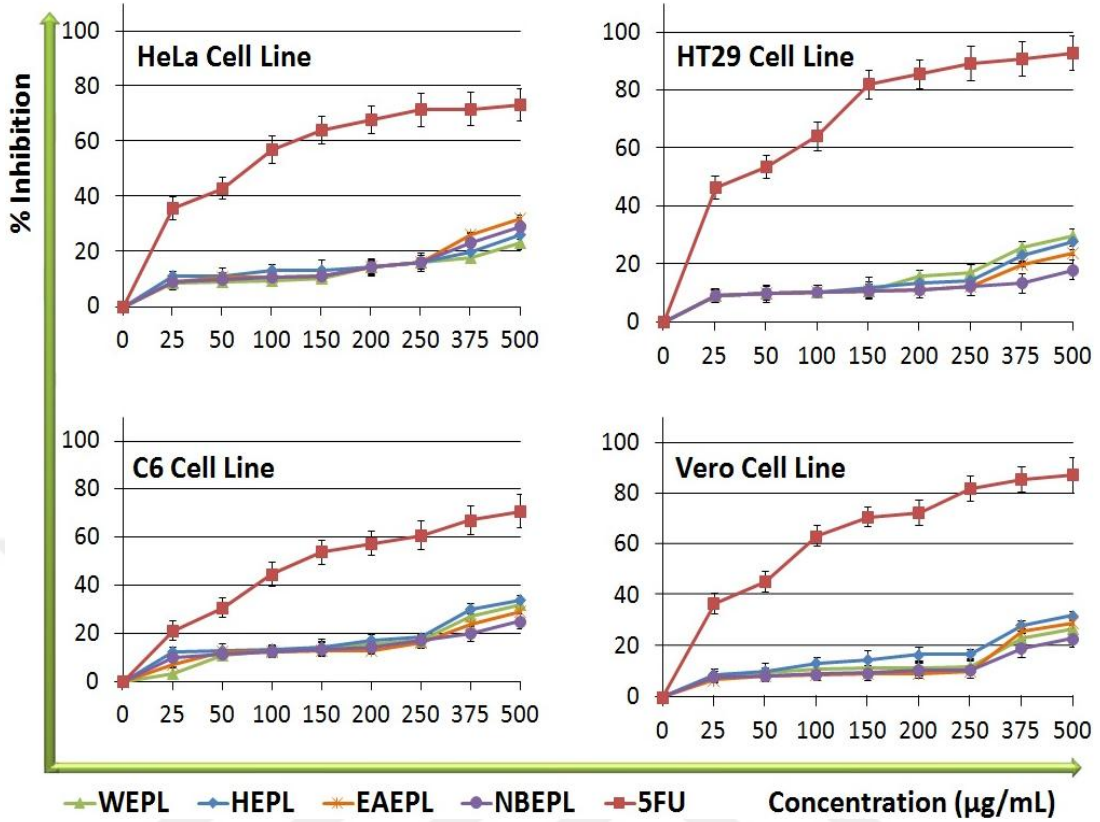


Şekil 4. 1. Ekstraksiyon işlemleri

4.2. Antikanser Aktivite Testleri

4.3. *Prunus laurocerasus* Ekstrelerinin Antikanser Etkisi

Taflan meyve ekstreleri hücre hatlarında büyümeyi çok az inhibe etmiş ve ekstreler arasında belirgin bir fark görülmemiştir (Şekil 4.2). Elimizdeki bilgiler hücre hatlarının ekstrelerine karşı 5FU'dan daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca kontrol hücre hattıyla karşılaştırıldığında kanseröz hücre hatlarında istatistiksel olarak anlamlı belirgin bir fark görülmemiştir ($P > 0.05$).



