

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

***Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey. (Globulariaceae)'nın
ANTİKANSER AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Abdurrahman CAN
Danışman: Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE
İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üye. Mehmet Salih NAS

VAN – 2023

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

***Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey. (Globulariaceae)'nın
ANTİKANSER AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Abdurrahman CAN

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
FYL-2022-9784 No'lu proje ile desteklenmiştir.

VAN – 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE danışmanlığında, Abdurrahman CAN tarafından sunulan “*Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey (*Globulariaceae*)’nın Antikanser Aktivitesinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili hükümleri gereğince 27/03/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Deniz İRTEM KARTAL

İmza:

Üye: Doç. Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Nuri ATALAR

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / / tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Abdurrahman CAN



ÖZET

***Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey (*Globulariaceae*)'nın ANTİKANSER AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

CAN, Abdurrahman

Yüksek Lisans Tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE

Nisan 2022, 57 sayfa

Mide kanseri, Van ili ve çevresinde en çok karşılaşılan kanser tiplerinden biridir. Bölgede mide kanserine karşı pek çok bitki türü kullanılmaktadır. Bu bitkiler arasında en sık kullanılan bitki türü *Globulariaceae* familyasına ait *Globularia trichosantha* Fisch. & C. A. Mey.'dir. *Globularia* L. cinsine ait 11 taksondan 5'i ülkemiz için endemiktir. *Globularia trichosantha* ilişkili herhangi bir kanser ve tıbbi çalışmalarına rastlanmamıştır. Çalışmanın esas amacı, halkın doğadan elde ettiği ve kullanımı ile fayda sağladığı bitki türünün tespit edilerek bunu laboratuvar ortamında potansiyel tıbbi hammadde elde edilmesidir.

Çalışmada *G. trichosantha* türüne ait herbaryum materyalleri arazide toplanmış ve bunlara ait video ve fotoğraf kayıtları alınmıştır. Bitki örneklerinin teşhisleri yapmak için Herbaryum materyali haline getirilmiş ve sonra VANF herbaryumunda saklanmıştır. Mide kanserine karşı halkın tükettiği bitkisel drogların; kullanım süreleri, kullanım şekilleri ve dozu belirlenmiştir. Yetiştirme habitatlarında toplanan *G. trichosantha*'nın kök ekstraktının antikanser aktivitesi araştırılmıştır. Araştırma in vitro ortamda, HGC-27, A549/BEAS-2B, DU-145/PNT1-A, HUVEC, CaCO-2, MCF-7, T98-G hücre hatlarında canlılık testi yapılmıştır.

İlk etapta A549/BEAS-2B, DU-145/PNT1-A hatlarındaki canlılık testi sonuçları birbirine yakın çıktığından diğer hücre hatlarında zaman ve doza bağımlı değişikliğe gidilerek deneyler tekrarlanmıştır. 15.63 µg/ml, 31.25 µg/ml, 62.50 µg/ml, 125.00 µg/ml, 250.00 µg/ml ve 500.00 µg/ml dozlarında 24 ve 48 saatlik canlılık testleri sonucunda başta HGC-27 olmak üzere belirgin düzeyde hücre ölümlerinin gerçekleştiği görülmüştür. Daha sonra bitkinin içerik analizi LC/MS kullanılarak yapılmış ve analizde yüksek miktarda trans-sinamik asit, protokateşik asit, kafeik asit, kumarik asit, vanilik asit ve sirinjik asit varlığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında öncelikle Moleküler Biyoloji ve Genetik olmak üzere Eczacılık ve Tıp gibi pek çok farklı bilim dalı için de temel teşkil edecektir.

Sonuçta, *G. trichosantha*'nın ihtiva ettiği etken maddeler belirlenmiştir. Başta eczacılık sektörü olmak üzere mide kanserine karşı ilaç potansiyeli olan etken maddelerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Geleneksel tıp, *Globularia trichosantha*, Kanser



ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTICANCER ACTIVITY OF *Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey (*Globulariaceae*)

CAN, Abdurrahman

M.Sc. Thesis, Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE

April 2023, 57 pages

Stomach cancer is one of the most common cancer types in and around Van. Many plant species are used against stomach cancer in the region. Among these plants, the most commonly used plant species is *Globularia trichosantha* Fisch & C. A. Mey., which belongs to the *Globulariaceae* family. 5 of 11 taxa belonging to the genus *Globularia* L. are endemic to our country. No cancer and medical studies related to *Globularia trichosantha* were found. The main purpose of the study is to determine the plant species that the public obtained from nature and benefit from its use, and to obtain potential medicinal raw materials in the laboratory environment.

In the study, herbarium materials belonging to the *G. trichosantha* species were collected in the field and video and photographic records of them were taken. Plant specimens were made into herbarium material for identification and then stored in the VANF herbarium. Herbal drugs consumed by the public against stomach cancer; duration of use, forms of use and dosage were determined. The anticancer activity of the root extract of *G. trichosantha* grown in its natural habitats was investigated. The viability test was performed in vitro on HGC-27, A549/BEAS-2B, DU-145/PNT1-A, HUVEC, CaCO-2, MCF-7, T98-G cell lines.

Since the viability test results in A549/BEAS-2B, DU-145/PNT1-A lines were close to each other in the first stage, the experiments were repeated by making time and dose-dependent changes in other cell lines. Significant cell death, especially HGC-27, was observed as a result of 24- and 48-hour viability tests at 15.63 µg/ml, 31.25 µg/ml, 62.50 µg/ml, 125.00 µg/ml, 250.00 µg/ml and 500.00 µg/ml doses. Then, the content analysis of the plant was made using LC/MS and the presence of high amount of trans-cinnamic acid, protocatechic acid, caffeic acid, coumaric acid, vanillic acid and syringic acid was detected in the analysis. In the light of the results obtained, it will form the basis for many different disciplines such as Molecular Biology and Genetics, Pharmacy and Medicine.

As a result, the active ingredients of *G. trichosantha* were determined. It is aimed to obtain active substances with drug potential against stomach cancer, especially in the pharmaceutical sector.

Keywords: Cancer, *Globularia trichosantha*, Traditional medicine



TEŞEKKÜR

Öncelikle bu tez çalışmasının oluşumunda en fazla emeği olan, bana her zaman yol gösteren, yüksek lisans öğrenimim süresince desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman eksik etmeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım ve değerli hocam sayın Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE'ye canı gönülden minnet ve şükranlarımı sunarım.

Hücre kültürü deneylerimde bana yardımcı olan ve tez savunmamda bilgi ve desteğini esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Nuri ATALAR'a, ayrıca tez aşamasında bana her zaman bilgi ve deneyimlerini aktarmaktan kaçınmayan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Salih NAS'a, tez çalışması kapsamında kullanılan arazi çalışmaları ve bitkinin sistematik tayinini gerçekleştiren Sayın Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE'ye, Laboratuvar çalışmalarım sırasında vermiş oldukları destek ve katkılarından dolayı kıymetli arkadaşlarım Emra ERDURAN, Filiz ÇELİKTEN ve Nuray BAYDAR'a, hayatımın her aşamasında maddi, manevi desteklerini esirgemeyen özveri ile hep yanımda olan değerli aileme ve dostlarıma,

En kalbi duygularla teşekkürlerimi sunarım.

