



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***BERBERIS CRATAEGINA* DC. MEYVE EKSTRELERİNİN
ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Omar Badreldeen Musa HAMAD

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Arzu Zeynep KARABAY**

**ANKARA
2025**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***BERBERIS CRATAEGINA* DC. MEYVE EKSTRELERİNİN
ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN VE SİTOTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Omar Badreldeen Musa HAMAD

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Arzu Zeynep KARABAY

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü'nün TYL-2024-3573 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2025**

ÖZET

***Berberis crataegina* DC. meyve ekstralarının antioksidan kapasitelerinin ve sitotoksik etkilerinin araştırılması**

Berberis crataegina DC. Türkiye'de doğal olarak yetişen tıbbi bir bitkidir. *Berberis* cinsindeki bitkilerin antikanser ve antioksidan aktiviteler de dahil olmak üzere birçok farmakolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Antioksidanlar, lipidler, proteinler ve DNA gibi hücrel bileşenlerde önemli hasara neden olabilen oksijen içeren oldukça reaktif moleküller olan reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize edebilen moleküllerdir. Bu çalışma, *Berberis crataegina* DC meyvelerinden elde edilen metanol, etanol, diklorometan, etilasetat ve n-bütanol ekstralarının antioksidan kapasitesini ve sitotoksik etkilerini test etmeyi amaçlamaktadır. Antioksidan aktivite DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzthiazolin-6-sülfonik asit)) ve toplam fenolik içerik (TPC) testleri kullanılarak kontrol edilmiştir. Beş farklı *Berberis crataegina* DC. ekstresine maruz kaldıktan sonra A549 akciğer kanseri hücrelerinin canlılığı (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromide) MTT deneyi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DPPH ve ABTS deneyleri, metanol ekstresinin en düşük IC50 değerlerine sahip olduğunu ortaya koyarak üstün radikal süpürme yeteneğini göstermiştir. Ayrıca, *Berberis crataegina* DC.'nin TPC'si de incelenmiş ve yüksek fenolik içerik sergilemiştir. Genel olarak, sonuçlar metanol ekstralarının en yüksek antioksidan aktiviteyi sergilediğini, bunu etanolün izlediğini ve en düşük aktivitenin n-bütanol ekstresinde gözlemlendiğini göstermiştir. Sitotoksikite açısından, 500µg/ml metanol ve etil asetat ekstraları, 72 saatlik inkübasyondan sonra A549 kanser hücrelerinin canlılığında en etkin azalmayı sağlayan ekstralar olmuştur. Bu ekstraları etanol ekstresi izlemiştir. Çalışma, optimum antioksidan ve sitotoksik aktiviteler için çözücü seçiminin önemini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: A549, ABTS, Antioksidan, *Berberis*, *Berberis crataegina*, DPPH, TPC, Akciğer kanseri, radikal süpürme

SUMMARY

Investigation of antioxidant capacities and cytotoxic effects of *Berberis crataegina* DC. fruit extracts

Berberis crataegina DC. is a medicinal plant that is native to Turkey. Plants in the *Berberis* genus have been documented to have many pharmacological activities including anticancer and antioxidant activities. Antioxidants are molecules capable of neutralizing reactive oxygen species (ROS), which are highly reactive molecules containing oxygen that can cause significant damage to cellular components such as lipids, proteins, and DNA. The study aims to test the antioxidant capacity and the cytotoxic effects of the methanol, ethanol, dichloromethane, ethylacetate and n-butanol extracts of *Berberis crataegina* DC. fruits. The antioxidant activity was checked using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid)), and total phenolic content (TPC) assays. The viability of A549 lung cancer cells after exposure to the five different *Berberis crataegina* DC. extracts was performed using the (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) MTT assay. The DPPH and ABTS assays revealed that the methanol extract had the lowest IC₅₀ values, indicating its superior radical scavenging ability. Moreover, the TPC of the was also examined, and *Berberis crataegina* DC. exhibited high phenolic content. Overall, the results showed that methanol extracts exhibited the highest antioxidant activity, followed by ethanol, with the lowest activity observed in the n-butanol extract. Regarding cytotoxicity, the 500µg/ml methanol and ethyl acetate extracts produced significant decrease in the viability of the A549 cancer cells after a 72-hour incubation. Ethanol extract was found as the third potent extract in terms of cytotoxic activity. The study has shown the importance of solvent selection for optimal antioxidant and cytotoxic activities.

Anahtar Kelimeler: A549, ABTS, Antioxidant, *Berberis*, *Berberis crataegina*, DPPH, TPC, Lung cancer, Radical Scavenging

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, *Berberis crataegina* DC. mevyesinin farklı ekstrelerin antioksidan etkileri ve A549 akciğer kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma ve elde edilen verilerin, Türkiye'ye doğal olarak yetişen bu bitkinin tıbbi potansiyelini aydınlatacağına inanılmaktadır.

Yüksek lisans tezimin ve çalışmalarımın hazırlanması sırasında bana rehberlik eden, destek veren ve deneyimlerini paylaşan şu anki danışmanım Doç. Dr. Arzu Zeynep KARABAY'a ve emekli olan önceki danışmanım Prof. Dr. Bilgehan DOĞRU'ya sürekli rehberliği ve sabrı için derin şükranlarımı sunarım. Ayrıca, Doç. Dr. M. Mesud HÜRKUL'a bana karşı gösterdiği nezaket ve derin desteği için en içten teşekkürlerimi sunarım. Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Fügen AKTAN'a da teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, yüksek lisans eğitimim süresince Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığına ve Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzthiazolin-6-sülfonik asit)
ALL	Akut lenfoblastik lösemi
AML	Akut myeloid lösemi
APC	Adenomatöz polipozis loli geni
BCR-ABL	Breakpoint cluster region - Abelson lösemi virüsü füzyon geni
BHT	Bütilhidroksitoluen
CAR-T	Kimerik antijen reseptör T hücresi
CAT	Katalaz enzimi
CUPRAC	Cupric reducing antioxidant capacity - Cupric antioksidan azaltma kapasite
CTLA-4	Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ER	Östrojen reseptörü
FBS	Fetal bovine serum - Fetal sığır serumu
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
HAT	Hidrojen atom transferi
IC50	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
ICI	İmmün kontrol noktası inhibitörü
KML	Kronik myeloid lösemi
KLL	Kronik lenfositik lösemi
MHC-I	Majör histouyumluluk kompleksi I
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NOX	NADPH oksidaz
OG	Onkogen
ORAC	Oksijen radikal absorban kapasitesi
PBS	Phosphate buffered saline - fosfat tamponlu salin
PD-1	Programmed cell death receptor 1 - programlanmış hücre ölüm proteini 1 Cullin 3
POG	Proto-onkogen
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
ROS	Reactive oxygen species - reaktif oksijen türleri

SET	Single electron transfer - tek elektron transferi
SOD	Süperoksit dismutaz
SS	Standart sapma
TE	Trolox eşdeğeri
TEAC	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
TP53	Tümör Protein p53 geni
TPC	Total phenolic content - toplam fenolik içerik
TRAP	Total radical-trapping antioxidant parameter - toplam radikal yakalama antioksidan parametresi
TSG	Tumor suppressor gene - tümör baskılayıcı gen
UV	Ultra-viyole



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	ii
ÖNSÖZ	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	iv
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER	viii
ÇİZELGELER	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Antioksidanlar	1
1.1.1. Oksidatif stres	2
1.1.2. Antioksidanların sınıflandırılması	3
1.1.3. Antioksidan aktivite test yöntemleri	3
1.2. Kanser	4
1.2.1. Kanser türleri	5
1.2.2. Kanserin nedenleri	7
1.2.3. Kanser gelişim mekanizmaları	8
1.2.4. Kanser tedavisi	10
1.3. MTT deneyi kullanılarak sitotoksosite taraması	14
1.3.1. A549 akciğer kanseri hücre hattı	15
1.4. <i>Berberis</i> cinsindeki bitkilerin antioksidan ve sitotoksik etkileri.	15
1.4.1. <i>Berberis crataegina</i>	16
1.4.2. <i>Berberis</i> cinsindeki bitkilerin antioksidan etkileri	16
1.4.2. <i>Berberis</i> cinsindeki bitkilerin antikanser etkileri.	17
1.4.3. <i>Berberis</i> cinsinde bulunan biyoaktif bileşiklerin antikanser etkileri.	17
2. GEREÇ ve YÖNTEM	19
2.1. Kullanılan kimyasallar	19
2.2. Kullanılan cihazlar	19
2.3. Ekstrelerin hazırlanması	19
2.4. DPPH deneyi.	20
2.5. ABTS testi.	21
2.6. Toplam fenolik içerik (TPC) tahlili	21
2.7. Hücre Kültürü	22
2.8. MTT sitotoksosite deneyi	22
2.9. istatistiksel analiz	23
3. BULGULAR	24

3.1. <i>Berberis crataegina</i> 'nın antioksidan etkileri	24
3.1.1. DPPH testi	24
3.1.2 ABTS testi	24
3.1.3. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi.....	25
3.2. MTT testinin sonuçları.....	26
4. TARTIŞMA	29
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	33
KAYNAKLAR	34



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kanser hücresinin özellikleri.	4
Şekil 1.2. Kanser için değiştirilebilir en önemli 4 risk faktörü	8
Şekil 2.1. Hazırlanmış <i>Berberis crataegina</i> DC. ekstreleri.....	20
Şekil 3.1. Gallik asit kalibrasyon grafiği.....	25
Şekil 3.2. Farklı <i>Berberis crataegina</i> ekstrelerinin A549 hücreleriyle 24 saatlik inkubasyon sonra MTT testinin sonuçları.....	26
Şekil 3.3. Farklı <i>Berberis crataegina</i> ekstrelerinin A549 hücreleriyle 72 saatlik inkubasyon sonra MTT testinin sonuçları.....	27
Şekil 3.4. 500µg/mL konsantrasyonda BC-metanol ve BC-etil asetat ekstrelerinin A549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri (4x büyütme).....	28



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. 2022'de en yaygın 10 kanser turu	5
Çizelge 1.2. Yaygın onkogenler (OGler) ve tümör baskılayıcı genlerin (TSGler) karşılaştırılması	9
Çizelge 1.3. Kemoterapi ilaç sınıfları	11
Çizelge 1.4. Antikanser terapilerin türlerinin özeti.....	13
Çizelge 2.1. Hazırlanmış Berberis crataegina DC. ekstralarının derişimi	20
Çizelge 3.1. BC ekstralarının kantitatif DPPH radikal temizleyici aktivite değerleri	25
Çizelge 3.2. BC ekstralarının kantitatif ABTS radikal temizleyici aktivite değerleri	26
Çizelge 3.3. BC ekstralarına ait toplam fenolik madde miktarları.....	27



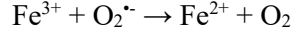
1. GİRİŞ

1.1. Antioksidanlar

Antioksidan terimi, biyomoleküllerin reaktif oksijen türleri nedeniyle maruz kaldığı hasarı koruyabilen, azaltabilen veya onarabilen herhangi bir maddeyi tanımlayan şemsiye bir terimdir. Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen içeren herhangi bir reaktif türü ifade eden ilgili bir terimdir (R. Li ve ark., 2016). ROS, serbest radikaller ya da serbest olmayan radikaller olabilir. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içerir. Buna örnek olarak hidroksil radikali $HO^{\bullet}$, singlet oksijen 1O_2 , süperoksit radikali $O_2^{\bullet-}$, alkoksil radikali $LO^{\bullet}$ ve peroksil radikali $LOO^{\bullet}$ verilebilir. Öte yandan, hidrojen peroksit H_2O_2 , lipid hidroperoksit $LOOH$, peroksinitrit $ONOO^-$, ozon O_3 ve hipokloröz asit $HOCl$ gibi serbest olmayan radikaller (radikal olmayanlar olarak da bilinir) eşleşmemiş elektron içermez (Halliwell, 1996). Ultra-viyole (UV) (de Jager vd., 2017) veya kirlilik (Poljšak ve Fink, 2014) gibi ROS oluşumunun dış kaynaklarına ek olarak, ROS normal biyolojik işlevlerin bir parçası olarak da oluşur, örneğin ikinci haberciler olarak hizmet eder (Martin vd., 2022). Ayrıca, mitokondri ATP sentezi sırasında önemli miktarda ROS üretir. Serbest radikallerin bir diğer önemli kaynağı da fagositlerin enfeksiyona karşı savunma mekanizmasının bir parçası olarak kullandığı NADPH oksidazlardır (NOX'lar). Mitokondri ve NOX'lar öncelikle süperoksit üretir. ROS ayrıca endoplazmik retikulum ve peroksisomlarda da sentezlenir (Aranda-Rivera vd., 2022; Del Río & López-Huertas, 2016).

Hidroksil radikalleri ($HO^{\bullet}$) biyolojik sistemlerdeki en reaktif türlerdir. Yüksek reaktivite nedeniyle, hidroksil radikallerinin yarı ömrü son derece kısadır, yaklaşık 1 nanosaniye. $HO^{\bullet}$ oluşumu, bir süperoksit anyonunun ferrik iyonu (Fe^{3+}) ile reaksiyona girerek oksijen ve bir demir iyonu (Fe^{2+}) ürettiği Haber-Weiss reaksiyonu ile başlar. Bu reaksiyondan üretilen demir iyonu, bir hidroksil radikali, bir hidroksil iyonu ve oksijen üreten Fenton reaksiyonunu başlatır (Kehrer vd., 2010). Bazı araştırmacılar $HO^{\bullet}$ radikallerinin oksidatif hasardaki rolüne şüpheyle yaklaşarak bu radikalın Fenton reaksiyonundan oluşamayacağını ve oluşan asıl radikalın bir karbonat radikali ($CO_3^{\bullet-}$) ve dolayısıyla oksidatif hasardan sorumlu radikal olacağını iddia etmişlerdir (Lipinski, 2011). Bununla birlikte, nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi ve diğer kaynaklardan elde edilen bulgular, gerçekten de Fenton reaksiyonundan üretilen $HO^{\bullet}$ 'nin çeşitli biyomoleküllerde oksidatif hasardan sorumlu radikal

olduğunu göstermektedir (Zhao, 2023). Aşağıdaki iki denklem sırasıyla Haber-Weiss reaksiyonunu ve Fenton reaksiyonunu göstermektedir.



1.1.1. Oksidatif stres

Düşük konsantrasyonlarda, reaktif oksijen türleri fizyolojik işlevlerin normal bir parçası olarak kabul edilir. Ancak, bazen antioksidan sistemin bunlarla başa çıkma kapasitesini aşacak kadar artarlar ve bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (R. Li vd., 2016). Bu durum, esas olarak lipidleri, deoksiribonükleik asidi (DNA) ve proteinleri hedef alan oksidatif hasarın çeşitli zararlı etkileri nedeniyle bir organizma için zararlıdır.

ROS aracılı DNA hasarı birden fazla şekilde gerçekleşebilir: çift sarmal kırılması, tek sarmal kırılması veya 8-oksoguanin oluşumu yoluyla nükleozit bazlarında meydana gelebilecek bir değişiklik. Çift iplikli kırılmalar kromozomlarda yeniden düzenlemeye ve genetik bilgi kaybına yol açabilir ve nükleositlerdeki değişiklikler guaninden timin'e veya guaninden adenozin'e dönüşümlere neden olabilir (Caldecott, 2023; Srinivas vd., 2019). DNA'daki hasar DNA parçalanması, mutasyonlar, nekroz ve kanserle sonuçlanabilir.