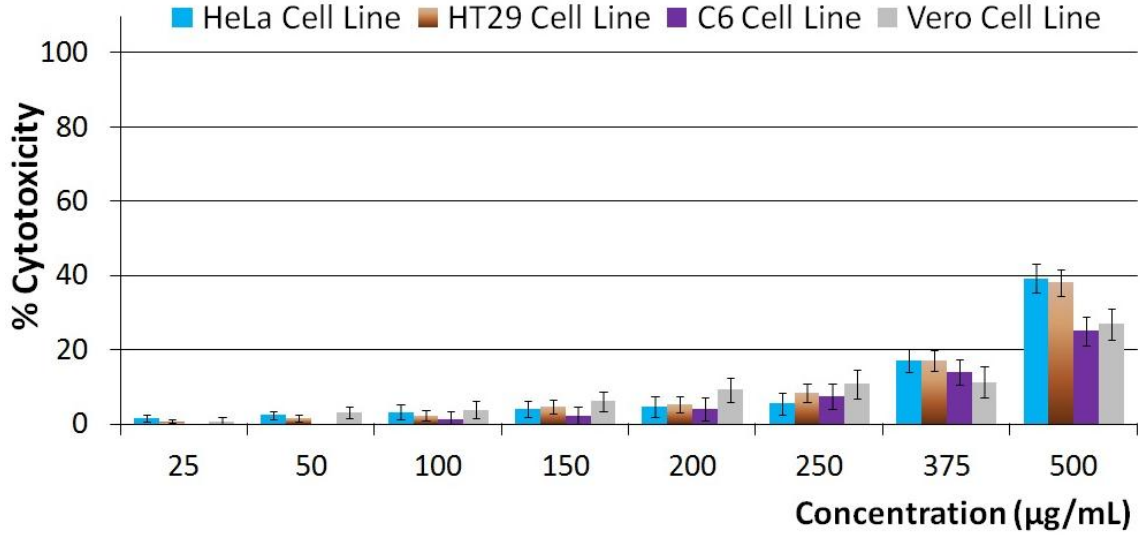
Şekil 4.2. HeLa, HT29, C6, ve Vero hücre hatları üzerinde taflan meyvesi ekstratlarının ve pozitif kontrol 5FU'nun antiproliferatif etkileri (su, hekzan, etil asetat, n-bütanol ekstraktları ve 5-florourasil standardı).

Hücre proliferasyon ölçümü BrdU hücre ELISA ölçüm kitiyle gerçekleştirilmiştir. Yüzde inhibisyon üç bağımsız ölçümün \pm SEM değeri olarak raporlanmıştır ($P < 0.05$). Her bir deney, her hücre hattı için en az üç kez tekrarlanmıştır.

4.4. *Prunus laurocerasus* Ekstrelerinin Sitotoksik Aktivitesi

Meyve ekstratlarının çeşitli konsantrasyonlarının (25, 50, 100, 150, 200, 250, 375, ve 500 $\mu\text{g/mL}$) HeLa, HT29, C6, ve Vero hücre hatları üzerindeki sitotoksik aktiviteleri LDH sitotoksikite kiti kullanılarak ölçülmüştür ve konsantrasyon bağımlı bir hücre membranı zararı olduğu tespit edilmiştir. Sitotoksikite bulguları sadece yüksek konsantrasyonlarda muamele edilen hücrelerin membran bütünlüğünün önemli derecede bozulduğunu ve aynı etkinin daha düşük konsantrasyonlarda görülmediği gözlemlenmektedir (Şekil 4.3). Meyve ekstraktları hücre hatları üzerinde 375 $\mu\text{g/mL}$ 'e doza kadar herhangi bir sitotoksik etki ortaya çıkarmamıştır, bu durum meyve

ekstrelerinin hücreler üzerinde sitotoksik olmadığını göstermektedir. Daha yüksek dozda antiproliferatif etki başlamaktadır. Sonuç olarak, taflan meyve ekstraktlarının kullanılan hücrelere karşı sitostatik etkili olduğunu göstermektedir.