2023

Abdurrahman CAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Geleneksel Ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT)	3
1.1.1 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamalarının Tarihçesi	4
1.1.2 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıpta Yasal Düzenlemeler	6
1.1.3 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT)'ın Gelişimi	7
1.1.4 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği	8
1.2 Fitoterapi	8
1.2.1 Avrupa Fitoterapi Bilimsel Kooperatifi (ESCOP)	10
1.2.2 Komisyon E (German Federal Institute for Drugs and Medical Devices)..	11
1.2.3 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Monografları	11
1.2.4 Avrupa Farmakopesi	11
1.3 Kanser	11
1.3.1 Kanserin Oluşumu ve Mekanizması	14
1.3.2 Kanser ile Mücadele	17
1.3.3 Mide Kanseri	19
1.4 <i>Globularia trichosantha</i> Fisch. & C.A.Mey.	22
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1 Materyal	27
3.1.1 Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	27
3.2 Yöntem	28
3.2.1 Arazi Çalışmaları	28

3.2.2	Kaynak Kişilerden Yararlanma.....	28
3.2.3	Pazar Araştırmaları	30
3.2.4	Okullarda Yapılan Çalışmalar.....	31
3.2.5	Bitki Toplama ve Presleme	31
3.2.6	Halkın Kullanım Yöntemi.....	32
3.2.7	Ekstraksiyon Yöntemi.....	32
3.2.8	Hücre Kültürü	32
3.2.8.1	Besiyerinin Hazırlanması	32
3.2.8.2	Hücrelerin Çözülmesi.....	33
3.2.8.3	Hücrelerin Kültüre Alınması	34
3.2.8.4	Hücre Sayımı	34
3.2.8.5	Hücre Kültürü Etken Dozunun Hesaplanması	34
3.2.8.6	Maddelerin Sitotoksik Etkisinin MTT yöntemi İncelenmesi .	35
3.2.8.7	<i>Globularia trichosantha</i> Bitki Ekstraksiyonu ve LC-ESI-MS/MS ile Fitokimyasal Analizi.....	36
3.2.8.8	LC-ESI-MS/MS Enstrümantasyon Koşulları.....	37
4.	BULGULAR.....	39
4.1	Birbirinden Farklı Hücre Hatlarına Uygulanan <i>Globularia trichosantha</i> Bitkisinin IC ₅₀ Sonuçları	39
4.2	A549/BEAS-2B ve DU-145/PNT1-A Hücre Hatlarına Uygulanan <i>Globularia trichosantha</i> Bitkisinin IC ₅₀ Sonuçları	40
4.3	LC-ESI-MS/MS Sonuçları	42
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	47
	KAYNAKLAR.....	53
	ÖZ GEÇMİŞ.....	57

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1 Ulusal Tamamlayıcı ve Bütünleştirici Sağlık Merkezi'nin (NCCIH) GETAT sınıflandırması (Balcı, 2020)	2
Çizelge 1.2 Ülkelerin GETAT ile ilgili yasal düzenlemeleri ve kullanım oranları (Kırsoy, 2021).....	6
Çizelge 3.1 Besi yerin içine eklenen kimyasal hacimleri	33
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan normal ve kanser hücre soyları.....	33
Çizelge 4.1 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının A549/BEAS-2B hücre hatları üzerindeki IC ₅₀ değerleri	40
Çizelge 4.2 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının DU-145/PNT1-A hücre hatlarının IC ₅₀ değerleri	41
Çizelge 4.3 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının LC-MS/MS yöntemiyle analizinde elde edilen bileşikler.....	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) güncel verilerine 2020 yılı itibariyle tüm dünyada en sık görülen kanser türlerindeki yeni vaka sayıları.....	12
Şekil 1.2 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) güncel verilerine 2020 yılı itibariyle tüm dünyada en sık görülen kanser türlerindeki ölüm sayıları (WHO, 2020)..	13
Şekil 1.3 Dünya Sağlık Örgütü verilerine 2020 yılı itibariyle ülkemizde ve dünya çapında yaşa bağlı görülen kanser türlerindeki yeni vaka sayıları ve bu vakalara bağlı ölüm oranları (WHO, 2020).....	13
Şekil 1.4 Kanser hücrelerinin özellikleri (Disoma, 2016).....	15
Şekil 1.5 Hücre döngüsü basamakları (Baday, 2013)	16
Şekil 1.6 Normal hücre ve kanser hücresinin bölünme evresindeki farkları	19
Şekil 1.7 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre 2020 yılı itibariyle dünyada mide kanseri vaka sayıları. (WHO, 2020)	20
Şekil 1.8 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre 2020 yılı itibariyle dünyada mide kanserinde vaka sayılarına bağlı ölüm oranları (WHO, 2020)	21
Şekil 1.9 <i>Globularia trichosantha</i> Fisch & C.A. Mey türünün genel görüntüsü	23
Şekil 3.1 Yapılan arazi çalışmaları	29
Şekil 3.2 Araştırma alanının coğrafik haritası	29
Şekil 3.3 Kaynak kişilerden faydalanma çalışmaları	30
Şekil 3.4 Toplanan bitkileri presleme ve kurutma çalışmaları	31
Şekil 4.1 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının HUVEC, CACO-2, MCF-7, T98-G ve HGC-27 hücre hatları üzerinde yüzde canlılık grafiği (24 SAAT).....	39
Şekil 4.2 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının HUVEC, CACO-2, MCF-7, T98-G ve HGC-27 hücre hatları üzerinde yüzde canlılık grafiği (48 SAAT).....	40
Şekil 4.3 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının DU-145/PNT1-A hücre hatları üzerinde yüzde canlılık grafiği	41
Şekil 4.4 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının BEAS-2B hücrelerine karşılık A549 hücresi üzerinde yüzde canlılık grafiği.....	42
Şekil 4.5 <i>Globularia trichosantha</i> bitki ekstraktının LC-MS/MS yöntemiyle analizinde elde edilen bileşiklerim MRM kromatogramı	44

Şekil 4.6. Trans-sinamik asit, protokateşik asit, kafeik asit, o-kumarik asit MRM	
kromatogramı.....	45



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
μL	Mikrolitre
cm	Santimetre
dk	Dakika
G	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
nm	Nanometre
mM	Milimolar
°C	Santigrat
IC ₅₀	İnhibisyon konsantrasyonu

Kısaltmalar	Açıklama
GETAT	Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp
TDK	Türk Dil Kurumu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
NIH	Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsü
NCCIH	Ulusal Tamamlayıcı ve Bütünleştirici Sağlık Merkezi
NHCS	Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi
CDC	Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
GATT	Geleneksel-Alternatif-Tamamlayıcı Tıp
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
ESCOF	Avrupa Fitoterapi Bilimsel Kooperatifi
DNA	Deoksiribonükleik Asit



1. GİRİŞ

Geleneksel ve tamamlayıcı tıp (GETAT) geçmişten günümüze kadar süre gelen zamanın içerisinde insanların doğadan faydalanılarak çeşitli ihtiyaçlarını karşılamaya yönelik deneme yanılma metodu ile geliştirmiş olduğu alanlardan biridir. En eski medeniyetlerin yaşamış olduğu çağlarda tıbbi bilgileri ve birikimi nasıl elde ettikleri bilinmemektedir. Fakat bu bağlamdaki genel kanı, insanın kendi acısını dindirmeye ve iyileştirmeye yönelik yaptığı davranışlar ile ortaya çıktığıdır. Bir tıp kitabında *“Yeryüzünde vücut acısının koparttığı ilk çığlık, hekim çağıran ilk ses olmuştur. Ancak bu sese ne zaman cevap verildiği bilinmemektedir”* cümlesi teknolojinin gelişmesinden bağımsız olarak geleneksel yöntemlerin ezelden beri var olmaya çalışması ile ilgilidir (Nişikli, 2019). Bu cümleden hareketle insanlık beslenme, barınma, gıda ve şifa olarak çeşitli şekillerde yararlanmaya çalışmıştır. Özellikle şimdilerde olduğu gibi tıbbi manada bir gelişim söz konusu olmadığı için tabiat aynı zamanda eczane görevi görmekteydi. Tabiat ile güçlü bir ilişki içinde bulunan insanlar özellikle bitkilerden çeşitli amaçlarla faydalanmaya çalışmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’nün literatürüne de tedavi edici yöntemler bütünlüğü olarak giren Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT) günümüzde de oldukça sık rastlanan yöntemlerin başında gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’ne göre GETAT “Fiziksel ve ruhsal hastalıklardan korunma, bunlara tanı koyma, iyileştirme veya tedavi etmenin yanında sağlığın iyi sürdürülmesinde de kullanılan, farklı kültürlerle özgü teori, inanç ve tecrübeler dayalı, izahı yapılabilen veya yapılamayan, bilgi beceri ve uygulamalar bütünüdür.” GETAT uygulamaları bulunduğu ülkenin kendi kültür ve adetlerinin ürünü olduğundan ve ilk etapta sağlık sistemine işlenmediğinden başlarda “alternatif, geleneksel veya tamamlayıcı” kelimeleriyle telaffuz edilmiştir. “Alternatif” kelimesi Türk Dil Kurumu (TDK)’na göre “seçenek” olarak tanımlanmaktadır. “Tamamlayıcı” kelimesi ise Türk Dil Kurumu’na göre herhangi bir tanımlaması yapılmamaktadır. Aynı sözcük Merriam-Webster’da ise “uygun oranlarda birleştğinde bir renk üreten bir çift zıt renkten biriyle ilgili veya bunlardan birini oluşturan” şeklinde tanımlanmaktadır. “Geleneksel” kelimesinin tam tanımı ise Türk Dil Kurumu’na göre “gelenekle ilgili olan, geleneğe dayanan, ananevi, tradisyonel” anlamına gelmektedir. Aynı kelime Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından “bir ailede, bir kültürde veya bir dinde nesilden nesile aktarılmış inanç veya