Lipid peroksidler, birçok hücresel fonksiyona hizmet etmek üzere siklooksijenaz enzimleri tarafından doğal olarak sentezlenir. Bununla birlikte, ROS lipidlere saldırdığında patolojik olarak da oluşurlar. Lipid peroksidasyonu tipik olarak çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA'lar) hedef alır, çünkü ortaya çıkan radikal PUFA'daki çift bağlarla rezonans yoluyla stabilize edilir. Membran lipidlerinin peroksidasyonu lipid-lipid etkileşimlerini değiştirerek geçirgenlikte, iyon gradyanlarında ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açar. Bu durum ateroskleroz, Alzheimer hastalığı, ferroptoz ve diğer hastalıklarla sonuçlanabilir (Gaschler & Stockwell, 2017; Juan ve ark., 2021; Peña-Bautista ve ark., 2019).

ROS tarafından etkilenen bir diğer önemli biyomolekül sınıfı proteinlerdir. Genellikle ROS'lar, ROS saldırıları nedeniyle oksidasyona duyarlı olan sülfhidril (-SH) gruplarının varlığı nedeniyle sistein ve metiyonin kalıntılarına saldırır. Amino asit oksidasyonuna ek olarak, bu durum proteini kümelenmesine veya agregasyonuna ya da peptit omurgasının

kırılmasına yol açabilir. Bu durum, romatoid artrit ve diğerleri gibi çeşitli hastalıkların görülme sıklığı ile ilişkilendirilmiştir (Ezraty vd., 2017; Juan vd., 2021).

1.1.2. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar suda çözünürlüklerine göre glutatyon (GSH), askorbik asit, lipoik asit ve ürik asit gibi hidrofilik veya suda çözünür antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Bu tip antioksidanlar sitozol ve plazmadaki oksidasyonla ilgilenir. Diğer antioksidan türü hidrofobik veya yağda çözünen antioksidanlardır ve öncelikle hücre zarını oksidatif hasardan korurlar. Bunlar ubikinon, β -karoten ve E vitamini içerir (Kumar vd., 2017).

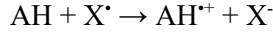
Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilir. Ana enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutazlar (SOD'lar), Glutatyon Peroksidaz (GPx), ve katalaz (CAT) yer alır. SOD süperoksit radikali $O_2^{\cdot-}$ 'nin hidrojen peroksit'e dönüşümünü katalize eder, CAT hidrojen peroksitin suya dönüşümünü katalize eder ve GPx H_2O ve ROH üretmek için H_2O_2 ve lipit peroksitler ROOH ile reaksiyona girer (MatÉs vd., 1999).

Enzimatik olmayan antioksidanlar genellikle radikal zincir reaksiyonlarını kırmak için serbest radikallerle reaksiyona girerek çalışan düşük molekül ağırlıklı moleküllerdir. Bunlar ayrıca endojen antioksidanlar ve eksojen antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Endojen antioksidanlar insan vücudunda doğal olarak üretilir ve glutatyon, koenzim Q ve ürik asidi içerir. A, E, C vitaminleri ve likopen, flavonoidler ve kumarinler gibi eksojen antioksidanlar insan vücudunda sentezlenmez (Aranda-Rivera vd., 2022).

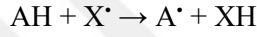
1.1.3. Antioksidan aktivite test yöntemleri

Oksidatif stresin çeşitli insan hastalıklarında oynadığı rol, bu alana yönelik çok sayıda araştırma yapılmasına neden olmuştur. Bitki ekstralarının oksidatif strese karşı koyma potansiyeli yüksek olduğundan, bu ekstraların antioksidan kapasitesini tespit etmek için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler iki ana kategoriye ayrılabilir: tek elektron transferi (SET) yöntemleri ve hidrojen atomu transferi (HAT) yöntemleri. HAT ve SET bu yöntemlerin çoğunda eş zamanlı olarak gerçekleşebilir ve bu da aynı yöntemin farklı şekilde kategorize edilmesine neden olabilir.

SET tabanlı yöntemler, bir molekölün bir radikal türe bir elektron aktarma ve böylece onu azaltma kapasitesini ölçer. Bu, 1,10-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), toplam fenolik içerik (TPC), cupric antioksidan azaltma kapasite (CUPRAC) testleri (Tan & Lim, 2015) gibi en yaygın antioksidan testlerinden bazılarını içerir. Genel denklem aşağıdaki gibi yazılabilir:

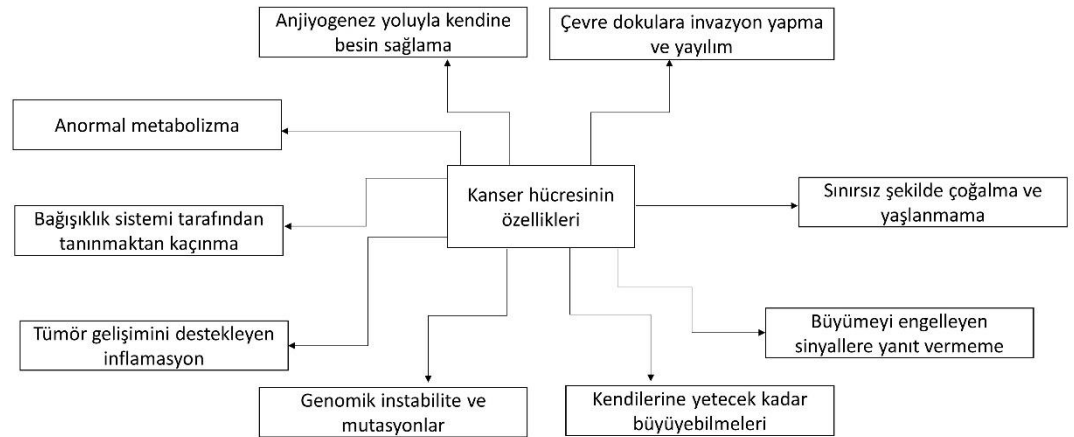


Bu yöntemler, bir antioksidanın bir radikale hidrojen atomu bağışlama ve dolayısıyla onu nötralize etme yeteneğini ölçer. oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) ve toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametresi (TRAP) HAT'a dayalı yöntemlere örnektir (Tan & Lim, 2015).



1.2. Kanser

Kanser, anormal sağlıklı hücrelerin kontrolsüz büyümesiyle karakterize olan ve pek çok özelliği barındıran bir hastalıktır (Torpy vd., 2010). Şekil 1.1.'de görselleştirilen çeşitli özelliklerle karakterize edilir (Edwards, 2019).



Şekil 1.1. Kanser hücresinin özellikleri.

2022 yılında 9,7 milyondan fazla insanın kanserden öldüğü tahmin edilmektedir. Bunlar arasında akciğer kanseri, meme kanseri ve kolorektal kanser en yaygın kanser türleri olarak belirlenmiştir. Bu üç kanser türü 3.386.715 ölümden sorumludur ve bu da kanserden kaynaklanan ölümlerin neredeyse %35'ini temsil etmektedir. (Bray vd., 2024). Bu durum, antikanser aktiviteye sahip ilaç kaynaklarının araştırılmasını gerektirmektedir.

1.2.1. Kanser türleri

Kanser sınıflandırmanın birden fazla yolu vardır. Kanser kaynaklandığı yere göre kanseri sınıflandırmak, kanser sınıflandırmasında çok yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Köken noktasına göre en yaygın on kanser türü çizelge 1.1.'de verilmiştir (İbrahim ve ark., 2022).

Çizelge 1.1. 2022'de en yaygın 10 kanser türü (Bray ve ark., 2019) çizelge 1'den alınmıştır.

Kanser Türü	Toplam Yeni Teşhislerin Yüzdesi (%)
Akciğer	12,4%
Kadın meme kanseri	11,6%
Kolorektal (kalın bağırsak)	9,6%
Prostat	7,3%
Mide	4,9%
Karaciğer	4,3%
Tiroid	4,1%
Rahim ağzı (serviks)	3,3%
Mesane	3,1%
Hodgkin dışı lenfoma	2,8%

Kanser, köken aldığı doku veya hücreye göre karsinom, sarkom, miyelom, lösemi, lenfoma ve karışık tipler olarak da sınıflandırılabilir. Karsinom, vücudun ve organlarının iç ve dış örtüsünü oluşturan epitel hücrelerinin kanseridir. Karsinomlar, epitelin vücudun her yerinde bulunması nedeniyle çok yaygındır ve tüm kanser vakalarının yaklaşık %80-90'ını oluşturur (İbrahim vd., 2022).

Sarkomlar bağ dokusu kanserleridir. Bağ dokusunun türüne göre liposarkomlar, osteosarkomlar, kondrosarkomlar ve daha fazlası olarak sınıflandırılabilirler. Görülme oranları karsinomlara kıyasla çok düşüktür ve tüm kanser vakalarının yaklaşık %1'ini oluşturur (Belyaeva vd., 2023).

Hem miyelomlar hem de lenfomalar bağışıklık sistemi kanserleridir. Miyelom, antikor salgılayan B-lenfosit beyaz kan hücreleri olan plazma hücrelerinin kanseridir. Multipl miyelomda, kemik iliğindeki B hücrelerinin büyümesi ve çoğalmasındaki anormallikler anemi, yorgunluk ve kemik hasarına ve ölüme yol açar (Allen & Sharma, 2025; Silberstein ve ark., 2022). Lenfomalar, lenf düğümleri, karaciğer ve dalak gibi lenfoid organlarda ortaya çıkan lenfoid hücre kanserleridir. Tipik olarak Hodgkin lenfomalar ve Hodgkin dışı lenfomalar olarak ikiye ayrılırlar (Weber vd., 2003; Withrow & Vail, 2007). Hodgkin lenfomalar germinal merkez B hücrelerinin kanserleridir ve Reed-Sternberg hücrelerinin varlığı ile karakterize edilirler. Bu lenfoma türü genellikle genç hastalarda görülür ve lenfomaların yaklaşık %10'unu oluştururken diğer %90'ı Hodgkin dışı lenfomalardır (Shanbhag & Ambinder, 2018). Non-Hodgkin lenfomalar Reed-Sternberg hücrelerinin varlığı ile karakterize edilmez ve birçok alt tip içerir. Non-Hodgkin lenfomalardaki kanserli lenfoid doku, B hücresi ve T hücresi öncülerinin yanı sıra olgun T hücreleridir (Sapkota & Shaikh, 2025).

Lösemi, kemik iliğinde beyaz kan hücrelerinin anormal üretimi ile karakterize edilen bir grup hematopoetik maligniteye verilen isimdir. Lösemnin bazı yaygın belirtileri arasında anemi, yorgunluk ve kilo kaybı yer alır. Lösemi, klinik tempolarına göre akut ve kronik olarak, hücre soylarına göre de meyloid ve lenfoid olarak sınıflandırılır. Dolayısıyla, dört ana lösemi grubu vardır: akut lenfoid lösemi (ALL), akut miyeloid lösemi (AML), kronik lenfoid lösemi (KLL) ve kronik miyeloid lösemi (KML) (Yazdian-Robati ve ark., 2017). ALL, lenfositlerin hızlı ilerleyen bir malignitesidir ve çoğunlukla 2-5 yaş arası çocuklarda görülmekle birlikte 45 yaş üstü yetişkinlerde de görülebilmektedir. KLL, Batılı yetişkinlerde görülen en yaygın lösemidir ve kemik iliğinde anormal B hücrelerinin kademeli olarak birikmesiyle ilişkilidir, bu da bağışıklığın bozulmasına ve kan hücresi sayısının azalmasına yol açar. AML, kemik iliğinde granülositlerin birikmesiyle ilişkilidir ve normal kan hücrelerinin uygunsuz üretimine neden olarak enfeksiyon ve kanama riskini artırır ve kadınlara kıyasla erkeklerde daha yaygındır. KML, olgun granülositlerin büyümesi ve birikimindeki anormalliklerle ilişkilidir (Prashar ve ark., 2012).

Bazı kanserler karışıktır, yani birden fazla histolojik bileşenden oluşurlar. Örneğin, adenoskuamöz karsinom hem adenosarkom hem de skuamöz hücreli karsinomdan özellikler içerir. Karışık tip kanserlere bir başka örnek de hem miyeloid hem de lenfoid soy özellikleri içeren karışık fenotipli akut lösemidir (Bishop, 2014; Matutes ve ark., 2011).

1.2.2. Kanserin nedenleri

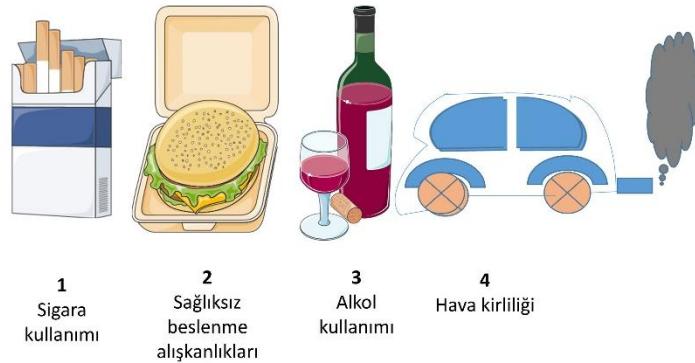
Kanser, birden fazla nedeni ve risk faktörü olan karmaşık bir hastalıktır. Tipik olarak, kişi yaşlandıkça kanser riski büyük ölçüde artar. Aslında, kanserlerin %90'ı 50 yaşından büyük olanlarda teşhis edilmektedir. Bir kişi yaşlandıkça, kanseri teşvik eden mutasyonlar birikir ve böylece kansere yakalanma riski artar (Laconi ve ark., 2020). Yaşlanmanın yanı sıra, çeşitli çevresel ve yaşam tarzı faktörleri de kansere yakalanma riskine katkıda bulunur.

Kanserlerin önemli bir kısmı değiştirilebilir yaşam tarzı faktörlerine bağlanabilir. Tütün kullanımı, DNA'ya zarar veren birçok karsinojen içermesi nedeniyle en önde gelen faktördür. Aslında, sigara kullanımı bazı ülkelerde erkeklerde kansere bağlı yükün neredeyse %30'undan sorumludur. Benzer şekilde, diyet riskleri, alkol tüketimi ve hava kirliliği de kansere bağlı yükün yaklaşık %15'ine katkıda bulunmaktadır (Wu vd., 2024). Meyve ve sebze açısından zengin bir diyet daha düşük kanser insidansı ile ilişkilendirilmiştir ve diyet ve beslenmenin insanlardaki kanserlerin %30'u ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Bazı diyet tercihlerinin belirli kanserlerin riskini artırdığı görülmektedir. Buna örnek olarak kırmızı etin kolon kanseri oranının artmasıyla ilişkisi verilebilir. Ayrıca, hem iç mekanlarda yemek pişirmekten hem de dış mekanlarda araba egzozu ve fabrikalardan kaynaklanan hava kirliliği, başta akciğer kanseri olmak üzere kanser oranının artmasıyla ilişkilendirilmektedir (Sloan & Gelband, 2007).

Kanser riskini artıran başka çevresel faktörler de mevcuttur. Örneğin, insanlar kanserojen maddeleri beslenme yoluyla alabilirler. Örneğin, yer fıstığında yaşayan *Aspergillus* mantarından kaynaklanan mikotoksinler gıdalarda birikerek karaciğer kanserine yol açabilir. Benzer şekilde, insan mesleklerinde de kanserojen maddelerle karşılaşabilirler. Dünya çapında yaklaşık 100.000 akciğer kanseri vakasının asbest üretimi gibi mesleki risk faktörlerinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Hormonları etkileyen ilaçlar ve bazı bağışıklık sistemini güçlendiren ilaçlar gibi bazı farmasötiklerin de kansere neden olduğu bulunmuştur. Kanser için bir diğer risk faktörü de iyonlaştırıcı ve UV radyasyondur. İyonlaştırıcı radyasyon, silahlar ve nükleer reaktörler de dahil olmak üzere nükleer kaynaklardan gelir. Ayrıca, dünya çapında iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalmanın beşte ikisini temsil eden tanınan X-ışınlarından da gelir. Öte yandan UV radyasyonuna maruz kalma, doğal güneş ışığına maruz kalma yoluyla gerçekleşir. Amerika Birleşik Devletleri ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde tipik olarak açık tenli insanlarda melanom neden olur (Sloan & Gelband, 2007).