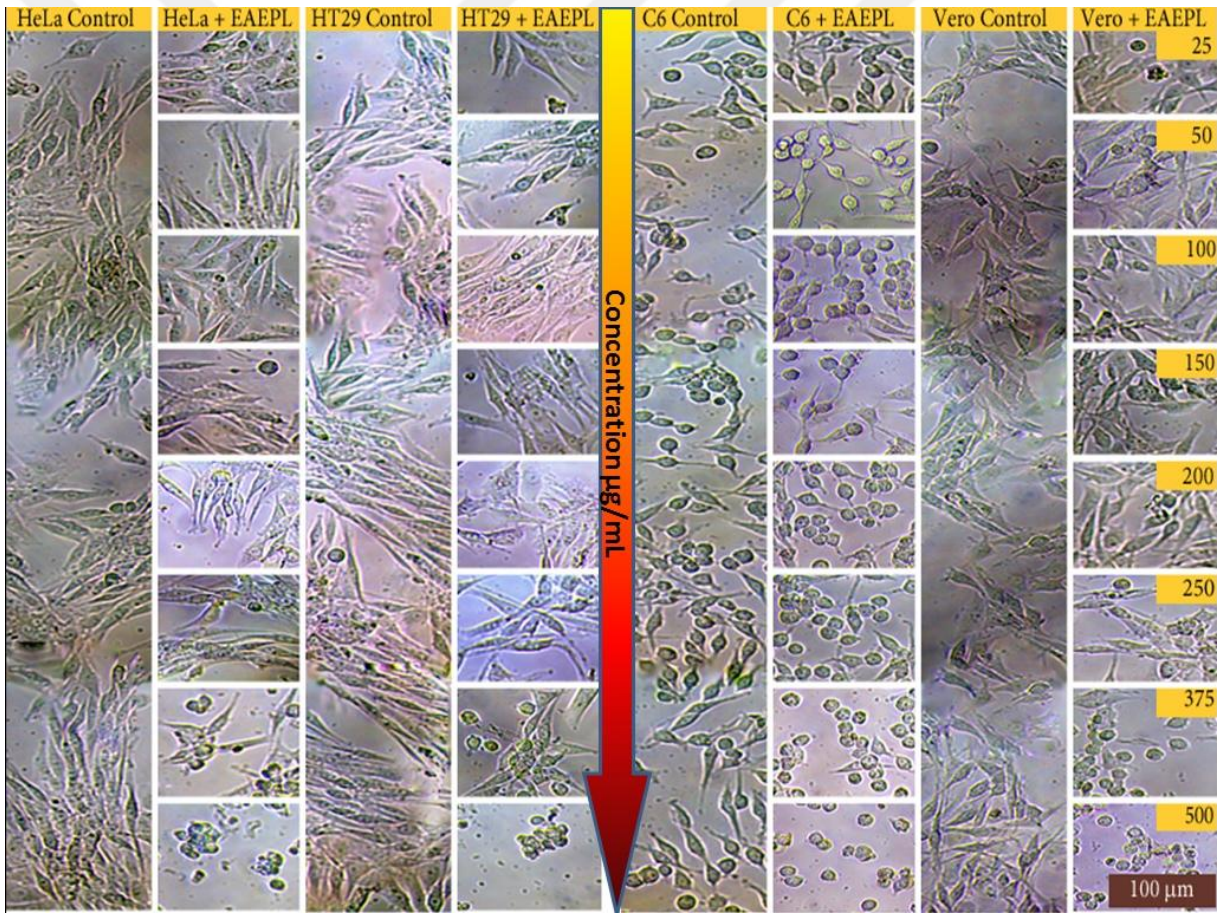
Şekil 4.3. Taflan meyve ekstraktlarının HeLa, HT29, C6, ve Vero hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi.

Hücre hatları çeşitli konsantrasyonlarda ekstrakt ile 24 saat boyunca inkübe edilmiş ve LDH sitotoksikite kiti kullanılarak sitotoksikite belirlenmiştir. Yüzde inhibisyon üç bağımsız ölçümün \pm SEM değeri olarak raporlanmıştır ($P < 0.05$).