davranış” şeklinde tanımlanmaktadır (Nişikli, 2019). Üç kelimenin tanımlarının birbirlerine yakın anlamları olmasına rağmen başka WHO olmak üzere dünyadaki birçok sağlık kuruluşu tarafından genel kanı olarak “tıbbın değil tedavinin alternatifi olabileceği” genel kanısında bulunulmuştur. Dolayısıyla “alternatif” kelimesinden uzaklaşıp bilimsel tabanda kanıtlanamayan hiçbir tedavinin tıbbın yerini alamayacağı görüşünde uzlaşma sağlanmasıyla “geleneksel ve tamamlayıcı tıp” kavramı ile tanınmaya başlanmıştır. Özetle tıba alternatif değil, tıbbı destekleyici ve tamamlayıcı çalışmaların yapılması olarak tanımlanmaktadır (Coşkunırmak, 2018). Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) sayfalarında başlarda “tamamlayıcı ve alternatif tıp” başlığı altında hizmet vermekteydi. Bitki özlü ilaçların üretimi ve geliştirilmesi birçok ülkede oldukça sıklıkla başvurulana yöntemlerden biridir. Kore tıbbı, Çin tıbbı olarak kitaplarda anlatılan GETAT bulunduğumuz topraklarda da çok eski bir tarihe sahiptir (Çizelge 1.1). Anadolu topraklarında yaşayan ve geleneksel ve tamamlayıcı tıbbın öncülerinden olan Hipokrat’ın birçok çalışmaları tarihin önemli sayfalarına kazınmıştır. 2014 yılında ise Sağlık Bakanlığımız tarafından GETAT yönetmeliğine resmîyet kazandırılmış olup belli bir disiplin altına alınmıştır. Doğadan kolay elde edilmesi ve birçok amaç ile kullanılmaları gereği bitkilere geçmişten günümüze kadar varan bir ilgi söz konusudur. Yapılan araştırmalar neticesinde Dünya nüfusunun %75’ten fazlası bitkilerin tıbbi etkisine inanmaktadır.

Çizelge 1.1 Ulusal Tamamlayıcı ve Bütünleştirici Sağlık Merkezi’nin (NCCIH) GETAT sınıflandırması (Balcı, 2020)

Zihin ve beden tıbbı	Yoga, qigong ve reiki, kayropratik, osteopati, meditasyon, ibadet, akupunktur, gevşeme teknikleri, taichi, hipnoterapi, grup terapileri vb.
Bitkiye dayalı ürünler	Doğal ürünler, bitkiler, besin destekleri, vitaminler, probiyotikler vb.
Alternatif medikal sistemler	Geleneksel Çin Tıbbı, Ayurveda, homeopati, naturopati vb.
Fonksiyonel tıp uygulamaları	Besin kalitesi ve miktarı, hava ve su kalitesi düzenlenmesi, fiziksel egzersiz planlanması vb.

1.1 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT)

GETAT tarihi en eski medeniyetlere kadar uzanmakta, M.Ö. 3000 yılına kadar bitkilerle tedavinin izlerine ulaşılmıştır. Ulaşılan eserlerin başlıca yazarları arasında Hint geleneksel tıbbı için Ring Veda ortalama 1000 adet, Yunan geleneksel tıbbı için Eskolap ve Hipokrat 400 adet, bitkisel ve hayvansal geleneksel tedavi yöntemleri kayıt altına alınmıştır. Fakat hepsinden önemlisi ve hatta öncüsü “Tıbbın Hükümdarı” olarak da kabul edilen İbn-i Sina’nın “Tıp Kanunu” adlı eserinde Al Gafini ile beraber ortalama 800 adet geleneksel tedavi yöntemi olduğu bulunmuştur. 17. yüzyılda Fransız hekimler tarafından uygulanan geleneksel tedavi yöntemleri “Fakirler için Tıp” olarak isimlendirilmekte olup hekim Paul Dube tarafından böbrek hastalığına karşı kullanılması başta olmak üzere birden fazla bitkisel tedavi yöntemi yazılmıştır. Sonraki yüzyıllarda özellikle teknoloji, kimya ve biyokimya alanlarındaki gelişmeler artmış olup laboratuvar cihazları ile bitkilerden gerekli etken maddeler alınıp bu yollarla ilaç üretimine devam edilmiştir. Ancak ne yazık ki bitkilerle tedavinin etkisinin her geçen gün azaldığı görülmüştür. Modern tıbbı benimseyenler, bilimsel metotlara dayanmaması açısından geleneksel tıp yöntemlerini kale almaz iken, geleneksel tıbbı benimseyenler modern tıbbın insanı bir makine gibi görmesini eleştirmiştir. Ayrıca geleneksel tıp hastaya odaklanırken, modern tıbbın hastalığa odaklanması gibi farklı bakış açılarının olduğu bilinmektedir (Özdemir, 2009).

Son yıllarda özellikle ülkemiz başta olmak üzere gelişmekte olan birçok ülkede GETAT uygulamaları eskiye nazaran daha fazla özen kazanmıştır. Laboratuvarlarda üretilen ilaçların yan etkilerinin fazla olma kaygısı, insanları GETAT yöntemlerine eğilimini daha da arttıran başka bir neden olmuştur. Öyle ki son 10-15 yıl baz alınarak yapılan araştırmalar neticesinde insanların geleneksel yöntemlere olan inancının ve kullanım oranlarının %80 civarında etkili olduğunu göstermiştir. İletişim araçları ve sosyal medya kullanımının artışı da insanların doğal bitki kullanımı için güvenli liman arayışlarını tetiklemekte ve bu alandaki gelişmelerin artmasına olanak tanımaktadır. Ayrıca GETAT yöntemlerine gelişmemiş ülkelerde de erişimin oldukça kolay olduğu ve aslında insanların doğayı bir eczane gözüyle görmesi açısından da oldukça avantajlı bir uygulama alanı olduğu bilinen bir gerçektir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’nın yapmış olduğu araştırmalar sonucunda Afrika ülkelerindeki yüksek ateşli çocukların yarısından

fazlasının evde bitkilerin kullanılmasıyla tedavisini tamamladığı belirlenmiştir. Aynı şekilde Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi (NHCS) ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC)'nin 30000'den fazla kişi ile yapılan anket çalışmalarının neticesinde 1990'lı yıllara göre 2000'li yıllarda GETAT yöntemlerinin neredeyse iki katına çıktığı fakat hastaların mevcut bitkisel tedavilerinden hekimlerine bahsetmediği öğrenilmiştir. Genel olarak GETAT'ın en sık kullanıldığı hastalıklar kanser ve kronik rahatsızlıklar olarak göze çarpmaktadır. Ülkemizde ve Avrupa'da da bu durum kendini bu şekilde göstermektedir (Ulusoy, 2020). İnsanların son zamanlarda GETAT uygulamalarına ilgi göstermelerinin başka bir sebebi de oldukça zorlu süreçleri olan ve hatta tedavisi henüz tam belirlenemeyen kanser, HIV/AIDS gibi hastalıklarda yaşam kalitesinin artırılmış olması ile berabe, tedavi süreçlerinin daha hızlı olmasıdır (Özdemir, 2009).