Kanser risk faktörlerinin bir diğer önemli kategorisi de belirli patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlardır. Dünya çapındaki kanserlerin yaklaşık %15'inin bulaşıcı patojenlere bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Bazı virüsler, bakteriler ve parazitler kronik enfeksiyonlara neden olabilir ve kansere yol açmaya katkıda bulunabilir. Örneğin, insan papilloma virüsü enfeksiyonu rahim ağzı kanserinin başlıca nedeniyken, hepatit B ve C virüsleri hepatoselüler karsinomun (karaciğer kanseri) başlıca etkenleridir. Ayrıca, Epstein-Barr virüsü lenfomalar ve nazofarenks karsinomu ile ilişkilendirilirken, gastroenterite neden olan *Helicobacter pylori* bakterisinin gibi midedeki bakterilerin mide kanserini teşvik ettiği kaydedilmiştir (Hu vd., 2024).

Son olarak, bazı kanserler, kişiyi kansere karşı oldukça duyarlı hale getiren kalıtsal DNA mutasyonlarının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Örneğin, BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki belirli mutasyonlar meme ve yumurtalık kanseri riskinde büyük bir artışa neden olmaktadır (X. Wang vd., 2014). Şekil 1.2'de kanser için en önemli 4 değiştirilebilir risk faktörü bulunmaktadır.



Şekil 1.2 Kanser için değiştirilebilir en önemli 4 risk faktörü (Smart servier medical art ile çizilmiştir CC BY 4.0).

1.2.3. Kanser gelişim mekanizmaları

Kanser gelişimi temelde genetik ve hücresel bir süreçtir. Normal bir hücre, büyüme ve hayatta kalma söz konusu olduğunda tümöre avantaj sağlayan mutasyonların ve epigenetik değişikliklerin birikmesini içeren bir süreçle kanser hücresine dönüşür. Hücresel düzeyde kanser, belirli düzenleyici genler mutasyona uğradığında ortaya çıkar. Kanser gelişimi genellikle üç tür gen içerir: proto-onkogenler (POG'ler), onkogenler (OG'ler) ve tümör destekleyici genler (TSG'ler). POG'ler hücre bölünmesini, büyümesini ve hücre ölümünü

(apoptoz) düzenleyen bir gen sınıfıdır. Bir OG, bu genlerin ürününün aşırı sayıda kopyasını üreten bir POG'nin mutasyona uğramış bir versiyonudur. Öte yandan, bir TSG hücre çoğalmasını engelleme ve hücre ölümünü teşvik etme işlevi görür ve hücreyi kanserli bir hücreye dönüştürmekten koruma işlevi görür (Dakal vd., 2024; Kontomanolis vd., 2020). Çizelge 1.2.'de yaygın olarak bilinen bazı OG'ler ve TSG'ler gösterilmektedir.

Çizelge 1.2. Yaygın onkogenler (OGler) ve tümör baskılayıcı genlerin (TSGler) karşılaştırılması

Gen Türü	Gen Adı	Görevi	Kanserdeki Rolü
Onkogen	RAS	Büyüme faktörü reseptörlerinden gelen mitojenik sinyalleri ileten GTPaz	Mutasyona uğramış RAS, sürekli sinyal iletimi ile kontrolsüz hücre çoğalmasına yol açar.
Onkogen	MYC	Hücre büyümesi ve döngüsünü düzenleyen transkripsiyon faktörü	Aşırı ekspresyon proliferasyonu artırır, farklılaşmayı baskılar ve anjiyogenezi destekler.
Onkogen	HER2 (ERB B2)	EGFR ailesine ait bir reseptör tirozin kinazı kodlar	Gen amplifikasyonu, meme ve mide kanserlerinde aşırı büyüme sinyallerine neden olur.
Onkogen	BCR-ABL	Sürekli aktif tirozin kinaz aktivitesine sahip füzyon geni	Kronik myeloid lösemi gelişimini sürdürür; hücre çoğalmasını ve hayatta kalmayı teşvik eder.
Onkogen	BCL-2	Mitokondriyal apoptoz yolunu düzenler	Aşırı ekspresyon apoptozu önler, böylece kanser hücrelerinin hayatta kalmasını sağlar.
Tümör Baskılayıcı Gen	TP53	Hücre döngüsünü durduran ve apoptozu teşvik eden p53 proteini üretir	Mutasyon, DNA hasar yanıtını etkisiz hale getirerek genetik mutasyon birikimine yol açar.
Tümör Baskılayıcı Gen	RB1	Hücre döngüsünün G1'den S fazına geçişini kontrol eder	Fonksiyon kaybı, hücre döngüsünün kontrolsüz ilerlemesine neden olur.
Tümör Baskılayıcı Gen	BRCA 1/BRC A2	Homolog rekombinasyonla DNA onarımında görev alır	Mutasyonları, meme, over ve diğer bazı kanser türlerine yatkınlığı artırır.
Tümör Baskılayıcı Gen	PTEN	PI3K/AKT sinyal yolunu negatif yönde düzenler	PTEN kaybı, hücre hayatta kalması ve büyümesinde artışa neden olur.
Tümör Baskılayıcı Gen	APC	Wnt sinyal yolunda β -katenin yıkımını düzenler	Kayıpı, β -katenin birikimine ve kolorektal kanser gelişimine neden olur.

Genetik değişiklikler, tipik olarak bir tümör baskılayıcı genin kaybını veya bir onkogende mutasyonu içeren hücre döngüsü kontrol dengesini bozabilir ve bu da anormal şekilde çoğalmaya ve vücudun kontrol noktalarından kaçmaya yol açabilir. Örneğin, p53 tümör baskılayıcı proteini kodlayan TP53 genindeki mutasyonlar tüm kanserlerin yaklaşık yarısında bulunur. Bu tür mutasyonların birikmesi, hücrelerin avantajlı özellikler kazanmasını sağlar. Kanserlin ayırt edici özellikleri olarak adlandırılan bu özelliklerden bazıları sınırsız çoğalma yeteneği, kendi kendine büyüme sinyalleri üretme, büyüme baskılanmasından kaçınma, apoptoza direnç, anjiyogenez ve metastazın indüklenmesini içerir. Son zamanlarda, genomik stabilite kanserlin bir başka özelliği olarak eklenmiştir ve genellikle bozulmuş DNA onarımının bir sonucu olarak artan DNA mutasyon oranını ifade eder.

DNA'nın metilasyonu veya histonların asetilasyonu gibi epigenetik değişiklikler genellikle genetik mutasyonlarla eş zamanlı olarak bulunabilir. Bu epigenetik değişiklikler, tümör baskılayıcı genler gibi belirli genlerin susturulmasına veya diğer genlerin aktive edilmesine yol açar. Kanserli hücreler, tümör büyümesini desteklemek için fibroblastlar ve endotelial hücreler gibi kendilerini çevreleyen normal hücreleri de kullanabilir (Stewart, 2019).

Bazal membranın bozulması ve kırılmasını takiben çevre dokuların lokal istilası kanser gelişiminde önemli bir adımdır. Bu tipik olarak kanser hücrelerinin kan veya lenfatik sistem yoluyla yayılması ve ikincil tümörlerin oluşmasına yol açması olan metastazdan önce gelir. Metastaz, kanserli hücrenin hücreden hücreye ve hücreden subtrata yapışmayı değiştirerek çevresindeki dokudan ayrılmasını, başka bir yere göç etmesini ve bağışıklık sisteminden kaçmasını gerektiren çok adımlı karmaşık bir süreçtir (Webb & Vande Woude, 2000). Kanser hücresi yaşamı boyunca hayatta kalabilmek için bağışıklık sisteminden kaçmak zorundadır. Başlangıçta bağışıklık sistemi bazı kanserli hücreleri tanır ve ortadan kaldırır. Bununla birlikte, bağışıklık tepkisinden kaçmak veya onu bastırmak için yollar geliştiren bazı hücreler hayatta kalır (Stewart, 2019).

1.2.4. Kanser tedavisi

Kanser tedavisi genellikle çeşitli tedavi yöntemlerinin bir kombinasyonunu içerir. Hangisinin kullanılacağına seçimi tipik olarak kanserlin türüne ve hangi aşamada olduğuna bağlıdır. Birçok kanser tedavi stratejisinde ilk seçenek kemoterapi ile birlikte veya kemoterapi olmaksızın radyoterapi ile birlikte tümörün cerrahi olarak çıkarılmasıdır. Cerrahi genellikle

kanser erken evrelerdeyken etkilidir ve bu nedenle genellikle sağlıklı hücelere zarar veren kemoterapi ve radyasyona tercih edilir. X-ışını veya diğer iyonlaştırıcı radyasyon kaynakları yoluyla radyasyon tedavisi de kanserin yerel bir tedavisidir. DNA hasarına neden olarak kanser hücrelerini öldürmek veya tümörleri küçültmek için kullanılabilir. Radyoterapinin bir avantajı, implante edilmiş bir radyoaktif kaynak aracılığıyla harici veya dahili olarak uygulanabilmesidir (Debela vd., 2021).

Kemoterapi, normal hücelere kıyasla hızla bölünen yapıları nedeniyle kanser hücrelerini hedef alan sitotoksik ilaçların uygulanmasıdır. Kemoterapi kullanımında karşılaşılan en büyük zorluk, kemoterapiden kaynaklanan yan etkilerdir. Bu genellikle yüksek dozda kemoterapinin kanserli hücrelerin yanı sıra kanserli olmayan hücreleri de etkilemesinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Ayrıca, kanserli hücreler uzun süre maruz kaldıktan sonra kemoterapiye dirençli hale gelebilir. Kemoterapötik ajanlar birçok farklı hücresel süreci hedef alır ve bu nedenle birçok farklı sınıfa sahiptir ve bu sınıflar çizelge 1.3.'te verilmiştir.

Çizelge 1.3. Kemoterapi ilaç sınıfları (Amjad vd., 2025; Chandraprasad vd., 2022) 'dan alınmıştır

İlaç sınıfı	Mekanizma	Örnekler
Alkilleyici Ajanlar	Proteinler, RNA ve DNA üzerindeki nükleofilik merkezlere saldırır ve bir alkil grubu ekleyerek DNA replikasyonunu ve transkripsiyonu inhibe eder.	Siklofosamid, karmustin ve dakarbazin.
Antibiyotikler	Çift ve tek DNA iplikçik kırılmalarına yol açan DNA'ya interkalasyondur	Aktinomisin D ve bleomisin
Antimetabolitler	Nükleotidleri taklit ederler ve DNA replikasyonu sırasında bunların yerini alarak süreci inhibe ederler	Azacitidine, cladribine ve fluorouracil
Antimikrotübüler ajanlar (bitki kaynaklı)	Mikrotübüllerin birleşmesinin engellenmesi ve hücre döngüsünün durmasına neden olmasıdır	Paklitaksel gibi taksanlar, ve Vinblastin gibi Vinca alkaloidleri
Topoizomeraaz inhibitörleri	Topoizomeraaz I veya II'yi inhibe ederek RNA veya DNA sentezinin inhibisyonuna yol açarlar	Doksorubisin, mitoksantron ve irinotekan
Çeşitli	Çeşitli mekanizmalar	Tretinooin ve arsenik trioksit

Hedefe yönelik ilaç tedavisi, kanseri tedavi etmek için kullanılan bir başka stratejidir. Hedefe yönelik ilaç tedavisi, hastanın DNA'sındaki belirli mutasyonların tanımlanmasını ve ardından yalnızca ifade edilen anormal proteinin hedeflenmesini ve böylece kanserli olmayan hücrelerin etkilenmesinin önlenmesini içerir. Yüzey proteinleri, sinyal iletim yolları, metastaz,

büyüme faktörleri ve daha fazlası dahil olmak üzere birçok moleküler süreç ve protein spesifik olarak hedeflenebilir.

Hedefe yönelik ilaç tedavisi, hormon tedavisi, immünoterapi, gen düzenleme ve daha fazlası dahil olmak üzere birçok kategoride sınıflandırılabilir. Ancak genellikle küçük molekülü inhibitörler ve monoklonal antikorlar en çok kullanılan hedefe yönelik kanser tedavisi türleridir. Küçük molekülü inhibitörler düşük moleküler ağırlığa sahiptir ve bu nedenle hücre içine geçebilir ve hücrelerin içindeki proteinleri hedefleyebilir. Bunun aksine, monoklonal antikorlar büyük moleküler ağırlığa sahiptir ve bu nedenle hücre içine giremezler. Monoklonal antikorlar genellikle hücre yüzeyinde ya da tümörün çevresinde bulunan proteinleri hedef alır. Örneğin, ilerlemiş pankreas kanserinin tedavisinde kemoterapi rejimine erlotinib eklenmesi, hayatta kalma oranının %40'tan fazla artmasıyla sonuçlanmıştır. Benzer şekilde, rutiximab gibi monoklonal antikorlar multipl miyelom gibi bazı kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Debela vd., 2021; Shuel, 2022).

Kanser tedavilerinin bir diğer önemli kategorisi de hormon tedavisi olarak da bilinen endokrin tedavisidir. Prostat kanseri ve meme kanseri gibi bazı kanserler hayatta kalmak ve büyümek için hormonları ve bunların sinyal yollarını kullanmaktadır. Örneğin, östrojenin kanserojen olduğu doğrulanmıştır. Kanserojen mekanizmasının, sitokrom CYP450 aktivasyonu yoluyla çoğalmanın uyarılmasını ve mutasyonların artmasını içerdiği düşünülmektedir (Chaput & Sumar, 2022; Russo & Russo, 2006). Aslında, meme kanserlerinin 4'te 3'ünün östrojen reseptörünü (ER) ifade ettiği ve bu nedenle ER-pozitif olarak adlandırıldığı görülmektedir. ER-pozitif meme kanseri için endokrin tedavisi tercih edilen tedavidir. Meme kanserinin hormon tedavisinde kullanılan ilaç sınıfları arasında tamoksifen gibi seçici östrojen reseptör modülatörleri, fulvestrant gibi seçici östrojen reseptör bozucuları ve letrozol gibi aromataz inhibitörleri bulunmaktadır (Yuan ve ark., 2023).

Gen terapisi de gelişmekte olan bir ileri hedefli kanser terapisi. Gen terapisi, kusurlu bir genin yerini almak veya istenmeyen bir genin ifadesini engellemek için DNA veya RNA şeklinde genetik materyalin verilmesini içerir. Spesifik mutasyona uğramış genin oluşturulmasından sonra, terapötik DNA veya RNA viral veya viral olmayan bir vektör aracılığıyla iletilir. Genellikle, adenovirüsler gibi viral vektörler, potansiyel bağışıklık yan etkileri ve kansere neden olma olasılığı nedeniyle tercih edilmez. Viral olmayan vektörler arasında pozitif yüklü polimer polietilenimin vektörleri gibi polimer bazlı vektörler ve lipozomlar gibi lipid bazlı vektörler yer almaktadır (Mohd Abas vd., 2024). Kanser için gen

terapisi çeşitli şekillerde olabilir. Bir strateji, onkogenlerin ifadesini bastırmak için genetik materyalin verilmesini içerir. Diğer bir strateji ise mutasyona uğramış genin yerine TP53 geninin işlevsel kopyalarının eklenmesi yoluyla TP53 gibi TSG'nin onarılmasına dayanmaktadır. Gen terapisi kanserli hücrelerde intiharı teşvik etmek için de kullanılabilir. Gene yönelik enzim ön ilaç tedavisi olarak adlandırılan bu yöntem, inaktif bir sitotoksik ilacın ve ilacı aktive eden bir enzimi kodlayan bir gen kopyasının verilmesini ve böylece ilacın sadece kanser hücrelerini hedef alacak şekilde yönlendirilmesini içerir. Anti-anjiyojenik gen terapisi de başka bir gen terapisi şeklidir. Anjiyostatinler gibi pro-anjiyojenik ajanları artıran veya vasküler endotelial büyüme faktörü gibi pro-anjiyojenik moleküllerin ekspresyonunu inhibe eden genetik materyaller vererek anjiyogenez sürecini inhibe etmek için kullanılır (T. Li ve ark., 2018).