4.5. *Prunus laurocerasus* Ekstrelerinin Sitotoksikite Morfoljik Değerlendirilmesi

Taflan meyve ekstraktlarının hücre morfolojileri üzerindeki etkileri kamera bulunan faz-kontrast mikroskopu ile görüntülenmiştir. Görüntüler farklı konsantrasyonlarda taflan meyve ekstraktlarıyla muamele edilmiş hücrelerin morfolojilerinin ilgili kontrollerle karşılaştırıldığı faz-kontrast imajlarını göstermektedir. Taflan meyve ekstraktlarıyla muamele edilmiş hücrelerin morfolojileri sadece yüksek konsantrasyonlarda (>375 µg/mL) yuvarlak hale gelmeden hücre ölümünün bir belirtisi olan yüzen hücrelere kadar değişim göstermiştir. Taflan meyve ekstraktları düşük ve orta konsantrasyonlarda hücre büyümesini inhibe edememiştir. Bu dozlarda kontrol grubu ve normal çoğalan hücreler,

membran bütünlüğü bozulmamış konfluent bir görüntü sergiler. Kontrol hücrelerine benzer şekilde, taflan meyve ekstreleriyle muamele edilmiş hücrelerin büyük çoğunluğu yıldızimsı ya da normal fibroblast benzeri görünümünü sürdürmeye devam etmiştir. Genellikle, 375 µg/mL ve daha yüksek dozlar, hücrelerin birbirinden ayrılmasına, daha küçük görünmelerine ve sayılarının azalmasına neden olmuştur. Meyve ekstreleri ile muamele edilmiş hücrelerde sadece yüksek konsantrasyonlarda apoptotik durumdakine benzer hücresel morfoloji ve etkilenmiş büyüme gibi hücresel yıkım görülmüştür. Fakat, meyve ekstrelerinin düşük ya da orta konsantrasyonlarına maruz kalan hücrelerin sayısında bir azalma olmamıştır ve yapısal olarak kontrolle aynı görünüme sahiptiler.