1.1.1 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamalarının Tarihçesi

GETAT uygulamalarının temeli Hint ve Çin tıbbı kadar eski zamanlara dayanmaktadır. Bitkilerin geleneksel olarak kullanıldığının ilk örneklerinden bir tanesi Kuzey Irak bölgesindeki Şanidar mağarasında 1957-1961 yılları arasında yapılan kazı çalışmaları neticesinde elde edilen insan kalıntılarının yanı sıra gül hatmi, peygamber çiçeği, mor sümbül gibi birçok bitki tohumunun da bulunması insan-bitki ilişkisine kanıt oluşturmaktadır. Kazıda tohumları bulunan bitkilerin insanların tedavisi için de kullanıldığı düşünülmektedir. Çünkü bulunan bitki tohumları günümüzde halen daha halkın geleneksel olarak farklı hastalıkların tedavilerinde kullandığı bitkilerdir. Günümüzde GETAT uygulamalarına önem veren Japonya ve Kore gibi Doğu ve Güney Asya bölgelerinde de GETAT temelleri atılmaya başlanmıştır. Ülkelerin kendi sınırları içinde yetişen bitkiler ve bunlarla ilgili olan halkın kullanma gelenekleri değişim gösterdiği bilinmektedir. Bu durumun örneği ise her bölgede ve ayrı iklimlerde yetişen bitkilerin uygulamaya göre farklılık göstermesidir. Karyopraktik ve osteopati gibi tekniklerin ise 19. yüzyılda oturmaya başladığı görülmüştür. GETAT yöntemlerine ait olduğu bilinen ilk belge akupunktur uygulamasına aittir. Amerika'lı bir gazetecinin Çin görevi sırasında ağrılarının olması akabinde bu ağrılarından akupunktur yöntemi ile kurtulması ve ülkesindeki gazetede bunu yayınlaması ile ilk belgenin oluştuğu

bilinmektedir. Selçuklu ve sonrasında Osmanlı dönemlerinde de GETAT belli düzeylerde kullanılmaktaydı (Ulusoy, 2020). O dönemlerde GETAT genellikle ruh ve sinir hastalıkları için müzik terapisi olarak kullanılmıştır. Hatta müzikle tedavide o kadar ilerlemişlerdi ki yeterli akustik sağlayan hastaneler bile yapılmıştır. Müzikle tedavinin Osmanlı ve Selçuklu'nun dışında Eski Roma ve Yunan topluluklarında da kullanıldığı bilinmektedir. Eski uygarlıklardan günümüze değin GETAT teknikleri ve uygulamaları hakkında hep belirsizlikler mevcut olmuştur (Çizelge 1.2). Bu belirsizliklerden ötürü ülkemizde birtakım düzenlemelerin yapılması kaçınılmaz olmuştur. GETAT alanındaki ilk düzenleme olarak 1991 yılında “Akupunktur Tedavi Yönetmeliği” olarak kendini göstermiştir. İlgili yönetmelik ülkemizde “akupunktur tedavisinin bilimsel yöntemler ile uygulanması” amacı gütmektedir. 2002 yılına gelindiğinde ise “Akupunktur Tedavi Yöntemini Uygulayan Yeni Sağlık Kuruluşları Yönetmeliği” çıkmıştır. 2011 yılında Sağlık Bakanlığı ve Bağlı Teşkilat ve Görevleri Hakkında Kanun Hükmünde Kararname ile GETAT teknikleri hakkında yasal düzenleme ve denetleme yetkisi ‘Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü’ne verilmesi ile ‘GETAT Uygulamaları Daire Başkanlığı’ kurulmuştur. Üç yıl sonra 2014 yılının 10. ayında ise Sağlık Bakanlığı’mız tarafından “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği” yayınlanmıştır. İlgili yönetmelikle ülkemizdeki son GETAT teknikleri bu yönetmelik ışığında uygulanmıştır. 2018 yılına gelinmesiyle beraber ülkemizdeki eğitim ve araştırma hastaneleri gözetiminde hizmet veren GETAT uygulama birimleri açılmıştır (Ulusoy, 2020).

Çizelge 1.2 Ülkelerin GETAT ile ilgili yasal düzenlemeleri ve kullanım oranları (Kırsoy, 2021)

ÜLKELER	GETAT ile İlgili Ulusal Politika	GETAT ile İlgili Yönetmelik	GETAT İçin Ulusal Araştırma Kurumu	GETAT Uygulaması Yapan Hastane	Yasal Olarak Doktorlarla Sınırlı Uygulama	Akupunktur Uygulayan Doktorların Oranı	Geleneksel İlaçların Toplam Tüketim İçerisindeki Payı
Çin	+	+	+	+	+	%50	%30-50
Kuzey Kore	+	+	+	+	+	%38	%3
Hindistan	+	+	+	+	+	Bilgi Yok	Bilgi Yok
Japonya	+	+	+	+	+	%72	%83
Avustralya	+	+	+	+	+	>%4	Bilgi Yok
Almanya	+	+	+	+	+	%2-4	%20-30
Norveç	+	+	+	+	+	<% 2	Bilgi Yok
Kanada	+	+	+	+	+	%2	%24
Abd	+	+	+	+	+	%50	Bilgi Yok
Türkiye	+	+	+	+	+	Bilgi Yok	Bilgi Yok
Küba	+	+	+	Bilgi Yok	+	Bilgi Yok	Bilgi Yok
İtalya	+	+	+	+	+	%2-4	Bilgi Yok

1.1.2 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıpta Yasal Düzenlemeler

Ülkemizde GETAT, henüz eski ismiyle olan “geleneksel-alternatif-tamamlayıcı tıp (GATT)” olarak anıldığı zamanlar olan 1991 yılında ilk düzenleme Akupunktur Tedavi Yönetmeliği’dir. Düzenlemenin yapılmasındaki temel gereklilik ülkemizdeki akupunktur tedavi yönteminin, diğer tedavi yöntemlerinde olduğu gibi bilimsel temellere dayandırılmasıdır. Uygulamanın hayata geçirilmesinin akabinde akupunktur tedavisinin genel tanımı ve bu tedaviyi kimlerin alabileceğine dair birçok yenilik yapılmış olup denetlemenin yapılması açısından bir üst kurulda görevlendirilmiştir. 2012 yılına gelindiğinde geleneksel-alternatif-tamamlayıcı tıp (GATT) organizasyon ağı oluşturulmuş ve gerekli personel atamaları yapılmıştır. GATT taslağının hazır olması ise 2013 yılını bulmuştur. 27 Ekim 2014 yılında ise Resmî Gazetede yayınlanan

yönetmelikte, toplamda 15 adet GATT yöntemi yasallaşmıştır. Yönetmelikte bahsi geçen yöntemler sırasıyla akupunktur, apiterapi, Fitoterapi, hipnoz, sülük yöntemi, kupa yöntemi, larva yöntemi, ozon yöntemi refleksoloji ve müzikterapi gibi uygulamalardır (Coşkunırmak, 2018).