Kanser tedavisindeki bir diğer önemli gelişme de immünoterapidir. İmmünoterapi, kanserli hücreleri tanımak ve ortadan kaldırmak için vücudun bağışıklık sistemini kullanır. Bir tür immünoterapi, immün kontrol noktaları inhibitörlerinin (ICI'ler) bloke edilmesini içerir. İmmün kontrol noktaları, bağışıklık sistemini uyarmaya veya engellemeye yarayan yollardır. İyi çalışılmış bazı inhibitör immün kontrol noktaları, sitotoksik T lenfosit ilişkili molekül 4 (CTLA-4) ve Programlanmış hücre ölüm reseptörü 1 (PD-1) gibi T hücresi hücre yüzey reseptörleridir. CTLA-4 ve PD-1, bağışıklık tepkisini inhibe eden ve normal hücrelere saldırmasını engelleyen frenler olarak işlev görür (Nebhan & Johnson, 2020). ICI'ler, CTLA-4'e bağlanan nivolumab ve PD-1'e bağlanan ipilimumab gibi antikorlardır, böylece T hücrelerinin kanser hücresine saldırmasına ve ortadan kaldırmasına izin verir. Bir başka immünoterapi türü de, T-hücrelerinin tümörleri tanıyan reseptörleri ifade edecek şekilde genetik olarak tasarlandığı veya tümör infiltre eden T hücrelerini izole edip büyüttükten sonra kansere karşı bağışıklık tepkisini arttırmak için kanser bölgesine geri gönderildiği benimsenmiş hücre tedavisidir. Kimerik antijen reseptörlü T hücreleri, majör histo-uyumluluk komplekslerini kullanmadan tümörlerde bulunan spesifik antijenleri bağlamak üzere tasarlanmış T hücrelerine örnektir (Cesur-Ergün & Demir-Dora, 2023; Sahu & Suryawanshi, 2021).

Çizelge 1.4. Antikanser terapilerin türlerinin özeti

İlaç sınıfı	Mekanizma	Kullanım bağlamı	Önrekler
Ameliyat	Tümör dokusunun fiziksel olarak çıkarılması	Erken evre kanserler; küratif amaçla	

Çizelge 1.4. Devam

İlaç sınıfı	Mekanizma	Kullanım bağlamı	Önrekler
Radyoterapi	İyonize radyasyon kullanılarak kanser hücrelerinde DNA hasarı oluşturulması	Lokal tedavi; cerrahiden önce/sonra veya palyatif amaçla	X-ışını, radyoaktif kaynaklar
Kemoterapi	Hızla bölünen hücreleri öldürmek için sitotoksik ilaçların kullanımı	Birçok kanser türü için sistemik tedavi; sıklıkla diğer tedavilerle birlikte	Siklofosfamid, 5-FU, paklitaksel, doksorubisin
Hedefe Yönelik Tedavi	Kanser hücrelerindeki belirli mutasyonların hedeflenmesi	Belirli moleküler hedefleri olan kanserler için (örn. EGFR mutasyonları, HER2 pozitifliği)	Erlotinib, rituksimab,
Endokrin (Hormon) Tedavisi	Hormon duyarlı kanserlerde hormon sinyal yollarının engellenmesi	Özellikle ER pozitif meme ve hormon duyarlı prostat kanseri için	Tamoksifen, letrozol, fulvestrant
Gen Tedavisi	Kanser hücrelerinde gen ekspresyonunu değiştirmek için genetik materyal verilmesi	Gen mutasyonlarına bağlı olarak deneysel veya hedefe yönelik kullanım (örn. TP53 onarımı, intihar genleri)	Lipozomlar, polietileniminer, adenovirüsler
İmmünoterapi	Tümörlere karşı bağışıklık yanıtını uyarmak veya yeniden etkinleştirmek	Bağışıklık sisteminin uyarıldığı kanserlerde (örn. melanom, NSCLC, hematolojik kanserler)	Nivolumab (PD-1), ipilimumab (CTLA-4), CAR-T hücreleri

1.3. MTT deneyi kullanılarak sitotoksosite taraması

Kanser hücrelerine karşı sitotoksiteyi test etmenin en yaygın yollarından biri (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromide) (MTT) tahlilidir. Canlı hücrelerin metabolik aktivitesine dayalı olarak hücre canlılığını ve toksisitesini ölçen kolorimetrik bir testtir. Test, hücrelerin sarı tetrazolyum reaktifini indirgeyerek çözünmeyen mor formazan kristalleri üretme kabiliyetine dayanır; bu kristaller dimetilsülfoksit (DMSO) kullanılarak

çözünür hale getirilir ve absorbans yaklaşık 570nm'de ölçülür. İndirgeme tipik olarak metabolik olarak aktif hücrelerde mitokondriyal dehidrojenazlar tarafından gerçekleştirilir. Bu test canlı hücrelerin canlılığını ölçer çünkü yalnızca canlı hücreler sağlam mitokondrilere sahiptir ve reaksiyonu katalize edebilir. MTT tahlili basitliği, düşük maliyeti ve tahlil dikkatlice kontrol edilirse verdiği sonuçların kolayca tekrarlanabilir olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Ghasemi vd., 2021; Rai vd., 2018)

1.3.1. A549 akciğer kanseri hücre hattı

Hücre hatları, uygun ortam ve yeterli alan sağlandığında süresiz olarak çoğalmaya devam edebilen hücre kültürleridir (Ulrich & Pour, 2001). Hücre hatları yaşam bilimlerinde o kadar önemli bir tekniktir ki 2012 yılında biyoaktif bileşiklerin %65'inden fazlasının üretiminde kullanılmıştır (Kremkow & Lee, 2015). MCF-7, Caco-2 ve A549 insanlarında meme, kolon ve akciğer kansinomlarının incelenmesinde yaygın olarak kullanılan hücre hatlarına örnektir (Singh ve Goswami, 2012; Sundararajan vd., 2014).

1.4. *Berberis* cinsindeki bitkilerin antioksidan ve sitotoksik etkileri.

Tıbbi bitkiler, "hastalıkları hafifletebilen veya iyileştirebilen" bitkiler olarak tanımlanabilir (Silveira Rabelo & Caldeira Costa, 2018). Şifalı bitkiler, tüm dünyada yüzlerce yıldır geleneksel ilaçların temelini oluşturmaktadır. Bitki özleri mükemmel bir antioksidan kaynağıdır (Dinesh vd., 2014; Nigussie vd., 2023). Bitki ekstresini çıkarmak için kullanılan çözücü, ekstraksiyon verimini ve ekstrenin içeriğini etkiler (Idris Ali vd., 2021).

Berberidaceae familyasına ait olan *Berberis* cinsi 500'den fazla tür içerir. Cins, Pakistan'dan ABD'ye kadar coğrafi olarak birbirinden uzak bölgelerde görülür. *Berberis* bitkileri, olumsuz koşullarda üremelerini sağlayan bir özellik olan eşeyli üreme evresinin yanı sıra eşeysiz üreme evresine de sahip, yaprak dökmeyen çalılardır (Mokhber-Dezfuli vd., 2014). Geleneksel olarak, *Berberis* bitkileri, göz romatizması, sarılık ve diğerleri de dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. *Berberis* bitkileri esas olarak flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler ve glikozitler gibi diğer bileşikler içerir. Bu cinsin üyelerinde bulunan başlıca alkaloid berberin ve daha az oranda berbaminidir. Protoberberin alkaloid ailesine ait olan bu alkaloidler genellikle köklerde, kök kabuğunda ve gövdede bulunurken, fenolik bileşikler genellikle meyvelerde, yapraklarda ve tohumlarda bulunur (Khan ve ark., 2016).

1.4.1. *Berberis crataegina*

Berberis crataegina DC., Türkiye, İran ve Türkmenistan'da doğal olarak yetişen bir çalıdır. Bitkinin kökleri, yaprakları ve diğer kısımları, geleneksel tıpta hipertansiyon, hemoroid, sarılık ve bronşit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. (Ayna & Arslanoğlu, 2019).

B. crataegina'nın birçok biyoaktif bileşik içerdiği gösterilmiştir. Bunlar arasında berberin, palmitin ve berbamin gibi alkaloidler bulunur. Bunun yanı sıra, *B. crataegina*'nın meyvesinin klorojenik asit, kinik asit, gallik asit ve diğerleri dahil olmak üzere birçok biyoaktif fenolik bileşik içerdiği kanıtlanmıştır. (Ayna & Arslanoğlu, 2019; Ercan, 2024).

1.4.2. *Berberis* cinsindeki bitkilerin antioksidan etkileri

Berberis vulgaris köklerinin etanol ekstreleri, 120,7mg GAE/g olan yapraklara kıyasla 147,2mg GAE/g (gram başına Gallik asit eşdeğerleri) ile daha yüksek fenolik içerik (TPC) içermektedir. Bu değerler, önemli in vitro DPPH (kök ekstresi için %44,3) ve ABTS (kök ekstresi için %86,5) radikal temizleme aktiviteleri ile eşleşmiştir (El-Zahar vd., 2022). Bir başka çalışmada, yaprak ekstrelerinin DPPH ve ABTS için sırasıyla 65,2mg TE/g (gram başına Trolox eşdeğerleri) ve 140,5mg TE/g radikal süpürme yetenekleri gösterdiği bulunmuştur. Meyve ekstreleri 17,9mg TE/g antioksidan sonuç göstermiştir (Och ve ark., 2023).

Benzer radikal süpürme aktiviteleri, petrol eteri kök ekstresi %82 DPPH inhibisyonu gösteren *Berberis lycium*'da kaydedilirken, metanolik ve sulu kök ekstreleri sırasıyla %67 ve %49 DPPH inhibisyonu göstermiştir (Mughal vd., 2022; Sabir vd., 2013).

Bir başka çalışmada *Berberis thunbergii* yaprağı incelenmiş ve metanolik ekstrelerinin sırasıyla 450 ve 429mg TE/g ABTS ve DPPH değerlerine ve 216mg GAE/g toplam fenolik içeriğe (TPC) sahip olduğu gösterilmiştir. Öte yandan, *B. thunbergii*'nin sulu ekstreleri hem ABTS hem de DPPH için 360mg TE/g ile daha düşük değerlere sahipti ve TPC'si de 194mg GAE / TPC ile daha düşüktü (Fernández-Poyatos ve ark., 2019).

Berberis microphylla ile ilgili olarak, yaprak metanol/su ekstrelerinin 1108µmol TE/g kuru ağırlıkta yüksek ABTS değerleri ve 154mg GAE/g TPC sergilediği bulunmuştur. Meyve ekstreleri ise 133mg TE/g'a kadar ABTS değerleri ve 37mg GAE/g'a kadar TPC göstermiştir.

1.4.2. *Berberis* cinsindeki bitkilerin antikanser etkileri.

Etanol ve etil asetat *B. vulgaris* meyve ekstralarının etkisi MTT kullanılarak MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde test edilmiştir. Etanolik ekstrenin ($IC_{50} = 3.54\mu\text{g/mL}$) etil asetat ekstresinden ($IC_{50} \approx 596.7\mu\text{g/mL}$) çok daha güçlü olduğu bulunmuştur. İlginç bir şekilde, normal hücreler üzerinde herhangi bir sitotoksik etki görülmemiştir (El khalki ve ark., 2018). Başka bir araştırmada, *B. vulgaris*'in kök kabuğu ekstresi diğer bitkilerle karşılaştırılmış ve %0,4 ekstre konsantrasyonunda en iyi IC_{50} 'ye sahip olduğu görülmüştür (Ciorîță ve ark., 2024).

Berberis aristata ile ilgili olarak, hidroetanolik ekstre A549 akciğer adenokarsinom hücreleri üzerinde test edilmiş ve yaklaşık $47,8\mu\text{g/mL}$ (Pundge & Dhabe, 2025) IC_{50} değerine sahip olduğu bulunmuştur. Bitkinin ayrıca A549 hücrelerinin öldürülmesi söz konusu olduğunda curcumin ile birleştirildiğinde sinerjik bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Balakrishna & Kumar, 2015).

Başka bir çalışmada, *Berberis lycium*'un su/etanol ekstresi üzerinde HepG2 karaciğer kanseri hücrelerine karşı bir MTT testi yapılmış ve yaklaşık $47\mu\text{g/mL}$ 'lik bir IC_{50} sergilediği bulunmuştur.

Berberis cinsindeki birçok bitkinin A375 melanom hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri bir grup araştırmacı tarafından karşılaştırıldı. Cins. *B. thunbergii*, *Berberis aquifolium* ve diğerlerini içeren bitkilerin korteks ekstraları için IC_{50} değerinin $32,6$ ila $73,4\mu\text{g/mL}$ arasında değiştiği bulunmuştur (Tuzimski vd., 2024). Bununla birlikte, tüm *Berberis* türlerinde sitotoksikite kaydedilmemiştir. *Berberis integerrima* meyvelerinin antosiyanin bakımından zengin fraksiyonu yalnızca çok yüksek konsantrasyonlarda ($800\mu\text{g/mL}$) sitotoksik aktivite göstermiştir (Farmani & Sabahi, 2018).

1.4.3. *Berberis* cinsinde bulunan biyoaktif bileşiklerin antikanser etkileri.

Berberis türlerindeki çeşitli alkaloidler arasında berberin en yaygın olarak çalışılanıdır. Karaciğer hücrelerinde apoptozu indüklemenin yanı sıra G2/M fazında hücre döngüsünün durmasına neden olabildiği bulunmuştur. Ayrıca osteosarkom ve mide hücrelerinde pro-apoptetik genler aracılığıyla G1/G0 durmasına neden olduğu bulunmuştur (Almatroodi vd., 2022). Berberinin benzer şekilde apoptozu tetiklediği bulunmuştur. 26'dan fazla çalışmanın

sistematik bir incelemesinde, berberinin tümör hacmini azalttığı ve tümör anjiyogenezini inhibe ettiği bulunmuştur (Xu vd., 2019). Yumurtalık kanserinde, berberinin kanser metastazının önemli ölçüde engellenmesine neden olduğu ve tümör infiltre eden hücrelerin sayısını artırdığı bulunmuştur. Bunun, lipid alımını inhibe ederek ve yağ dokularının doku yaşlanmasını azaltmaya yardımcı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir (Zhang ve ark., 2025). Benzer şekilde, berberinin, tümör nekroz faktörü alfa tarafından indüklenen hücre invazyonunu ve matriks metalloproteinaz-9'u inhibe ederek ve böylece hücre dışı matris bozulmasını önleyerek meme kanseri hücrelerinde doza bağlı bir şekilde metastazı baskıladığı bulunmuştur (S. Kim ve ark, 2008). İnsan papiller tiroid kanserinde, ROS oluşumunda artış ve apoptozla sonuçlanan Fosfoinositid 3-kinaz/Protein Kinaz B (PI3/Akt) yolağının inhibisyonu berberin tarafından sağlanmıştır (J. Li ve ark., 2025).