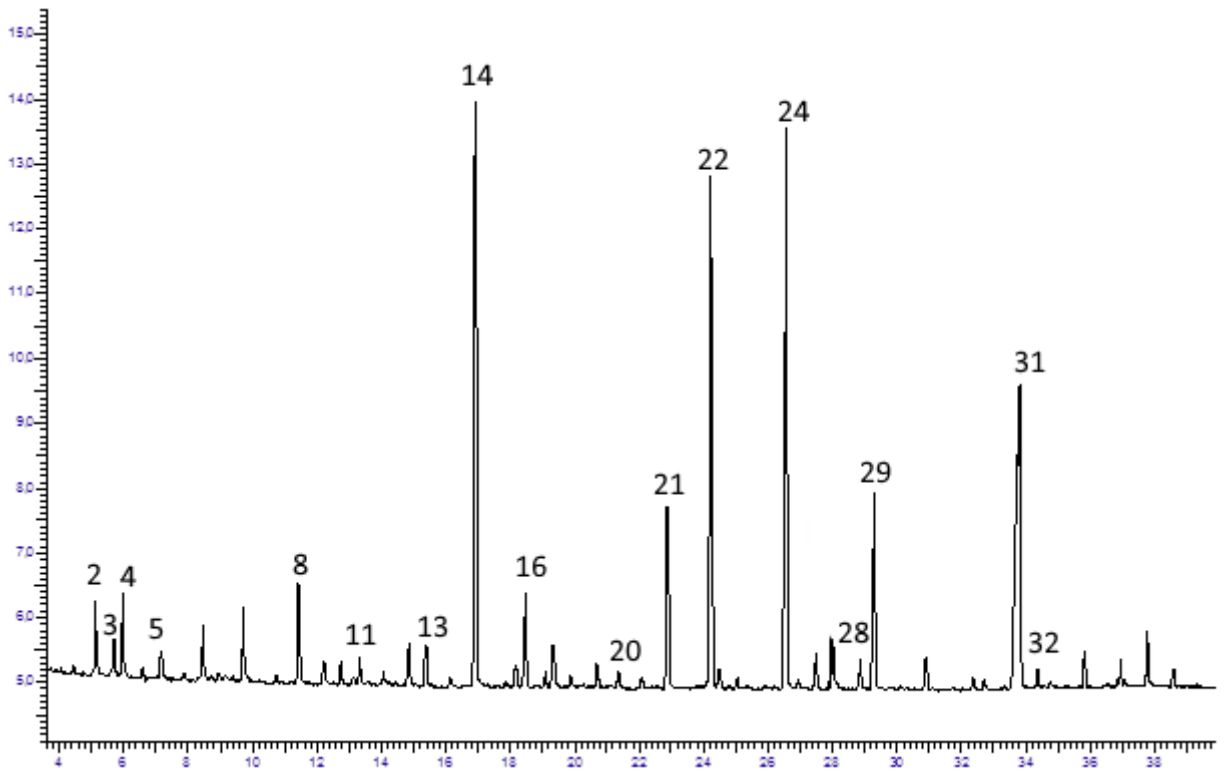


Şekil 4.4. Taflan meyve ekstrelerinin HeLa, HT29, C6 ve Vero hücre hatları morfolojileri üzerindeki etkileri.

Ekspansiyel büyüme gösteren hücreler çeşitli konsantrasyonlarda taflan meyve ekstraktları ile 37 °C'de bir gece inkübe edilmiştir. Kontrol hücreleri sadece DMSO ile muamele edilmiştir. Tüm ölçümler 100 µm'dir.

4.6 GC-MS Analizleri

Hekzan ekstraktı üzerinde yapılan GC-MS analiziyle ekstraktaki yağ asitleri belirlendi.



Şekil 4.5. GC-MS yağ asitleri kromatogramı

Ana bileşenler, linoleik asit (%18.7), palmitik asit (%17.7) ve oleik asit (%16.9) belirlemiştir.

Pik	Zaman	Bileşikler	Miktar(+)
2	5.127	Kaproik asit	1.75
3	5.698	Kaprilik asit	0.76
4	5.954	Kaprik asit	1.90
5	7.159	Laurik asit	0.61
8	11.430	Myristik asit	2.79
11	13.327	Myristoleik asit	0.79
13	15.383	Cis-10-pentat	1.38
14	16.926	Palmitik asit	17.73
16	18.462	Palmitoleik asit	2.91
20	21.365	Cis-10-heptat	0.53
21	22.885	Stearik asit	5.75
22	24.235	Oleik asit	16.89
24	26.554	Linoleik asit	18.66
28	28.860	Arakhidik asit	0.93
29	29.280	Gama-linole	6.67
31	33.826	belirlenemedi	18.84
32	34.371	Behenik asit	0.55

Çizelge 4. 1. Hekzan ekstaktında bulunan yağ asitleri

Taflan meyvesinden elde edilen hekzan, etil asetat, n-bütanol ve su ekstraktları antiproliferatif aktivite testlerine tabi tutulmuştur. Kullanılan HeLa, HT29, C6, ve Vero hücre hatları üzerinde etkili bir aktivite göstermediği görüldü. Hekzan ekstraktından, linoleik asit (%18.7), palmitik asit (%17.7) ve oleik asit (%16.9) ana bileşen olarak belirlenmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Bülent YILMAZ
Doğum Tarihi ve Yeri: 10.11.1974 / Ordu
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 05065967477
Faks : 04525171076
e-mail : byilmaz52@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	GOÜ. Fen Bilimleri Enst. Kimya ABD	-
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniv.Eğt.Fak.Kimya Öğrt.	27.06.1997
Lise	Ordu Lisesi	16.06.1991

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
1997-1998	Ordu Akkuş Taşoluk İlkokulu	Vekil Öğretmen
1998-2006	Van –Muradiye Alpaslan Anadolu Öğretmen Lisesi	Kimya Öğretmeni
2006-2014	Sinop Fen Lisesi	Kimya Öğretmeni-Müdür Yardımcısı-Müdür Başyardımcısı
2014-	Perşembe Milli Eğitim Müdürlüğü	Şube Müdürü