Ülkemizde GETAT için yapılan düzenlemeler sürekli devam etmekte ve her geçen gün GETAT uygulamalarının önü açılmaktadır. GETAT uygulamaları için katılımcı olan kişilerin tüm haklarının saklı kalması ve korunması şartı ile bilimsel çalışmaların düzenlenmesi için 09.03.2019 tarihinde 30709 sayılı Resmî Gazete’de Geleneksel ve Tamamlayıcı tıp Uygulamaları Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik yayımlanmıştır. Ayrıca uluslararası ve sistemli çalışılması açısından GETAT İyi Klinik Uygulama Kılavuzu hazırlanmış ve ülkede bu alandaki birçok gelişmeye katkı sunmuştur. Bu bilgilerin tamamının erişimi için Sağlık Bakanlığı’mız ayrı bir bölüm açarak oldukça şeffaf şekilde <https://shgmgetatdb.saglik.gov.tr/> sitesinde tamamına erişim kolaylığı getirmiştir (Yeşil, 2021).

1.1.3 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT)’ın Gelişimi

Ülkemizde yapılan araştırmalar sonucunda GETAT kullanım oranının %22.1 - %84.1 arasında olduğu belirlenmiştir. Dünya’daki diğer ülkelerde ise kullanım oranları; Kolombiya %40, Amerika %42.1, Avustralya %48,2, Fransa %49,3, Kanada %70,4 ve Şili %71 son olarak Afrika ülkelerinde bu oran %80’e kadar çıkmaktadır. Özellikle Afrika ülkelerinin birçok bölgesinde yerel halkın modern tıp imkanlarına erişemediği gerçeği geçmişten günümüze kadar onları geleneksel yöntemlerle tedaviye itmiştir. Ayrıca Pakistan’da GETAT uygulamalarına “Unani (Arap Tıbbı)” diye yeni bir isimlendirme ile halkın %70’inin direk olarak başvurduğu bilinmektedir (Kırsoy, 2021).

Avrupa’da ise durum biraz daha farklılık göstermektedir. Yaşayan nüfusun genelinde GETAT uygulamalarına genel bakış %9-76 arasında değişiklik göstermektedir. Nüfusun maksimum %48.7’si GETAT uygulamaları için tıp doktoruna başvuruda bulunmakla beraber bu oranın %27’si reçetesiz olarak kullanım sağlamak istemiştir. Avrupa ülkelerinde yaşayan yerel halkın geneli GETAT uygulamalarının halk sağlığı adı altında sağlanmasını istemektedir (Kırsoy, 2021).

Gelişmiş Avrupa ülkelerinden biri olan İngiltere’de modern tıp imkanlarına erişim daha kolay olduğundan halkın %12.5’i ancak geleneksel yöntemlere güvenmektedir. Ülkede gelişmiş hastanelerde geleneksel yöntemlerin kullanıldığı birimler oluşturulmuştur. Diğer Avrupa ülkelerinden Fransa, İsveç, Norveç ve Almanya gibi ülkelerin üniversitelerindeki tıp eğitiminde GETAT uygulamaları müfredata eklenmiş ve aktif olarak dersleri verilmektedir. Avrupa’da GETAT uygulamalarında en sık başvuru alan yöntemler ise akupunktur ve homeopatidir (Kırsoy, 2021).

1.1.4 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Daire Başkanlığı’nın yoğun uğraşları sonucunda “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği” 2014 yılının Ekim ayında Resmî Gazetede yayınlanmıştır. Yönetmeliğe göre insan sağlığına yönelik GETAT tekniklerinin uygulamasını yapacak kişilerin eğitimi ve yetkilendirilmesidir. Ayrıca GETAT tekniklerinin uygulanması yalnızca uygulama sertifikasına sahip doktor ve diş hekimleri tarafından yapılabilmektedir. Bu yönetmelik ile belirlenen 15 GETAT uygulaması şunlardır;

Fitoterapi, Sülük, Akupunktur, Kupa, Mezoterapi, Proloterapi, Ozon, Osteopati, Hipnoterapi, Homeopati, Larva, Refleksoloji, Müzik, Kardiyopraktik ve Apiterapi (Yeşil, 2021).

1.2 Fitoterapi

Bitkilerin tıbbi amaçla kullanılması anlamına gelen ‘Fitoterapi’ kavramını ilk defa 1870-1953 yılları içerisinde Fransız tıpçı Henri Lenlerc tarafından La Presse Medical isimli dergide yazdığı belirlenmiştir. Fakat yazılı olmayan tarihte eskiden beri insanların geleneksel olarak geliştirdiği temel alanlardan bir tanesidir (Karabulut, 2021). En eski medeniyetlerden günümüze kadar bitkilerle insanlar arasında hep bir bağ olmuştur. İnsanlar birçok ihtiyacının karşılanmasında bitkilerden faydalanmıştır. Modern imkanların olmadığı zamanlarda bütün coğrafyalarda bitkisel bazlı çözümler deneme yanılma metodu ile süregelmiştir. İnsanlar bitkilerden gıda, tıbbi, yakacak ve boya maddesi gibi birçok şekilde yararlanmıştır. Her bölgenin kendine has yöntemler ve

bulunduğu ekolojiye ait bitkiler ile bu teknikleri atalarından gözlemleyerek aldığı ve günümüze kadar bu yöntemlerin hala kullanıldığı bilinmektedir. Anadolu’da da bitkiler ile olan ilişki oldukça üst seviyelerde idi. Ülkemizin hemen her bölgesinde halk hekimliği ve bitkilerden ilaç yapımı günümüzde halen varlığını sürdürmektedir. Fitoterapi’nin Yönetmelikteki tanımı, ‘Geleneksel bitkisel tıbbi ürünler ve bitkisel ilaçlarla yapılan bit tıbbi tedavi yöntemidir’ şeklinde olup bilim komisyonu tarafından uygun görülmesi halinde ancak tıp doktoru yahut diş hekimi tarafından uygulanmasına izin verilebilir (Kırsoy, 2021; Yeşil, 2021).

1978 yılında Almanya’da oluşturulan German Federal Institue for Drugs and Medical Devices Komisyonu yapmış olduğu araştırmaların neticesinde yayınlanan raporda 300 adet bitki türünün klinik etkileri ile ilgili bilgiler paylaşılmıştır. Paylaşılan bu bilgilerin esas amacı bitkilerin kullanımı ile ilgili bir standardizasyon oluşturma çabasıdır. Bitkilerin kullanım alanlarının çok geniş olmasının yanı sıra bazı hastalıklarda kullanılan bitki türleri ile ilgili verilen bilgiler şöyledir;

Covid-19 enfeksiyonu için, solunum yolu enfeksiyonu iyileştiricileri olarak çörek otu, melisa çayı, ada çayı, aloe vera gibi bitkilerdir. Jinekolojik hastalıklarda nane-limon, gül, zencefil, papatya ve ıhlamur çayları kullanılmaktadır. Onkolojik hastalıklar için, ökse otu, zencefil, zerdeçal, nar özü ve sarımsak ekstraktı kullanılmaktadır. Nöropsikiyatrik hastalıkların bazılarında limon otu, okaliptüs ve jojoba yağı kullanılmaktadır. Kardivasküler hastalıklarda limon, sarımsak, defne, kekik ve yeşil çay bitkileri kullanılmaktadır. Ayrıca bitkilerin hemen hepsinde antioksidan aktiviteye sahip sekonder metabolitlerin olması bitkilerin tıbbi olarak daha fazla araştırmalarının yapılmasını gerektirmektedir (Kırsoy, 2021; Yeşil, 2021).