Bir başka *Berberis* alkaloidi olan berbamin de PI3/Akt yolu üzerindeki inhibitör etkisiyle dikkat çekmiştir. Ayrıca, akciğer adenokarsinom hücrelerinde, berbamin A549 hücrelerinin çoğalmasında önemli bir azalmaya neden olmuştur. Ek olarak, berbamin ile tedavi edilen farelerde daha küçük tümörlerin yanı sıra metastazın inhibisyonu da kaydedilmiştir (Liu ve ark., 2021). Zhang ve arkadaşları tarafından berberin hakkında fark edilene benzer şekilde, farelerdeki melanom hücrelerinde, berbamin hidroklorürün hücre yüzeyindeki MHC-1 seviyelerini artırarak otopahjiyi inhibe ettiği ve CD8⁺ T hücrelerinin infiltrasyonunu artırdığı fark edilmiştir (Xian ve ark., 2024). Başka bir çalışmada, berbaminin hem beyin kaynaklı nörotrofik faktör hem de vasküler endotelial büyüme faktörü tarafından indüklenen anjiyogenezi baskılayarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinde anjiyogenezi inhibe ettiği görülmüştür (Y. J. Kim ve ark., 2021). Berbaminin, Bax gibi pro-apoptotik proteinlerin ekspresyonunu teşvik ederek ve Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonunu inhibe ederek imatinibe dirençli kanser hücrelerinin büyümesini baskılayabildiği gösterilmiştir (Wei vd., 2009). Berbaminin pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinler üzerindeki benzer etkisi, berbaminin meme kanserinde metastazı baskılama yeteneğini gösteren başka bir çalışmada da gösterilmiştir (S. Wang ve ark., 2009).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Kullanılan kimyasallar

Fosfat tamponlu salin (PBS) çözeltisi, dimetilsülfoksit, tripsin, MTT reaktifi, DPPH reaktifi, ABTS reaktifi, Gallik asit, metanol, etanol, diklorometan, etilasetat, n-butanol, RPMI 1640 besiyeri (Sigma), ısı ile inaktive edilmiş fetal sığır serumu (Cegrogen), 2mM L-glutamin (Cegrogen), 1mM penisilin (Cegrogen), 50U/ml streptomisin (Cegrogen).

2.2. Kullanılan cihazlar

Hassas terazi, döner buharlaştırıcı, pipetler, ultrasonik banyo, santirifüj (Sigma), steril kabin (Holten Lamin Air), spektrofotometre (Thermo scientific Multiscan GO), CO₂ İnkübatörü (Sanyo), su banyosu (Daihan), magnetik karıştırıcı (Velp Scientifica), -20 °C ve -80 °C derin dondurucular (Bosch, Sanyo) marka, buzdolabı (Arçelik), vorteks (Heidolph), elektronik terazi (Mettler Toledo), çalkalayıcı (Labnet international), inverted mikroskop (Olympus) kullanılmıştır.

2.3. Ekstrelerin hazırlanması

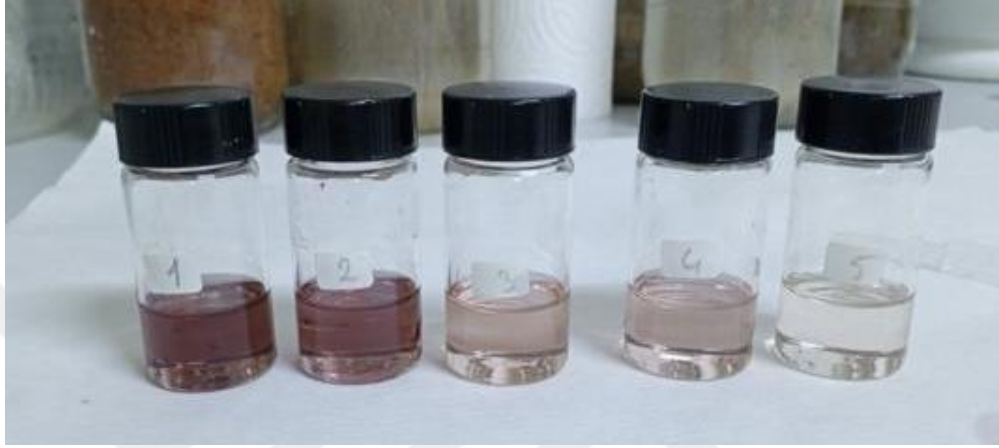
Kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları için ekstreler hazırlamak amacıyla, ilk olarak *Berberis crataegina* DC. meyvelerinden metanolik ve etanolik ekstreler hazırlanmıştır. Bu amaçla: 50 g toz haline getirilmiş bitki materyali 250ml metanol/etanol ile 50°C'de 8 saat boyunca döner buharlaştırıcıda dinamik maserasyon kullanılarak ekstre edilmiştir. Karışım daha sonra süzölmüş ve vakum altında kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. Bu işlem üç kez tekrarlanmıştır. Daha sonra, metanolik ekstre bir metanol:su (1:9) karışımında dağıtılmış ve diklorometan, etil asetat ve n-bütanol kullanılarak ayırıcı bir hunide sırayla fraksiyonlanmıştır. Her fraksiyon kuruluğa kadar buharlaştırılmış ve tartılmıştır. Çizelge 2.1 metanol, etanol, diklorometan, etilasetat ve n-bütanol ekstrelerinin konsantrasyonlarını gösterirken, şekil 2.1 hazırlanan çözeltilerin bir resmini göstermektedir.

Çizelge 2.1. Hazırlanmış *Berberis crataegina* DC. ekstrelerinin derişimi

No.	Ekstre/fraksiyon	Derişim
1	<i>Berberis crataegina</i> DC. metanol ekstresi:	1 g / ml
2	<i>Berberis crataegina</i> DC. metanol ekstresi:	1 g / ml

Çizelge 2.1. Devam

No.	Ekstre/fraksiyon	Derişim
3	<i>Berberis crataegina</i> DC. diklorometan fraksiyonu:	1 g / ml
4	<i>Berberis crataegina</i> DC. etilasetat fraksiyonu:	1 g / ml
5	<i>Berberis crataegina</i> DC. n-butanol fraksiyonu:	1 g / ml



Şekil 2.1. Hazırlanmış *Berberis crataegina* DC. ekstreleri. Ekstreler: 1. metanol, 2. etanol, 3. diklorometan, 4. etilasetat, 5. n-butanol ekstresi.

2.4. DPPH deneyi.

Metanol içinde 100 µM DPPH solüsyonu hazırlanmıştı. Hazırlanan solüsyonun karanlıkta kalmasına ve şahin tüpünün alüminyum folyoya sarılmasına özen gösterilmiştir. DPPH çözeltileri, farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstreleri ile işlenmiştir. Nihai ekstre konsantrasyonları 0, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Kuluçkadan sonra 517 nm'de spektrofotometrik absorbans ölçümleri yapılmıştır. Bitki ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürücü etkisi, serbest radikal azaltma oranı olarak hesaplanmıştır. Her deney en az üç kez tekrarlanmıştır. Butilhidroksi tolüen (BHT), referans madde olarak kullanılmıştır (pozitif kontrol). Bitki özlerinin DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{inhibisyon} = [(\text{Absorbanlar}_{\text{Kontrol}} - \text{Absorbanlar}_{\text{Numune}}) / \text{Absorbanlar}_{\text{Kontrol}}] \times 100$$

Graphpad Prism 9.0 programında her bir ekstre için bitki ekstreninin çeşitli konsantrasyonları için % inhibisyon değerleri kullanılarak standart bir eğri oluşturulmuştur ve yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu (IC50) hesaplanmamıştır.

2.5. ABTS testi.

2,2'-azinobis(3-etilbenzthiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) deneyi antioksidan aktiviteyi belirlemenin popüler bir yoludur. Troksol eşdeğeri antioksidan (TREA) testinin geliştirilmiş halidir ve bir antioksidanın ABTS⁽⁺⁾ radikalinin rengini azaltma ve 414nm-417nm ve 730nm-734nm'de ışık emilimini ölçme yeteneğini ölçmeyi içerir (Ilyasov vd., 2020). Bu yöntem basittir ve birçok hidrofilik ve hidrofobik antioksidan için geçerlidir ve bu yöntemin yapılabileceği pH aralığı geniştir (Alzagameem vd., 2018).

7mM ABTS önce suda çözülmüş ve 2.45mM potasyum persülfat ile reaksiyona sokulmuştur. Elde edilen radikal solüsyon, yaklaşık 12-16 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta tutulmuştur. Ardından, çözeltiyi etanol ile seyrelterek ABTS çalışma çözeltisi hazırlanmıştır. Çalışma solüsyonu çok çabuk bozulabilmektedir, bu nedenle her çalışma için taze olarak hazırlanmıştır. Solüsyonu karanlıkta tutmaya özen gösterilecek ve falkon tüpü alüminyum folyoya sarılmıştır. ABTS çözeltileri, farklı konsantrasyonlarda bitki ekstraktları ile işlenmiştir. Nihai ekstre konsantrasyonları 0, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000µg/ml'dir. Hazırlanan solüsyon 6 dakika oda sıcaklığında tutulduktan sonra 734 nm'de absorbans spektrofotometrik ölçümleri alınmıştır. ABTS bitki ekstraktlarının serbest radikal süpürücü aktivitesi, serbest radikal indirgeme oranı olarak hesaplanmıştır. Amaç, her deneyi en az üç kez tekrarlamaktır. Trolox referans maddesi olarak kullanılmıştır (pozitif kontrol). Bitki ekstraktlarının ABTS serbest radikal süpürücü aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır

2.6. Toplam fenolik içerik (TPC) tahlili

Folin-Ciocalteu tahlili olarak da bilinen bu yöntem numunedeki fenolik bileşiklerin miktarını ölçer. TPC testi doğrudan antioksidan aktiviteyi ölçmez, ancak bu tür bileşiklerin miktarındaki artış antioksidan aktivitedeki artışla doğrusal olarak ilişkili olduğundan toplam antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için kullanılır. Piluzza ve Bullitta, ABTS ve TPC arasındaki R korelasyon katsayısının %94,3 ve DPPH ve TPC arasında %95,6 olduğunu bildirmiştir (Piluzza & Bullitta, 2011). Yöntem, antioksidanın Folin-Ciocalteu reaktifini

indirgeme kabiliyetine dayanır. Hem basit hem de tekrarlanabilir olması onu antioksidan tayininde köşe taşı bir yöntem haline getirmiştir.

Bitki ekstralarının çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilerden 100 µl alınmıştır ve 400 µl (v/v) Folin Ciocalteu reaktifi ile işlenmiştir. Karışıma 800 µL %5 sodyum karbonat solüsyonu ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Tüpler daha sonra oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra absorbands 765 nm'de ölçülmüştür. Her deney en az 3 tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Her ekstrenin toplam fenolik içeriği, gallik asit ile hazırlanan standart bir kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır. Örneklerdeki toplam fenol miktarı, bir gram kuru ekstre (mg GAE/g ekstre) başına mg gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

2.7. Hücre Kültürü

A549 akciğer kanseri hücreleri 37 °C derecede %5 CO₂ içeren etüvde 75 cm² flasklarda devam ettirilmiştir. Hücreler, hücrelerin büyüüp büyümediğini görmek ve hücrelerin kontamine olmadığından emin olmak için ters mikroskop kullanılarak günlük olarak incelenmiştir.

Flasklar yoğunluklarını görmek için invert mikroskop altında tarandı. Yüksek yoğunluğa (%80) ulaşan hücrelerin bulunduğu şişelerde kültür ortamı uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin ayrılmasına yardımcı olmak için yaklaşık 2ml tripsin eklendi ve flask 3 dakika boyunca inkübatöre konuldu. Hücrelerin ayrıldığından emin olduktan sonra, tripsini inaktif hale getirmek ve hücreleri proteolitik hasardan korumak için 5ml besiyeri eklenmiştir. Daha sonra, hücreler bir tüpe aktarıldı ve 5 dakika boyunca dakikada 1000 rpm santrifüjde santrifüj edildikten sonra süpernatant atılarak hücre peleti sayım için bir büyüme ortamında yeniden süspanse edilmiştir. Hücre sayımı mikroskop altında bir hemositometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sayılan hücreler daha sonra 96 kuyucuklu plaklara eklenmiştir. Her bir kuyucuğa 10.000 hücre eklenmiş ve 24 ve 72 saat boyunca farklı solvanlarda hazırlanmış olan meyve ekstraları varlığında ve yokluğunda inkübe edilmiştir.

2.8. MTT sitotoksikite deneyi

Her bir *B. crataegina* DC. ekstreninin 15, 30, 60, 125, 250 ve 500µg/ml dilüsyonları büyüme ortamı besiyeri kullanılarak yapılmıştır. A549 hücreleri 96 kuyulu plaklara ekildikten

bir gün sonra, *B. crataegina* DC. ekstrelerinin çeşitli konsantrasyonları her bir kuyucuğa eklenmiş ve kuyucuk 24 saat ve 72 saatte boyunca inkübe edilmiştir. Negatif kontrol kuyuları sadece besiyeri içermiştir. Ink basyonların ardından, her bir kuyucuğa 20 L MTT (5mg/ml) eklenmiş ve 1-4 saat inkübasyonun ardından oluşan formazan kristalleri uygun     c de     lerek 550nm'deki absorbans değeri spektrofotometre kullanılarak     lm  tir.

2.9. istatistiksel analiz

Sitotoksik aktivite deneyleri için GraphPad 9.5.1 kullanılmıştır. Verilerin dağılımı dikkate alınarak, çoklu grup kar ıla tırmaları için One Way Anova Testi ve uygun post-hoc test uygulanmıştır.



3. BULGULAR

3.1. *Berberis crataegina*'nın antioksidan etkileri

Farklı çözücülerle hazırlanan *Berberis crataegina* (BC) meyve ekstraktlarının toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteleri kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiş ve BC'nin DPPH, ABTS ve TPC test sonuçları aşağıdaki bölümlerde belgelenmiştir.

3.1.1. DPPH testi

DPPH testinde, metanol ekstresi en düşük IC₅₀ değeri ($0,239 \pm 0,005 \mu\text{g/mL}$) ile en güçlü antioksidan aktiviteyi göstermiş, bunu etanol ($0,271 \pm 0,007 \mu\text{g/mL}$), etil asetat ($0,291 \pm 0,008 \mu\text{g/mL}$), diklorometan ($0,298 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$) ve n-bütanol ($0,573 \pm 0,014 \mu\text{g/mL}$) ekstraktları izlemiştir. Çeşitli BC ekstraktlarının IC₅₀ değerleri çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. BC ekstraktlarının DPPH radikal temizleyici aktivite değerleri

Ekstre/Standart	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SS*
BC-Metanol	$0,239 \pm 0,005$
BC-Etanol	$0,271 \pm 0,007$
BC-Diklorometan	$0,298 \pm 0,009$
BC-Etilasetat	$0,291 \pm 0,008$
BC-n-bütanol	$0,573 \pm 0,014$
Propil gallat	$0,162 \pm 0,005$

*SS= Standart sapma

3.1.2 ABTS testi

DPPH'ye benzer şekilde, metanol ekstresi en yüksek aktiviteyi ($0,163 \pm 0,010 \mu\text{g/mL}$) göstermiş ve kontrol maddesi Trolox'a ($0,068 \pm 0,005 \mu\text{g/mL}$) kıyasla kayda değer bir performans sergilemiştir. Etanol ekstresi $0,211 \mu\text{g/mL}$ ile düşük IC₅₀ göstermiş olup, bu değer etilasetatın IC₅₀ değerinden biraz daha fazladır düşüktür. En düşük sonuçlar, sırasıyla $0,289 \mu\text{g/mL}$ ve $0,328 \mu\text{g/mL}$ IC₅₀ değerlerine sahip olan diklorometan ve n-bütanol ekstraktları için kaydedilmiştir. Çeşitli BC ekstraktlarının IC₅₀ değerleri çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