KAYNAKLAR

- Alasalvar, C., U. Wanasundara, Y. Zhong, F. Shahidi, 2006. Functional lipid characteristics of cherry laurel seeds (*Laurocerasus officinalis* Roem.). *Journal of Food Lipids*, 13(3), 223-234.
- Awad, A. B., A. C. Downie, C. S. Fink, 2000. Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDA-MB-231 human breast cancer cells in culture. *International Journal of Molecular Medicine*, 5(5), 541-545.
- Awad, A. B., C. S. Fink, H. Williams, U. Kim, 2001. In vitro and in vivo (SCID mice) effects of phytosterols on the growth and dissemination of human prostate cancer PC-3 cells. *Eur J Cancer Prev*, 10(6), 507-513.
- Awad, A. B., A. Y. T. Hernandez, C. S. Fink, S. L. Mendel, 1997. Effect of dietary phytosterols on cell proliferation and protein kinase C activity in rat colonic mucosa. *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 27(2), 210-215.
- Ayaz, F. A., 2001. Changes in phenolic acids of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* 'Oxygemmis') fruit during maturation. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 43 23-26.
- Benda, P., J. Lightbody, G. Sato, L. Levine, W. Sweet, 1968. Differentiated rat glial cell strain in tissue culture. *Science*, 161(3839), 370-371.
- Capes-Davis, A., G. Theodosopoulos, I. Atkin, H. G. Drexler, A. Kohara, R. A. F. MacLeod, J. R. Masters, Y. Nakamura, Y. A. Reid, R. R. Reddel, R. I. Freshney, 2010. Check your cultures! A list of cross-contaminated or misidentified cell lines. *International Journal of Cancer*, 127(1), 1-8.
- Cragg, G. M., D. J. Newman, 2003. Plants as a source of anti-cancer and anti-HIV agents. *Annals of Applied Biology*, 143(2), 127-133.
- Cragg, G. M., D. J. Newman, 2005. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 72-79.
- Cragg, G. M., D. J. Newman, K. M. Snader, 1997. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*, 60(1), 52-60.
- de Mesquita, M. L., J. E. de Paula, C. Pessoa, M. O. de Moraes, L. V. Costa-Lotufo, R. Grougnet, S. Michel, F. Tillequin, L. S. Espindola, 2009. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(3), 439-445.
- Erdemoglu, N., E. Kupeli, E. Yesilada, 2003. Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(1), 123-129.
- Farnsworth, N. R., O. Akerele, A. S. Bingel, D. D. Soejarto, Z. G. Guo, 1985. Medicinal-Plants in Therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 63(6), 965-981.
- Fouche, G., G. M. Cragg, P. Pillay, N. Kolesnikova, V. J. Maharaj, J. Senabe, 2008. In vitro anticancer screening of South African plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(3), 455-461.
- Fusani, P., J. P. Piwowarski, C. Zidorn, A. K. Kiss, F. Scartezzini, S. Granica, 2016. Seasonal variation in secondary metabolites of edible shoots of Buck's beard [*Aruncus dioicus* (Walter) Fernald (Rosaceae)]. *Food Chemistry*, 202 23-30.
- Georgaki, S., M. Skopeliti, M. Tsiatas, K. A. Nicolaou, K. Ioannou, A. Husband, A. Bamias, M. A. Dimopoulos, A. I. Constantinou, O. E. Tsitsilonis, 2009. Phenoxodiol, an anticancer isoflavene, induces immunomodulatory effects in