Bitkilerle tedavide 19 ve 20. yüzyıllarda Moleküler Biyoloji ve Genetik, Kimya ve Biyokimya alanlarındaki gelişmeler ışığında ilaç endüstrisinde birçok yeniliş ve gelişmeler yaşanmıştır. Bu gelişmelerin etkisiyle etkinlik, kalite, toksikolojik farmakolojik ve klinik çalışmalar neticesinde birçok ilaç raflardaki yerlerini almıştır. Bazı kaynaklarda mevcut ilaçların %25’i, bazılarında ise %80’i bitkisel kaynaklı olup, içerdіđi etken madde laboratuvar ortamında sentetik olarak üretilmektedir. Bitki bazlı ürünlerin etkinliği, yarar ve zararları gibi etmenler; kullanılan bitki türü, bitkinin hangi organının kullanıldığı, süre ve doz gibi birçok etken ile doğrudan ilişkilidir. Bitkilere dışarıdan gelen kimyasal tehditlerin de varlığı göz önünde bulundurularak toksik etkiye karşı

dikkat edilmeli ve hekim kontrolü dışında kullanılmamalıdır. Özellikle dışarıdan bir göz ile birbirine benzetilen bitkilerin kullanımı oldukça tehlikeli bir durum sergilemektedir. Buna benzer durumlarla karşılaşmamak için sistematik uzmanlarınca kullanılacak bitkinin teşhisinin yapılması çok önemlidir (Uzsoy, 2019). Tıbbi amaçla kullanılan bitkilerin sadece geleneksel olarak değil, belirli bilimsel prosedür ve farmakolojik çalışmaların neticesinde ilaç endüstrisine kazandırılması oldukça önem arz etmektedir. En eski medeniyetlerden beri süregelen bu bilgiler ışığında Üniversiteler gibi köklü eğitim kurumlarının bu alandaki proje ve tezler ile geleneksel bilgileri laboratuvar ortamında, alanında yetkin uzmanların eline gerekli imkanların sunulması ile üretim sürecine başlamasının birçok hastalığın önüne geçilmesi yahut hastaların yaşam kalitelerinin arttırılmaya çalışılması içten bile değildir (Uzsoy, 2019; Karabulut, 2021).

Bitkiler içerik bakımından zengin oldukları için mutlak suretle standardizasyona ihtiyaç duymaktadır. Ancak standardizasyonu sağlamanın oldukça güç ve uzun süreçlerden geçilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Kullanıma uygun ve güvenli bitkisel bir ürünün sanayiye kazandırılması ve nihayetinde pazardaki yerini alması için birden fazla procesten geçmesi gerekmektedir. Bunlardan en büyük olanları Ulusal ve Uluslararası standardizasyon ve kontrolleri sağlayan Amerika Birleşik Devletleri'nde hali hazırda bulunan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve Avrupa'da faaliyetleri sürdürülen Avrupa İlaç Ajansı (EMA) gibi resmî kurumların kalite, saflık, doz, üretim onayı, depolama ve etiketleme gibi birçok şartı geçmesi gerekmektedir. Bir fitoterapik ilaçta olması gereken bütün özellik ve standartlarını kontrol eden kurumlar vardır. Dünya'da bu kurumların çok kabul görenler aşağıda sıralanmıştır.

1.2.1 Avrupa Fitoterapi Bilimsel Kooperatifi (ESCOP)

ESCOP 1987 yılında Avrupa'da bitkisel ilaçları ve fitoterapi topluluklarını temsilen kurulmuştur. Fitoterapik ajanların bilimsel temellere dayandırılarak üretilmesini desteklemekte ve kontrollerini sağlamaktadır.

1.2.2 Komisyon E (German Federal Institute for Drugs and Medical Devices)

Almanya’da 1978 yılında kurulan Komisyon E, 300 bitkinin tıbbi olarak kullanılmasının sağlanması için kullanım alanlarını derlemiş ve rapor halinde sunmuştur. İlerleyen dönemlerde bu sayı artmış ve rapor genişletilerek belli bir standart oluşturulmaya çalışılmıştır.

1.2.3 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Monografıları

WHO monografıları halk tarafından geleneksel olarak bilinen ve sık kullanılan bitkisel ürünlerin güvenlik, etkinlik ve kalite kontrolünü sağlamaya çalışmakta, üye olan devletler ile bu anlamda formüllerinin verilmesi, geliştirilmesini ve nihayetinde uygun modellerin oluşumunu sağlamaya çalışmaktadır.

1.2.4 Avrupa Farmakopesi

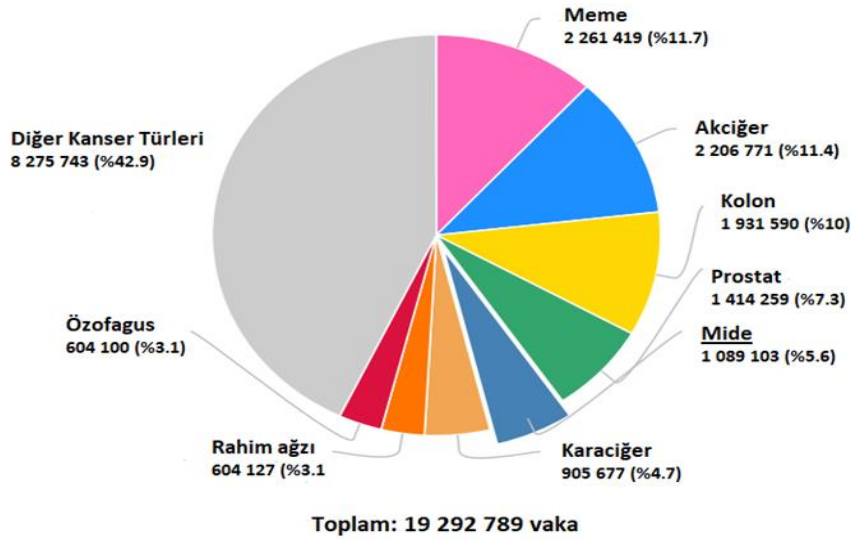
Avrupa Farmakopesi, uygun modelleri oluşturulmuş ve belirli prosesleri tamamlanmış yüksek kalitedeki ilaçların hastayla buluşturulmasında katkıda bulunan Avrupa’nın bilim tabanlı yasal ölçütüdür (Uzsoy, 2019).

Modern tıbbın gelişiminin hızlanması neticesinde hastalıkların tanımlanması geçmişe dönemlere göre her gün daha iyiye gitmektedir. Özellikler İnsan Genom Projesi ile türümüze ait bütün bir genetik materyal tanımlanmış ve bu sayede birçok hastalığı daha iyi tanıma fırsatımız doğmuştur. Bugün itibarıyla geline nokta genel kanı hemen her hastalıkta genlerin ve çevrenin beraber etki etmesi ile ortaya çıkmıştır (Sarıkas, 2020; Demirhan, 2021).

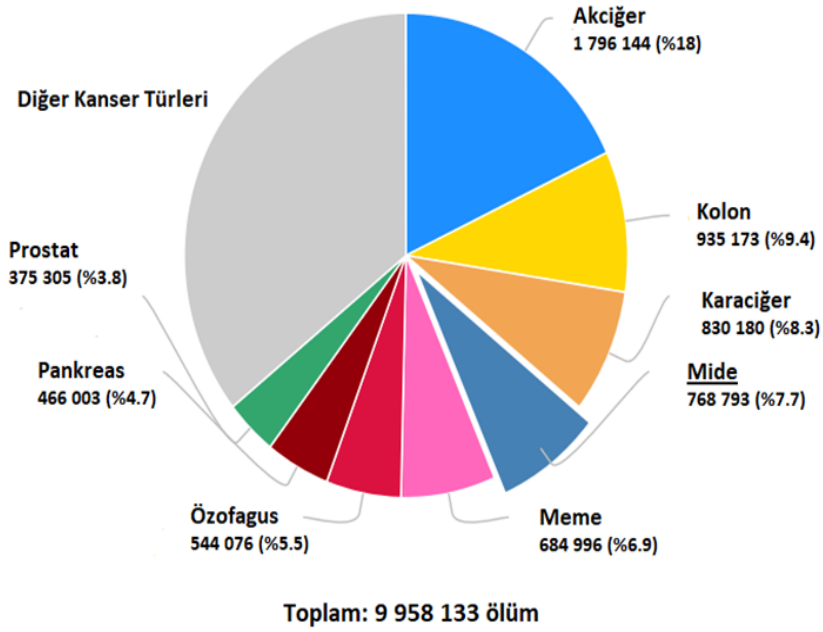
1.3 Kanser

Kanser günümüzde yayılımı oldukça artan ve tıp literatürünü halen zorlayıcı etkileri olan habis hastalıklardan bir tanesi olmakla beraber ‘Yüzyılın Patolojisi’ olarak nitelendirilmektedir. Kanserin ortaya çıkması, vücutta büyüme göstermesi ve sonuçları hastalar arası da değişiklik gösterebilen çok karmaşık süreçlere sahip bir hastalıktır.