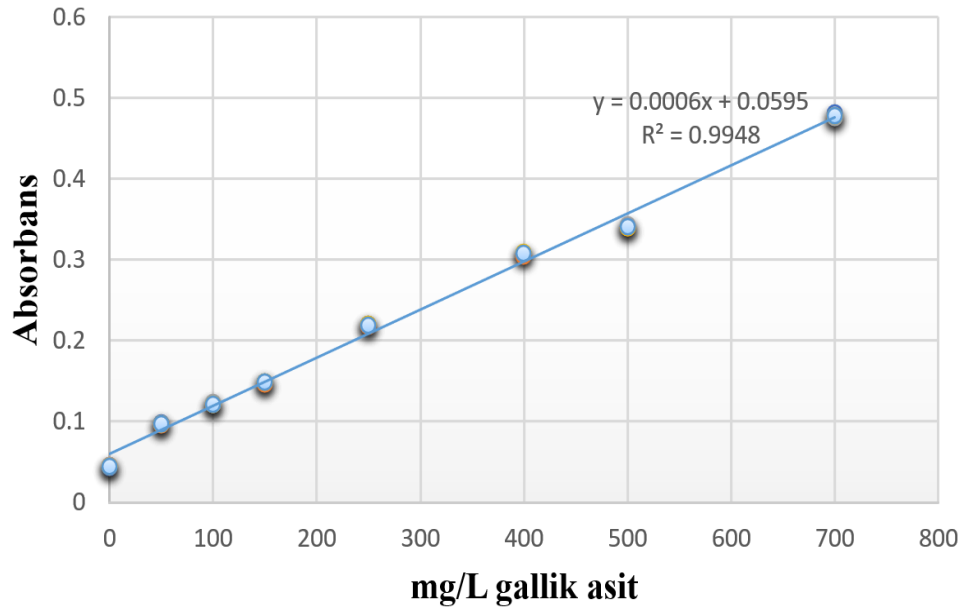
Çizelge 3.2. BC ekstralarının ABTS radikal temizleyici aktivite değerleri

Ekstre/Standart	IC50 (µg/mL) ± SS*
BC-Metanol	0,163 ± 0,010
BC-Etanol	0,211 ± 0,008
BC- Diklorometan	0,289 ± 0,012
BC-Etilasetat	0,234 ± 0,015
BC-n-bütanol	0,328 ± 0,015
Trolox	0,068 ± 0,005

*SS= Standart sapma

3.1.3. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi

İlk olarak, gallik asit için standart kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Gallik asit için kalibrasyon eğrisi şekil 3.1.'de gösterilmiştir. Metanol ekstresi (191.500 ± 1.900 mg GAE/g) en yüksek fenolik konsantrasyonunu sergilemiş, bunu etanol (140.833 ± 1.667 mg GAE/g), etil asetat (90.833 ± 1.667 mg GAE/g), diklorometan (60.167 ± 2.528 mg GAE/g) ve n-bütanol (34.167 ± 1.667 mg GAE/g) ekstraları izlemiştir.



Şekil 3.1. Gallik asit kalibrasyon grafiği

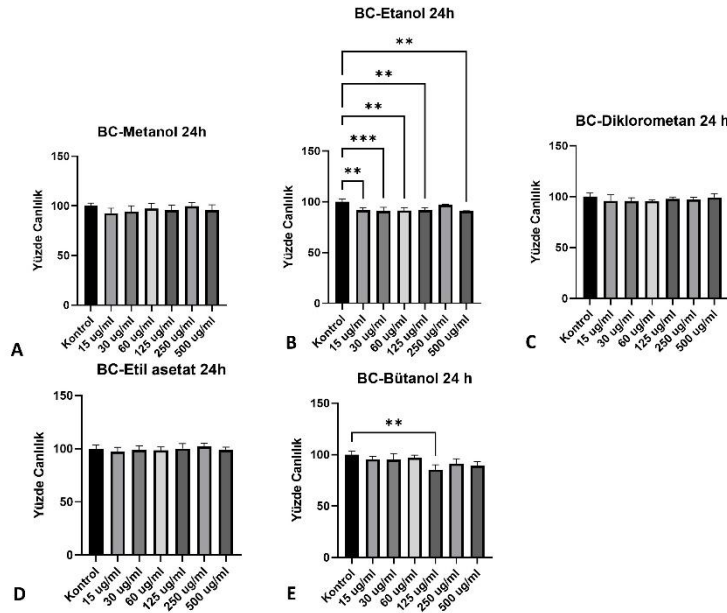
Çizelge 3.3. BC ekstrelerine ait toplam fenolik madde miktarları

Ekstre/Standart	Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/ g kuru ekstre $\pm$ SS*)
BC-Metanol	191,500 $\pm$ 1,900
BC-Etanol	140,833 $\pm$ 1,667
BC-Diklorometan	60,167 $\pm$ 2,528
BC-Etilasetat	90,833 $\pm$ 1,667
BC-n-butanol	34,167 $\pm$ 1,667

*SS= Standart sapma

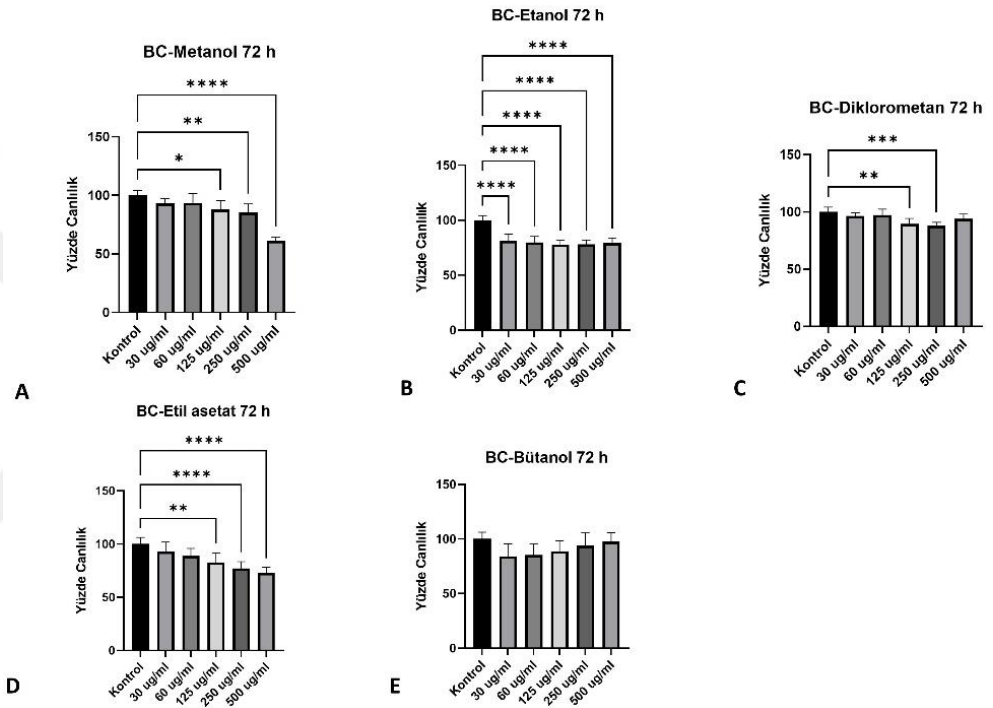
3.2. MTT testinin sonuçları

A549 hücrelerinin BC meyvesinin farklı solvanlarda hazırlanan ekstreleri ile 24 saat inkübasyonu sonucunda, hücre canlılığı MTT testi ile analiz edildiğinde, etanol (Şekil 3.2 B) ekstresinin 250ug/ml dışındaki bütün dozlarında hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı ve bütanol ekstresinin ise hücre canlılığını 125ug/ml konsantrasyonda anlamlı olarak azalttığı (Şekil 3.2 E) belirlenmiştir. Ancak canlılıktaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunsa da % 80'in altına gerilememiştir (Şekil 3.2).



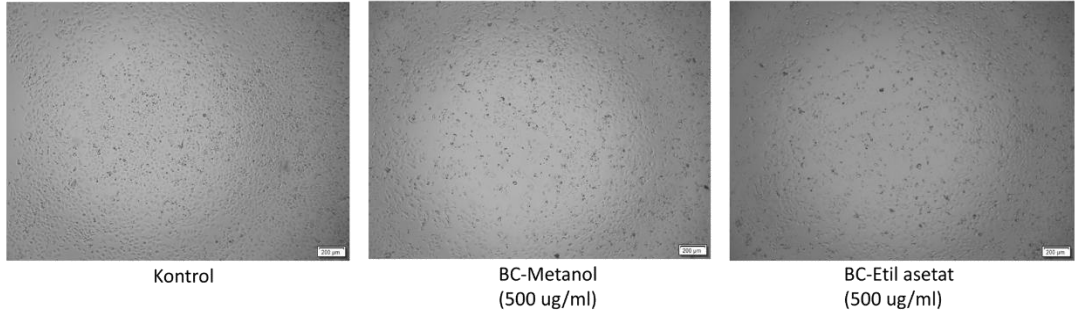
Şekil 3.2. Farklı *Berberis crataegina* ekstrelerinin A549 hücreleriyle 24 saatlik inkübasyon sonra MTT testinin sonuçları (* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$).

Ekstelerin 24 saat inkübasyonu ile canlılık üzerinde güçlü etkiler belirlenmemesi nedeniyle, 72 saatlik inkübasyon yapılmış ve canlılık değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, BC metanol ekstresinin 500µg/ml konsantrasyonda hücre canlılığını en etkin inhibe eden ekstre olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 3.3A). Aynı konsantrasyonda uygulanan diğer ekstrelerin etkileri incelendiğinde metanolü sırasıyla etil asetat (Şekil 3.3D) ve etanol (Şekil 3.3.B) izlemiştir. BC bütanol (Şekil 3.3E) ekstresinin uygulanan konsantrasyonlarında anlamlı etki bulunamamıştır.



Şekil 3.3. Farklı *Berberis crataegina* ekstrelerinin A549 hücreleriyle 72 saatlik inkübasyondan sonra MTT testinin sonuçları (* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; **** $p \leq 0.0001$).

BC Metanol ve BC Etil asetat ekstreleri ile inkübe edilen hücrelerin mikroskopik görüntüsü de hücre ölümünü doğrulamıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. 500µg/mL konsantrasyonda BC-metanol ve BC-etil asetat ekstreleri uygulanan ve uygulanmayan kontrol A549 hücrelerinin mikroskopik görüntüleri (4x büyütme)

4. TARTIŞMA

BC meyvesinin toplam fenolik içeriğinin metanolik ekstrede daha yüksek olduğu ve bunu etanolik ekstrenin izlediği gösterilmiştir. Bu polar çözücüler diğer üç çözücüye kıyasla önemli ölçüde daha yüksek toplam fenolik içeriğe sahipti. Aslında, metanol ekstresi ($191,500 \pm 1,900$ mg GAE/ g kuru ekstre) etilasetat ekstresi ($90,833 \pm 1,667$ mg GAE/ g kuru ekstre) ile karşılaştırıldığında iki kattan daha fazla toplam fenolik içerik ve diklrometan ekstresi ($60,167 \pm 2,528$ mg GAE/ g kuru ekstre) ile karşılaştırıldığında üç kattan daha fazla toplam fenolik içerik göstermiştir. Bununla birlikte, Aliakbarlu ve arkadaşları *B. vulgaris* için ekstraksiyon koşullarını incelemiş ve aseton ekstrenin metanol ekstresinden daha iyi antioksidan aktivite ürettiğini bulmuş ve metanol bu deneyde test edilmemiştir (Aliakbarlu vd., 2018).

Polar çözücüler, daha az polar çözücülere kıyasla daha yüksek toplam fenolik içerik sergilemiştir. Bu durum diğer çalışmalardan elde edilen bulgularla da desteklenmektedir. Örneğin, Ercan yakın zamanda *B. crataegina* meyvesinin metanolik ekstre g ekstre başına yaklaşık 48,85mg galik asit eşdeğeri (GAE) içerdiğini, buna karşılık etanolik ekstrenin 36,39mg GAE/g olduğunu bulmuştur (Ercan, 2025). Ayrıca, Rahim ve arkadaşları *Berberis interrigina* ve *B. vulgaris* meyvelerinin metanolik, su ve etanolik ekstrelerini karşılaştırmıştır. Ve her ikisinde de çözücünün polaritesi ekstrenin toplam fenolik içeriğini artırmıştır (Rahim ve ark., 2025).

Ercan'a benzer şekilde, Charehsaz ve arkadaşları *B. crataegina* meyvelerinin %80 metanol ekstresi için 53,5mg GAE/g TPC bulmuştur (Charehsaz ve ark., 2015). Bu değerler bizim bulduğumuzdan daha düşük görünebilir, ancak bu durum raporumuzda meyvelerin toplam fenolik içeriğini hesaplamak için bitkinin kuru ağırlığının kullanılmış olmasıyla açıklanabilir. Genel olarak, bitkinin sürekli olarak yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu gösterilmiştir.

Bununla birlikte, bazı araştırmacılar polaritedeki artışın antioksidan aktiviteyi yalnızca belirli bir noktaya kadar artırdığını bulmuşlardır. *B. crataegina* meyvesinin etanol, metanol ve su ekstreslerinin antioksidan aktivitesini karşılaştırdıklarında ortaya çıkmıştır. Bulguları, daha polar olan su ekstresinin daha az polar olan 30:70 su:metanol ekstresine kıyasla daha az antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Say ve ark., 2025).

BC diğerk *Berberis* türleriyle karşılaştırıldığında, TPC'nin BC'de benzer veya biraz daha yüksek olduğu görülmektedir. Çakır ve arkadaşları yabani *B. crataegina* meyvelerinin (73,5mg/g) *B. vulgaris*'ten (71,5mg/g) biraz daha yüksek fenolik içeriğe sahip olduğunu bulmuştur (Çakır ve Karabulut, 2020). *Berberis asiatica* veya *B. aristata* ile karşılaştırıldığında, *B. crataegina*'nın, 46,6mg GAE/g kuru ağırlık TPC'ye sahip olan *B. aristata* ve yaklaşık 50,3mg GAE/g kuru ağırlık toplam fenolik içeriğe sahip olan *B. asiatica* dahil olmak üzere *Berberis* cinsindeki çeşitli meyvelerin metanolik ekstrelerine kıyasla daha yüksek TPC değerlerine sahip olduğu bulunmuştur (Dhungel ve ark, 2016).

TPC'ye benzer şekilde, BC'nin DPPH ve ABTS sonuçları da benzer bir eğilim izlemiştir. Metanol gibi daha polar çözücüler, n-butanol gibi daha az polar olanlara kıyasla daha yüksek radikal süpürme kabiliyeti sergilemiştir. Diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Örneğin, BC'nin %80 metanolik ekstresi 405µg/mL DPPH radikal süpürücü IC50 değerine ulaşabilmiştir ki bu değer bütillenmiş hidroksi tolueenin antioksidan kontrolünden yaklaşık 3 kat daha yüksektir. Bu önemlidir çünkü BHT saf bir antioksidan bileşiktir (Charehsaz ve ark., 2015).

Tüm çalışmalar ABTS ve DPPH değerlerini IC50 değerleri olarak rapor etmemektedir, ancak Trolox eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) ve % inhibisyon değerleri uygun bir karşılaştırma yöntemi sağlamaktadır. Eroğlu ve arkadaşları DPPH deneyinde BC'nin etanolik ekstreninin %48 ila %76 arasında değişen bir % inhibisyon değerine sahip olduğunu, sulu ekstrelerin ise %13,6 ila yaklaşık %19 arasında değişen sonuçlar verdiğini bulmuşlardır. ABTS testinde ise etanolik ekstre %76'ya varan bir değere ulaşırken, sulu ekstre neredeyse %93 inhibisyona ulaşmıştır (Eroğlu vd., 2020).