- vitro and in vivo. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13(9B), 3929-3938.
- Grobben, G. J., J. Sikkema, M. R. Smith, J. A. M. Debont, 1995. Production of Extracellular Polysaccharides by *Lactobacillus-Delbrueckii* Ssp *Bulgaricus* Ncfb-2772 Grown in a Chemically-Defined Medium. *Journal of Applied Bacteriology*, 79(1), 103-107.
- Harvey, A. L., 2008. Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 13(19-20), 894-901.
- Islam, A., 2002. 'Kiraz' cherry laurel (*Prunus laurocerasus*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 30(4), 301-302.
- Islam, A., E. Vardal, 2009. Pomological Characteristics of Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L.) Grown in Rize. I International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits, 818 133-136.
- Ju, Y. H., L. M. Clausen, K. F. Allred, A. L. Almada, W. G. Helferich, 2004. beta-sitosterol, beta-sitosterol glucoside, and a mixture of beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside modulate the growth of estrogen-responsive breast cancer cells in vitro and in ovariectomized athymic mice. *Journal of Nutrition*, 134(5), 1145-1151.
- Karabegovic, I. T., S. S. Stojicevic, D. T. Velickovic, N. C. Nikolic, M. L. Lazic, 2013. Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. *Separation and Purification Technology*, 120 429-436.
- Karabegovic, I. T., S. S. Stojicevic, D. T. Velickovic, Z. B. Todorovic, N. C. Nikolic, M. L. Lazic, 2014. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Industrial Crops and Products*, 54 142-148.
- Madhuri, S., G. Pandey, 2008. Some dietary agricultural plants with anticancer properties. *Plant Archives*, 8(1), 13-16.
- Miller, J. B. (2000). "The Pharmaceutical Century: Ten Decades of Drug Discovery."
- Ness, A. R., J. W. Powles, 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: A review. *International Journal of Epidemiology*, 26(1), 1-13.
- Nicolaou, K. C., D. Hepworth, N. P. King, M. R. V. Finlay, 1999. Chemistry, biology and medicine of selected tubulin polymerizing agents. *Pure and Applied Chemistry*, 71(6), 989-997.
- Ono, M., S. Yasuda, K. Nishi, K. Yamamoto, S. Fuchizaki, S. Higuchi, H. Komatsu, M. Okawa, J. Kinjo, H. Yoshimitsu, T. Nohara, 2016. Two new triterpenoids from the seeds of blackberry (*Rubus fruticosus*). *Natural Product Research*, 30(8), 904-911.
- Orhan, N., T. Damlaci, T. Baykal, T. Ozek, M. Aslan, 2015. Hypoglycaemic Effect of Seed and Fruit Extracts of Laurel Cherry in Different Experimental Models and Chemical Characterization of the Seed Extract. *Records of Natural Products*, 9(3), 379-385.
- Pezzuto, J. M., 1997. Plant-derived anticancer agents. *Biochemical Pharmacology*, 53(2), 121-133.
- Sahan, Y., 2011. Effect of *Prunus Laurocerasus* L. (Cherry Laurel) Leaf Extracts on Growth of Bread Spoilage Fungi. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(1), 83-92.

- Santamour, F. S., 1998. Amygdalin in *Prunus* leaves. *Phytochemistry*, 47(8), 1537-1538.
- Stanisavljevic, I. T., M. L. Lazic, V. B. Veljkovic, S. S. Stojicevic, D. T. Velickovic, M. S. Ristic, 2010. Kinetics of Hydrodistillation and Chemical Composition of Essential Oil from Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L. var. *serbica* Panic) Leaves. *Journal of Essential Oil Research*, 22(6), 564-567.
- Sulusoglu, M., 2012. Development of embryo culture protocol for cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.). *Journal of Food Agriculture & Environment*, 10(3-4), 347-352.
- Wang, B. C., J. Deng, Y. M. Gao, L. C. Zhu, R. He, Y. Q. Xu, 2011. The screening toolbox of bioactive substances from natural products: A review. *Fitoterapia*, 82(8), 1141-1151.
- Zeytunluoglu, A., F. Zihnioglu, 2015. Evaluation of some plants for potential dipeptidyl peptidase IV inhibitory effects in vitro. *Turkish Journal of Biochemistry-Turk Biyokimya Dergisi*, 40(3), 217-223.