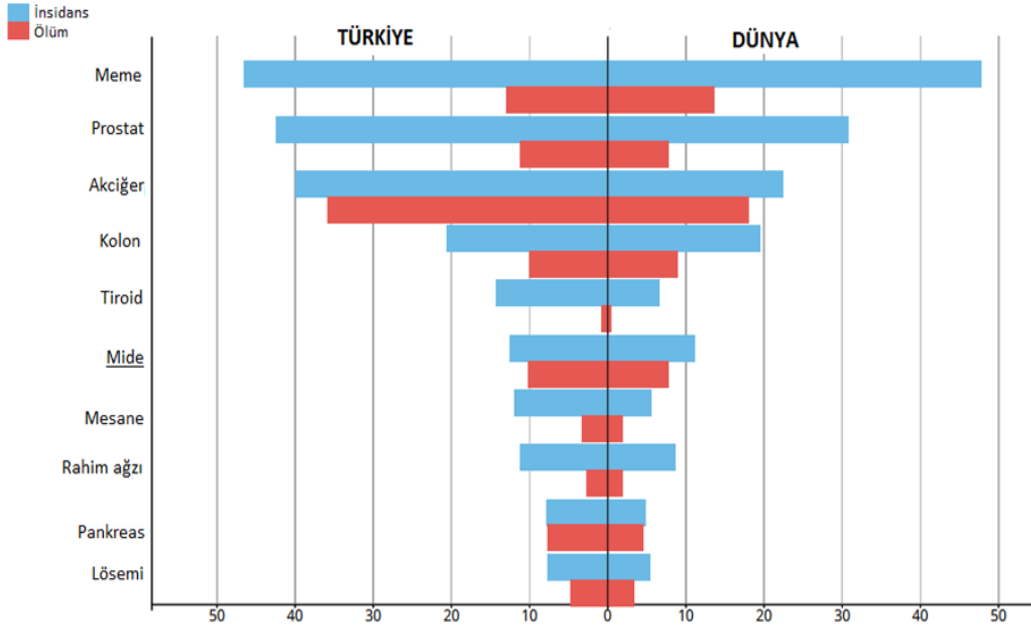
Kanser hücrelerinin genellikle 2 özelliği vardır. Bunlar iyi huylu ve kötü huylu olmasıdır. İyi huylu kanser tümörleri (benign) bulunduğu bölge ile sınırlı kalıp, genellikle başka doku veya organlara sıçramaz ve genellikle kanser olarak nitelendirilmez. Kötü huylu (malign) tümörler tam aksine vücudun birçok bölgesine geçiş yapmakta ve tedavi sürecini daha zorlu hale getirmektedir. Kanser vücudun çok farklı bölgelerinde ortaya çıkmaktadır. Bu bölgeler sıklıkla; cilt, genital bölgeler, meme, karaciğer, akciğer, sindirim sistemi, beyin ve safra kesesi gibi bölgelerdir. Kanser hastalarının %30-80’inde kilo kaybının olduğu gözlemlenmektedir. Kilo kaybının zamana göre artış veya azalışı kanserin türüne, ilerleyiş hızına, dokuya ve büyüklüğe göre değişebilmektedir. En çok kilo kaybının görüldüğü kanser türleri genellikle mide ve pankreas gibi sindirim sistemini etkileyen kanser türleridir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) güncel verilerine 2020 yılı itibariyle tüm dünyada en sık görülen kanser türlerindeki yeni vaka sayıları (Şekil 1.1). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) güncel verilerine 2020 yılı itibariyle tüm dünyada en sık görülen kanser türlerindeki ölüm sayıları (Şekil 1.2). Dünya Sağlık Örgütü verilerine 2020 yılı itibariyle ülkemizde ve dünya çapında yaşa bağlı görülen kanser türlerindeki yeni vaka sayıları ve bu vakalara bağlı ölüm oranları (Şekil 1.3). Bunları takiben akciğer, kolon ve prostat kanseri gibi kanser çeşitleri de gelmektedir (Us Altay, 2015).



Şekil 1.1 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) güncel verilerine 2020 yılı itibariyle tüm dünyada en sık görülen kanser türlerindeki yeni vaka sayıları (WHO, 2020)



Şekil 1.2 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) güncel verilerine 2020 yılı itibariyle tüm dünyada en sık görülen kanser türlerindeki ölüm sayıları (WHO, 2020)

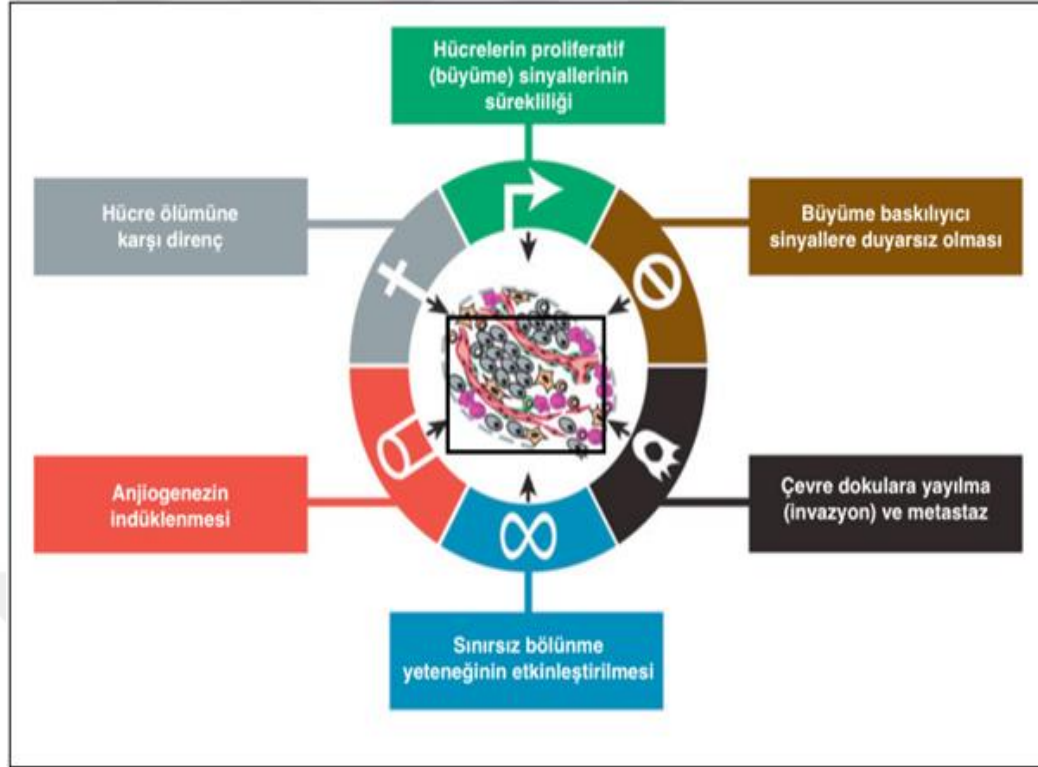


Şekil 1.3 Dünya Sağlık Örgütü verilerine 2020 yılı itibariyle ülkemizde ve dünya çapında yaşa bağlı görülen kanser türlerindeki yeni vaka sayıları ve bu vakalara bağlı ölüm oranları (WHO, 2020).