BC'nin DPPH ve ABTS sonuçları diğerk *Berberis* türleri ile karşılaştırıldığında, BC büyük antioksidan aktivite sergileme eğilimindedir. Çakır ve Karabulut, *B. vulgaris* (IC50 = 15.65mg/ml) ile karşılaştırıldığında düşük antioksidan aktiviteye (IC50 = 6.30mg/ml) sahip olduğunu bulmuşlardır. Bulgularımıza göre, etanolik ekstre için IC50 çok daha düşüktür (IC50 = 0,271µg/ml). Bu durum IC50 'yi ölçmek için kuru ağırlığın kullanılmasıyla açıklanabilir.(Çakır & Karabulut, 2020)

Başka bir çalışmada *Berberis* cinsindeki diğerk bitkilerin DPPH değerleri incelenmiş, ancak BC dahil edilmemiştir. Yapılan çalışmaya göre, *Berberis* bitkilerinin metanolik

ekstrelerinin *B. asiatica* için 90.7µg/ml ile *Berberis angulosa* için 29.15 arasında değişen IC50 değerlerine sahip olduğu bulunmuştur (Dhungel vd., 2016).

Çeşitli *B. crataegina* ekstreleri güçlü antioksidan aktivitesi, fitokimyasal bileşimlerine yakından bağlıdır. BC, flavonoidler gibi fenolik bileşiklerin bolluğuna sahiptir. Bazı çalışmalar BC'nin kimyasal bileşimini incelemiş ve başta klorojenik asit olmak üzere birçok fenolik asidin yanı sıra siringik asit ve gallik asit gibi diğer fenolik bileşiklere de sahip olduğunu ortaya koymuştur (Eroğlu vd., 2020). Fenolik bileşikler oldukça faydalı biyoaktif bileşiklerdir. Aslında, fenolik bileşikler yüksek oranda antioksidan aktivite ile ilişkilidir. Olajire ve Adeyemi çeşitli sebzeleri antioksidan aktivite açısından test etmiş ve sebzelerdeki antioksidan aktiviteye en büyük katkıyı sağlayanların fenolik bileşikler olduğu sonucuna varmıştır (Olajire ve Adeyemi, 2011).

MTT test sonuçlarına ilişkin olarak, 24 saatlik inkübasyon süresinin ardından, butanol ve etanolden elde edilen bazı sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, ancak diğer ekstrelerin canlılık üzerindeki etkilerine ilişkin sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca, canlılık üzerinde inhibitör etki gösteren ekstrelerin A549 hücre canlılığında potent bir etki sergilemediği gözlenmiştir.

Bununla birlikte, 72 saatlik inkübasyon sonunda ise, butanol hariç tüm BC ekstreleri istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermiştir. Ekstresler, A549 kanser hücrelerinin hücre üzerinde anlamlı inhibisyon sergilemiştir. 500µg/ml'lik metanol ekstresi en yüksek sitotoksik etkiyi sergilemiştir (yaklaşık %60 hücre canlılığı). Ancak daha düşük konsantrasyonlarda ise güçlü bir hücre öldürme etkisi bulunmamıştır. Bir sonraki en yüksek sitotoksiste, 500µg/ml etil asetat ekstresinde (yaklaşık %70) gözlemlenmiştir. Bu ekstreyi etanol ekstresi takip etmiştir. BC'nin antikanser etkilerinin incelendiği araştırmalardan birinde. 2015 yılında Charehsaz ve arkadaşları, meyvenin metanol ekstresinin rahim ağzı kanseri hücre hattının (HeLa) canlılığı üzerindeki etkilerini incelemiştir ve meyvenin 4,98mg/ml IC50'ye sahip olduğunu hesaplanmıştır (Charehsaz ve ark., 2015). 2025 yılında yapılmış olan yeni rastladığımız bir çalışmada Erdoğan ve arkadaşları da metanol meyve ekstresinin etkilerini A549 hücre hattında incelemişler ve ekstrenin IC50 değerinin 215,99µg/mL olduğu tespit edilmiştir (Erdoğan ve ark., 2025).

BC'nin antikanser etkilerini inceleyen çalışmaların nispeten sınırlı olmaları nedeniyle, sonuçlar diğer *Berberis* türlerinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen bulgularla

karşılaştırılabilir. Bu çalışmalarda bulunan BC ekstralarının IC₅₀ değerleri, çalışmamızda elde edilen bulgularla karşılaştırıldığında nispeten düşüktür. Örneğin, *B. aristata*'nın hidroetanolik ekstresi, A549 akciğer adenokarsinoma hücreleri üzerinde test edildiğinde 47,8µg/mL IC₅₀ değerine sahip olduğu bildirilmiştir (Pundge & Dhabe, 2025). HepG2 karaciğer hücrelerine karşı, *B. lycium* kök ekstresi yaklaşık 47µg/ml IC₅₀ değerine sahip olarak bulunmuştur (Mustafa ve ark., 2020).

Genel olarak, meyve ekstraları, gövde, kabuk ve kökler dahil bitkinin diğer kısımlarından elde edilen ekstralarla karşılaştırıldığında çok az sitotoksik etki göstermiştir. Örneğin, *Berberis integerrima* meyvesinin antosiyanin fraksiyonu sadece çok yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik aktivite gösterirken (Farmani & Sabahi, 2018), bitkinin kabuk ekstresi A375 kanser hücrelerine (51,6µg/mL) ve WS1 kanser hücrelerine (64,24µg/mL) karşı çok daha güçlü bir sitotoksik etki göstermiştir (Tuzimski ve ark., 2024).

Genel olarak, *Berberis* türlerin gövdesinden, kökünden ve kabuğundan elde edilen ekstralar, meyveden elde edilen ekstralara kıyasla daha iyi sitotoksikite göstermiştir. Bu durum, gövde, kök ve kabuktan elde edilen ekstralarda berberin, berbamin ve palmitin gibi alkaloidlerin varlığıyla açıklanabilir. Bu alkaloidlerin, apoptoz indüksiyonu ve metastazın inhibisyonu dahil olmak üzere önemli antikanser etkileri olduğu gösterilmiştir (S. Kim ve ark., 2008; S. Wang ve ark., 2009).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, farklı çözücülerle hazırlanan *Berberis crataegina* meyve ekstratlarının toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteleri kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. Genel olarak, ekstratlar *Berberis* cinsindeki diğer bitkilerle karşılaştırıldığında bile yüksek antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerik sergilemiştir. Bulgularımız, fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitenin birincil belirleyicileri olduğunu ve çözücü seçiminin ekstraksiyon verimliliğinde kritik bir rol oynadığını desteklemektedir. Metanol ve etanol ekstratlarının yüksek fenolik içeriği ve güçlü radikal süpürme kapasitesi göz önüne alındığında, bu ekstratlar fonksiyonel gıda veya nutrasötik uygulamalar için potansiyel adaylar olarak kabul edilebilir. Ancak, bu sonuçların geçerliliğini güçlendirmek için daha ileri analizler (örneğin, HPLC tabanlı fenolik profil karakterizasyonu ve in vivo biyoaktivite testleri) önerilmektedir. Ayrıca, toksikolojik değerlendirmeler ve endüstriyel uygulamalardan önce ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu, ekstratların etkinliğini ve güvenilirliğini artırabilir. *Berberis crataegina*, A549 kanser hücrelerine karşı da önemli sitotoksik aktivite göstermiştir, ancak bu etki yalnızca nispeten yüksek konsantrasyonlarda görülmüştür. Bitkinin gövdesi veya kökleri gibi diğer kısımları, biyoaktif alkaloidlerin daha yüksek konsantrasyonuna sahip olmaları nedeniyle daha yüksek sitotoksisiteye sahip olabilirler, bu da daha fazla araştırma yapılmasını gerektirmektedir. Bu çalışma sadece *Berberis crataegina*'nın biyoaktif potansiyelini ortaya koymakla kalmayıp aynı zamanda bitki kaynaklarından yüksek verimli ekstraksiyon stratejilerinin geliştirilmesine de katkıda bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Aliakbarlu, J., Ghiasi, S., & Bazargani-Gilani, B. (2018). Effect of extraction conditions on antioxidant activity of barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruit extracts. *Veterinary Research Forum*, 9(4), 361–365. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.33090>
- Allen, H. C., & Sharma, P. (2025). Histology, Plasma Cells. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556082/>
- Almatroodi, S. A., Alsahli, M. A., & Rahmani, A. H. (2022). Berberine: An Important Emphasis on Its Anticancer Effects through Modulation of Various Cell Signaling Pathways. *Molecules*, 27(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/molecules27185889>
- Alzagameem, A., Khaldi-Hansen, B. E., Büchner, D., Larkins, M., Kamm, B., Witzleben, S., & Schulze, M. (2018). Lignocellulosic Biomass as Source for Lignin-Based Environmentally Benign Antioxidants. *Molecules*, 23(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/molecules23102664>
- Amjad, M. T., Chidharla, A., & Kasi, A. (2025). Cancer Chemotherapy. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564367/>
- Aranda-Rivera, A. K., Cruz-Gregorio, A., Arancibia-Hernández, Y. L., Hernández-Cruz, E. Y., & Pedraza-Chaverri, J. (2022). RONS and Oxidative Stress: An Overview of Basic Concepts. *Oxygen*, 2(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/oxygen2040030>
- Ayna, Ö. F., & Arslanoğlu, Ş. F. (2019). Anadolu Coğrafyasında Yayılış Gösteren Berberis Türleri ve Geleneksel Kullanımı. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.549108>
- Balakrishna, A., & Kumar, M. H. (2015). Evaluation of Synergetic Anticancer Activity of Berberine and Curcumin on Different Models of A549, Hep-G2, MCF-7, Jurkat, and K562 Cell Lines. *BioMed Research International*, 2015, 354614. <https://doi.org/10.1155/2015/354614>
- Belyaeva, E., Loginova, N., Schroeder, B. A., Goldlust, I. S., Acharya, A., Kumar, S., Timashev, P., & Ulasov, I. (2023). The spectrum of cell death in sarcoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 162, 114683. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114683>
- Bishop, J. A. (2014). Non-squamous variants of human papillomavirus-related head and neck carcinoma. *Diagnostic Histopathology*, 20(8), 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2014.06.003>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Çakır, Ö., & Karabulut, A. (2020). Comparison of two wild-grown Berberis varieties based on biochemical characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11), e14844. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14844>
- Caldecott, K. W. (2023). Causes and consequences of DNA single-strand breaks. *Trends in Biochemical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2023.11.001>
- Cesur-Ergün, B., & Demir-Dora, D. (2023). Gene therapy in cancer. *The Journal of Gene Medicine*, 25(11), e3550. <https://doi.org/10.1002/jgm.3550>
- Chandraprasad, M. S., Dey, A., & Swamy, M. K. (2022). 1—Introduction to cancer and treatment approaches. In M. K. Swamy, T. Pullaiah, & Z.-S. Chen (Eds.), *Paclitaxel* (pp. 1–27). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90951-8.00010-2>

- Chaput, G., & Sumar, N. (2022). Endocrine therapies for breast and prostate cancers. *Canadian Family Physician*, 68(4), 271–276. <https://doi.org/10.46747/cfp.6804271>
- Charehsaz, M., Sipahi, H., Celep, E., Üstündağ, A., Cemiloğlu Ülker, Ö., Duydu, Y., Aydın, A., & Yesilada, E. (2015). The fruit extract of *Berberis crataegina* DC: Exerts potent antioxidant activity and protects DNA integrity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s40199-015-0108-7>
- Chobdar Rahim S, Günay Z, Kalkan Yıldırım H. Evaluation of bioactive components and antioxidant activities of *Rose canina* L., *Viburnum opulus* L., *Berberis vulgaris* L. and *Berberis integerrima* L. subjected to different extraction methods. *Croatian Journal of Food Science and Technology* (2025) 17 (1) 20-36
- Ciorîță, A., Erhan, S.-E., Soran, M. L., Lung, I., Mot, A. C., Macavei, S. G., & Pârvu, M. (2024). Pharmacological Potential of Three Berberine-Containing Plant Extracts Obtained from *Berberis vulgaris* L., *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt., and *Phellodendron amurense* Rupr. *Biomedicines*, 12(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12061339>
- Dakal, T. C., Dhabhai, B., Pant, A., Moar, K., Chaudhary, K., Yadav, V., Ranga, V., Sharma, N. K., Kumar, A., Maurya, P. K., Maciaczyk, J., Schmidt-Wolf, I. G. H., & Sharma, A. (2024). Oncogenes and tumor suppressor genes: Functions and roles in cancers. *MedComm*, 5(6), e582. <https://doi.org/10.1002/mco2.582>
- de Jager, T. L., Cockrell, A. E., & Du Plessis, S. S. (2017). Ultraviolet Light Induced Generation of Reactive Oxygen Species. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 996, 15–23. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5_2
- Debela, D. T., Muzazu, S. G., Heraro, K. D., Ndalama, M. T., Mesele, B. W., Haile, D. C., Kitui, S. K., & Manyazewal, T. (2021). New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE Open Medicine*, 9, 20503121211034366. <https://doi.org/10.1177/20503121211034366>
- Del Río, L. A., & López-Huertas, E. (2016). ROS Generation in Peroxisomes and its Role in Cell Signaling. *Plant & Cell Physiology*, 57(7), 1364–1376. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw076>
- Dhungel, S., Joshi, G., & Pant, D. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of fruit extracts of *Berberis* species from Nepal. *Botanica Orientalis: Journal of Plant Science*, 10, 6. <https://doi.org/10.3126/botor.v10i0.21017>
- Dinesh, K., Dinesha, R., & Srinivas, L. (2014). Antioxidant Activity of Indian Medicinal Plants. *The Indian Journal of Nutrition and Dietetics*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Antioxidant-Activity-of-Indian-Medicinal-Plants-Dinesh-Dinesha/a0c07809f97a0050a601042c4dbb6cd60dbbbee7>
- Edwards, D. (2019). The Role of Physical Activity in Breast Cancer Prevention. *Journal of Evolution and Health: A Joint Publication of the Ancestral Health Society and the Society for Evolutionary Medicine and Health*, 4(1). <https://doi.org/10.15310/J34146744>
- El khalki, L., Tilaoui, M., Jaafari, A., Ait Mouse, H., & Ziad, A. (2018). Studies on the Dual Cytotoxicity and Antioxidant Properties of *Berberis vulgaris* Extracts and Its Main Constituent Berberine. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2018, 3018498. <https://doi.org/10.1155/2018/3018498>
- El-Zahar, K. M., Al-Jamaan, M. E., Al-Mutairi, F. R., Al-Hudiab, A. M., Al-Einzi, M. S., & Mohamed, A. A.-Z. (2022). Antioxidant, Antibacterial, and Antifungal Activities of the Ethanolic Extract Obtained from *Berberis vulgaris* Roots and Leaves. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(18), 6114. <https://doi.org/10.3390/molecules27186114>

- Ercan, L. (2024). Bioactive components, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of *Berberis crataegina* fruit. *Pharmacological Research - Natural Products*, 2, 100020. <https://doi.org/10.1016/j.prenap.2024.100020>
- Ercan, L. (2025). Examination of the Inhibition Effect of Extracts of *Berberis crataegina* Fruit on Elastase, Xanthine Oxidase, Tyrosinase, and Calcium Oxalate Crystal. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25(1), Article 1. <https://doi.org/10.35414/akufemubid.1504102>
- Eroğlu, A. Y., Çakır, Ö., Sağdıç, M., & Dertli, E. (2020). Bioactive Characteristics of Wild *Berberis vulgaris* and *Berberis crataegina* Fruits. *Journal of Chemistry*, 2020, e8908301. <https://doi.org/10.1155/2020/8908301>
- Ezraty, B., Gennaris, A., Barras, F., & Collet, J.-F. (2017). Oxidative stress, protein damage and repair in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 15(7), Article 7. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.26>
- Farmani, F., & Sabahi, Z. (2018). Protective effects of anthocyanin fraction of berberis integerrima bunge fruits against H₂O₂ induced cytotoxicity in mcf7 and HepG2 cells. *Journal of Young Pharmacists*, 10(3), 288.
- Fernández-Poyatos, M. del P., Ruiz-Medina, A., Zengin, G., & Llorent-Martínez, E. J. (2019). Phenolic Characterization, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Properties of *Berberis thunbergii* DC. Leaves: A Valuable Source of Phenolic Acids. *Molecules*, 24(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/molecules24224171>
- Gaschler, M. M., & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(3), 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in Human Health and Disease. *Annual Review of Nutrition*, 16(1), 33–50. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.16.070196.000341>
- Hu, M., Wang, B., Li, J., & Wu, C. (2024). Editorial: The association between viral infection and human cancers. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1371581. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1371581>
- Ibrahim, A., Mohamed, H. K., Maher, A., & Zhang, B. (2022). A Survey on Human Cancer Categorization Based on Deep Learning. *Frontiers in Artificial Intelligence*, 5, 884749. <https://doi.org/10.3389/frai.2022.884749>
- Idris Ali, A., Paul, V., Chattree, A., Prasad, R., Paul, A., & Amiteye, D. (2021). EVALUATION OF THE USE OF DIFFERENT SOLVENTS FOR PHYTOCHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTIOXIDANTS ACTIVITY OF THE LEAVES OF MURRAYA KOENIGII (LINN.) SPRENG. (RUTACEAE). *PLANT ARCHIVES*, 21(no 1). <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.no1.137>
- Ilyasov, I. R., Beloborodov, V. L., Selivanova, I. A., & Terekhov, R. P. (2020). ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijms21031131>
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological

- Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642. <https://doi.org/10.3390/ijms22094642>
- Kehrer, J. P., Robertson, J. D., & Smith, C. V. (2010). 1.14—Free Radicals and Reactive Oxygen Species. In C. A. McQueen (Ed.), *Comprehensive Toxicology (Second Edition)* (pp. 277–307). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-046884-6.00114-7>
- Khan, I., Najeebullah, S., Ali, M., & Shinwari, Z. K. (2016). Phytopharmacological and ethnomedicinal uses of the Genus *Berberis* (Berberidaceae): A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(9), Article 9. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i9.33>
- Kim, S., Choi, J. H., Kim, J. B., Nam, S. J., Yang, J.-H., Kim, J.-H., & Lee, J. E. (2008). Berberine Suppresses TNF- α -induced MMP-9 and Cell Invasion through Inhibition of AP-1 Activity in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells. *Molecules*, 13(12), 2975–2985. <https://doi.org/10.3390/molecules13122975>
- Kim, Y. J., Han, J. M., & Jung, H. J. (2021). Antiangiogenic and antitumor potential of berbamine, a natural CaMKII γ inhibitor, against glioblastoma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 566, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.06.025>
- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., Diakosavvas, M., Angelou, K., Tsatsaris, G., Pagkalos, A., Ntounis, T., & Fasoulakis, Z. (2020). Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. *Anticancer Research*, 40(11), 6009–6015. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14622>
- Kremkow, B. G., & Lee, K. H. (2015). Sequencing technologies for animal cell culture research. *Biotechnology Letters*, 37(1), 55–65. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1660-9>
- Kumar, S., Sharma, S., & Vasudeva, N. (2017). Review on antioxidants and evaluation procedures. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. <https://doi.org/10.1007/s11655-017-2414-z>
- Laconi, E., Marongiu, F., & DeGregori, J. (2020). Cancer as a disease of old age: Changing mutational and microenvironmental landscapes. *British Journal of Cancer*, 122(7), 943–952. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0721-1>
- Li, J., Zhu, Z., Ni, J., Ye, L., Huang, X., Jing, D., Lu, Y., & Yue, L. (2025). Berberine triggers apoptosis through the PI3K/Akt pathways and Nrf2 by inducing ROS in papillary thyroid cancer. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 771, 110481. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2025.110481>
- Li, R., Jia, Z., & Trush, M. A. (2016). Defining ROS in Biology and Medicine. *Reactive Oxygen Species (Apex, N.C.)*, 1(1), 9–21. <https://doi.org/10.20455/ros.2016.803>
- Li, T., Kang, G., Wang, T., & Huang, H. (2018). Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer. *Oncology Letters*, 16(1), 687–702. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8733>
- Lipinski, B. (2011). Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, 809696. <https://doi.org/10.1155/2011/809696>
- Liu, L., Xu, Z., Yu, B., Tao, L., & Cao, Y. (2021). Berbamine Inhibits Cell Proliferation and Migration and Induces Cell Death of Lung Cancer Cells via Regulating c-Maf, PI3K/Akt, and MDM2-P53 Pathways. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1), 5517143. <https://doi.org/10.1155/2021/5517143>
- Martin, R. E., Postiglione, A. E., & Muday, G. K. (2022). Reactive oxygen species function as signaling molecules in controlling plant development and hormonal responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 69, 102293. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2022.102293>

- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595–603. [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(99)00075-2)
- Matutes, E., Pickl, W. F., Van't Veer, M., Morilla, R., Swansbury, J., Strobl, H., Attarbaschi, A., Hopfinger, G., Ashley, S., Bene, M. C., Porwit, A., Orfao, A., Lemez, P., Schabath, R., & Ludwig, W.-D. (2011). Mixed-phenotype acute leukemia: Clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification. *Blood*, 117(11), 3163–3171. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-10-314682>
- Mohd Abas, M. D., Mohd Asri, M. F., Yusafawi, N. A. S., Rosman, N. A. Z., Baharudin, N. A. Z., Taher, M., Susanti, D., & Khotib, J. (2024). Advancements of gene therapy in cancer treatment: A comprehensive review. *Pathology - Research and Practice*, 261, 155509. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2024.155509>
- Mokhber-Dezfuli, N., Saeidnia, S., Gohari, A. R., & Kurepaz-Mahmoodabadi, M. (2014). Phytochemistry and Pharmacology of Berberis Species. *Pharmacognosy Reviews*, 8(15), 8–15. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125517>
- Mughal, T. A., Ali, S., Hassan, A., Kazmi, S. a. R., Saleem, M. Z., Shakir, H. A., Nazer, S., Farooq, M. A., Awan, M. Z., Khan, M. A., Andleeb, S., Mumtaz, S., Tahir, H. M., & Gulzar, N. (2022). Phytochemical screening, antimicrobial activity, *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Berberis lycium* Royle root bark extract. *Brazilian Journal of Biology*, 84, e249742. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.249742>
- Nebhan, C. A., & Johnson, D. B. (2020). Predictive biomarkers of response to immune checkpoint inhibitors in melanoma. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 20(2), 137–145. <https://doi.org/10.1080/14737140.2020.1724539>
- Nigussie, G., Siyadatpanah, A., Norouzi, R., Debebe, E., Alemayehu, M., & Dekebo, A. (2023). Antioxidant Potential of Ethiopian Medicinal Plants and Their Phytochemicals: A Review of Pharmacological Evaluation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2023, 1901529. <https://doi.org/10.1155/2023/1901529>
- Och, A., Olech, M., Bąk, K., Kanak, S., Cwener, A., Cieśła, M., & Nowak, R. (2023). Evaluation of the Antioxidant and Anti-Lipoxygenase Activity of *Berberis vulgaris* L. Leaves, Fruits, and Stem and Their LC MS/MS Polyphenolic Profile. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1467. <https://doi.org/10.3390/antiox12071467>
- Olajire, A. A., & Azeez, L. (2011). Total antioxidant activity, phenolic, flavonoid and ascorbic acid contents of Nigerian vegetables. *African Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 22–29.
- Peña-Bautista, C., Baquero, M., Vento, M., & Cháfer-Pericás, C. (2019). Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. *Clinica Chimica Acta*, 491, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.01.021>
- Piluzza, G., & Bullitta, S. (2011). Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. *Pharmaceutical Biology*, 49(3), 240–247. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.501083>
- Poljšak, B., & Fink, R. (2014). The protective role of antioxidants in the defence against ROS/RNS-mediated environmental pollution. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 671539. <https://doi.org/10.1155/2014/671539>
- Prashar, A., Siddiqui, F., & Singh, A. K. (2012). Synthetic and green vegetable isothiocyanates target red blood leukemia cancers. *Fitoterapia*, 83(2), 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.11.012>

- Pundge, R. S., & Dhabe, A. S. (2025). Efficacy of Berberis aristata DC. hydroethanolic extract on lung cancer cell lines A549. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 14(3), 303–305. <https://doi.org/10.22271/phyto.2025.v14.i3d.15380>
- Rai, Y., Pathak, R., Kumari, N., Sah, D. K., Pandey, S., Kalra, N., Soni, R., Dwarakanath, B. S., & Bhatt, A. N. (2018). Mitochondrial biogenesis and metabolic hyperactivation limits the application of MTT assay in the estimation of radiation induced growth inhibition. *Scientific Reports*, 8(1), 1531. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19930-w>
- Russo, J., & Russo, I. H. (2006). THE ROLE OF ESTROGEN IN THE INITIATION OF BREST CANCER. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 102(1–5), 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.09.004>
- Sabir, S., Tahir, K., Rashid, N., Naz, S., Masood, B., & Shah, M. A. (2013). Phytochemical and antioxidant studies of Berberis lycium. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26(6), 1165–1172.
- Sahu, M., & Suryawanshi, H. (2021). Immunotherapy: The future of cancer treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology : JOMFP*, 25(2), 371. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.325257>
- Sapkota, S., & Shaikh, H. (2025). Non-Hodgkin Lymphoma. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559328/>
- Say, R., Kaplan, M., & Karaman, K. (2025). Farklı Ekstraksiyon Şartlarının Karamuk Meyvesinin (Berberis crataegina DC.) Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 9(2), 500–521. <https://doi.org/10.5281/zenodo.15051679>
- Shanbhag, S., & Ambinder, R. F. (2018). Hodgkin lymphoma: A review and update on recent progress. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(2), 116–132. <https://doi.org/10.3322/caac.21438>
- Shuel, S. L. (2022). Targeted cancer therapies. *Canadian Family Physician*, 68(7), 515–518. <https://doi.org/10.46747/cfp.6807515>
- Silberstein, J., Tuchman, S., & Grant, S. J. (2022). What Is Multiple Myeloma? *JAMA*, 327(5), 497. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.25306>
- Silveira Rabelo, A. C., & Caldeira Costa, D. (2018). A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. *Chemico-Biological Interactions*, 296, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.09.002>
- Singh, J., & Goswami, A. (2012). APPLICATIONS OF CELL LINES AS BIOREACTORS AND IN VITRO MODELS. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2, 178–198.
- Sloan, F. A., & Gelband, H. (2007). Cancer Causes and Risk Factors and the Elements of Cancer Control. In *Cancer Control Opportunities in Low- and Middle-Income Countries*. National Academies Press (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54025/>
- Srinivas, U. S., Tan, B. W. Q., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*, 25, 101084. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>
- Stewart, B. W. (2019). Mechanisms of carcinogenesis: From initiation and promotion to the hallmarks. In R. A. Baan, B. W. Stewart, & K. Straif (Eds.), *Tumour Site Concordance and Mechanisms of Carcinogenesis*. International Agency for Research on Cancer. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570326/>

- Sundararajan, R., Salameh, T., Camarillo, I. G., Prabu, R. R., Natarajan, A., & Sankaranarayanan, K. (2014). 10 - Irreversible electroporation: A drug-free cancer treatment. In R. Sundararajan (Ed.), *Electroporation-Based Therapies for Cancer* (pp. 219–243). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781908818294.219>
- Tan, J. B. L., & Lim, Y. Y. (2015). Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. *Food Chemistry*, 172, 814–822. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.141>
- Torpy, J. M., Lynm, C., & Glass, R. M. (2010). Cancer: The Basics. *JAMA*, 303(11), 1108. <https://doi.org/10.1001/jama.303.11.1108>
- Tuzimski, T., Petruczynik, A., Kaproń, B., Plech, T., Makuch-Kocka, A., Janiszewska, D., Sugajski, M., Buszewski, B., & Szultka-Młyńska, M. (2024). In Vitro and In Silico of Cholinesterases Inhibition and In Vitro and In Vivo Anti-Melanoma Activity Investigations of Extracts Obtained from Selected Berberis Species. *Molecules*, 29(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/molecules29051048>
- Ulrich, A. B., & Pour, P. M. (2001). Cell Lines. In S. Maloy & K. Hughes (Eds.), *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)* (pp. 481–482). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00212-6>
- Wang, S., Liu, Q., Zhang, Y., Liu, K., Yu, P., Liu, K., Luan, J., Duan, H., Lu, Z., Wang, F., Wu, E., Yagasaki, K., & Zhang, G. (2009). Suppression of growth, migration and invasion of highly-metastatic human breast cancer cells by berbamine and its molecular mechanisms of action. *Molecular Cancer*, 8, 81. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-8-81>
- Wang, X., Oldani, M. J., Zhao, X., Huang, X., & Qian, D. (2014). A Review of Cancer Risk Prediction Models with Genetic Variants. *Cancer Informatics*, 13(Suppl 2), 19–28. <https://doi.org/10.4137/CIN.S13788>
- Webb, C. P., & Vande Woude, G. F. (2000). Genes that Regulate Metastasis and Angiogenesis. *Journal of Neuro-Oncology*, 50(1), 71–87. <https://doi.org/10.1023/A:1006466605356>
- Weber, A. L., Rahemtullah, A., & Ferry, J. A. (2003). Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma of the head and neck: Clinical, pathologic, and imaging evaluation. *Neuroimaging Clinics of North America*, 13(3), 371–392. [https://doi.org/10.1016/S1052-5149\(03\)00039-X](https://doi.org/10.1016/S1052-5149(03)00039-X)
- Wei, Y., Xu, L., Liang, Y., Xu, X., & Zhao, X. (2009). Berbamine exhibits potent antitumor effects on imatinib-resistant CML cells in vitro and in vivo. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(4), 451–457. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.19>
- Withrow, S. J., & Vail, D. M. (Eds.). (2007). Chapter 31—Hematopoietic Tumors. In *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology (Fourth Edition)* (pp. 699–784). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-072160558-6.50034-4>
- Wu, Z., Xia, F., & Lin, R. (2024). Global burden of cancer and associated risk factors in 204 countries and territories, 1980–2021: A systematic analysis for the GBD 2021. *Journal of Hematology & Oncology*, 17(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01640-8>
- Xian, J., Gao, L., Ren, Z., Jiang, Y., Pan, J., Ying, Z., Guo, Z., Du, Q., Zhao, X., Jin, H., Yi, H., Guan, J., & Hu, S. (2024). Inhibition of Autophagy by Berbamine Hydrochloride Mitigates Tumor Immune Escape by Elevating MHC-I in Melanoma Cells. *Cells*, 13(18), 1537. <https://doi.org/10.3390/cells13181537>
- Xu, J., Long, Y., Ni, L., Yuan, X., Yu, N., Wu, R., Tao, J., & Zhang, Y. (2019). Anticancer effect of berberine based on experimental animal models of various cancers: A systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*, 19(1), 589. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5791-1>

- Yazdian-Robati, R., Arab, A., Ramezani, M., Abnous, K., & Taghdisi, S. M. (2017). Application of aptamers in treatment and diagnosis of leukemia. *International Journal of Pharmaceutics*, 529(1), 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.058>
- Yuan, J., Yang, L., Li, Z., Zhang, H., Wang, Q., Huang, J., Wang, B., Mohan, C. D., Sethi, G., & Wang, G. (2023). The role of the tumor microenvironment in endocrine therapy resistance in hormone receptor-positive breast cancer. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1261283. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1261283>
- Zhang, X., Xiong, B., Cheng, Y., Huang, J., Xue, J., Li, X., Lu, W., Zhu, J., Wang, L., Yang, W., & Cheng, Z. (2025). Berberine inhibits metastasis of ovarian cancer by blocking lipid metabolism, alleviating aging of adipose tissue and increasing tumor infiltrating immune cells. *Translational Oncology*, 56, 102380. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2025.102380>
- Zhao, Z. (2023). Hydroxyl radical generations form the physiologically relevant Fenton-like reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 208, 510–515. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.09.013>