1.3.1 Kanserin Oluşumu ve Mekanizması

Kanserin vücut içinde meydana gelme süreci de oldukça karmaşıktır. Kanser oluşumunun hemen hepsi tek hücrenin bozulması ile meydana gelerek proliferasyonun sürekli devam etmesi neticesinde dokuda artmaya devam etmesidir. Normal şartlarda bağışıklık sistemi uyarılır ve bu hasarlı hücrelerin artmaya devam etmesi önlenir. Fakat süreç uzar ise kanser hücreleri yerini koruyarak dokuda birçok modifikasyon meydana getirerek vücudun savunmasını zorlaştırmaktadır. Böylesi karmaşık bir süreçte vücut içerisinde sadece kontrolsüz hücreler hayatta kalabilmektedir. Hasarlı hücrelerin oluşması çok kompleks bir süreç olup genelde tümör baskılayıcı gen bölgelerinin, deoksiribonükleik asit (DNA) onarım mekanizmasının, onkogenlerin, hücre siklusu düzenleyicileri ve kontrol noktalarının, sinyal molekülleri gibi birçok genetik faktörle ilişkilidir (Baday, 2013).

Eğer dokuda oluşan kanser türü malign ise, başka doku ve organlara lenf veya kan dolaşımı yolu ile göç edebilirler. Göç ettikleri bölgelerde de aynı şekilde agresif davranışlar ve kontrolsüz büyüme çalışmalarını devam ettirerek tümör oluşumuna sebep olurlar. Kanser hücrelerinin bu şekilde vücudun bir yerinden başka bir yerine göç etmesi ‘Metastaz’ olarak nitelendirilmektedir. Kanser hücreleri normal hücrelere oranla birçok yeni özellik kazanmaktadır (Şekil 1.4). Bunlar; hücrelerin büyüme sinyallerinin devamlılığı, büyüme baskılayıcı sinyallere duyarsızlık, metastaz, sınırsız bölünebilme yeteneği, anjiyogenezin (damarlanma) uyarılması, programlı hücre ölümlerine karşı dirençli olması gibi özelliklerdir (Us Altay, 2015; Disoma, 2016).

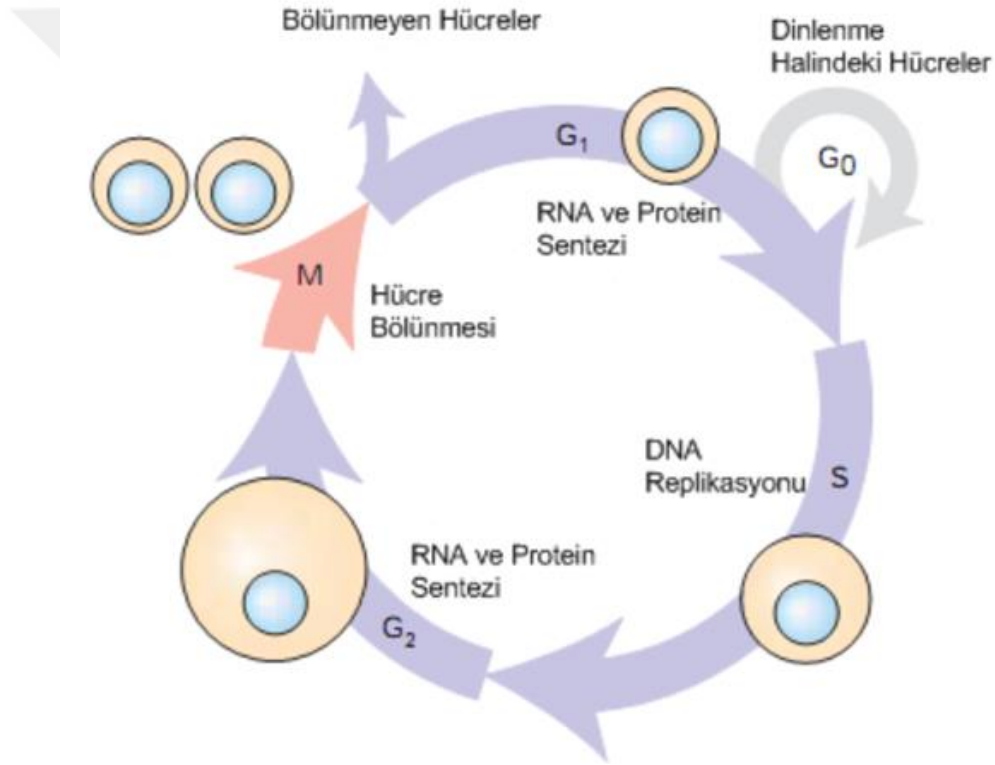


Şekil 1.4 Kanser hücrelerinin özellikleri (Disoma, 2016)

Teknolojinin gelişimi ve bilim alanlarındaki devrimler kanser için her ne kadar çağımızın hastalığı dese de onkolojinin kökeni çok eski uygarlıklara kadar uzanmaktadır. İnsanların kitle veya tümör denilen rahatsızlıklarla ilk mücadelesinin belgeler ile kanıtlanması MÖ 3000 yıllarına tekabül etmektedir. Mevcut kanıtların bir örneği, eski mısır bilimcilerinden biri olan Edwin Smith tarafından yazıldığı bilinen bir papirüs içindeki yazılarda, kendisinin meme kanserine karşı cerrahi tedaviye başvurduğunu anlatmaktadır (Demirhan, 2021). İbn-i Sina'nın 11. yüzyılda mide kanserine benzer etkileri olan bir hastalıktan bahsedildiği bilinmektedir. İbn-i Sina Tıp ansiklopedisinde bahsettiği bu hastalıktaki en önemli noktanın erken müdahale yapılması gerektiğidir. 16. yüzyıl ile 19. Yüzyılları arasında tümörlerin anlaşılması için birçok araştırma yapan bilim insanları sayesinde bugün kanserin hemen her anındaki anatomisi ve biyolojisi tanımlanmıştır. 19. yüzyılda Aussent, Chardel, Laennec ve Otto gibi birçok bilim insanı da mide kanserinin biyolojik olarak tam anlamıyla tanınması için birçok çalışmalar yapmışlardır (Baday, 2013; Demirhan, 2021).

Sağlıklı bir vücutta hücrelerin büyümesi ve çoğalması belli bir nizamla tabiidir ve belli şartların oluşması durumunda hücreler bu süreçlerden geçerler. Sağlıklı hücreler

büyüme ve bölünme sinyallerini normal süreçlerden geçerek hatasız bir şekilde tamamlamaktadır. Fakat hem kişinin kendi genetiği hem de dış etkenler bu süreçlerin bozulmasına neden olmaktadır. Bozulan bu döngüde gelen sinyaller dikkate alınamaz hale gelir ve fonksiyonların tamamının bozulması gerçekleşmektedir (Şekil 1.5). Sağlıklı dokularda bu durum genellikle fonksiyonları bozulmaya uğramış ve sinyallere gerektiği cevabı vermeyen hücrelerin ‘otofaji ve apoptoz’ gibi ölüm yolları ile degrede edilmesi gerçekleşir. Lakin kontrolün kaybedildiği bölgelerde bu sinyaller dikkate alınmayarak tümör oluşumunun olduğu ve sonraki süreçlerde vücudun başka bölgelerine de taşınması sonucu açığa çıkmaktadır (Sarıkas, 2020; Demirhan, 2021).



Şekil 1.5 Hücre döngüsü basamakları (Baday, 2013)

Başladığı andan itibaren her geçen süre daha fazla büyüme sağlaması neticesinde bir kitleye ulaşması ve bulunduğu dokunun çevresini de işgal etmesi ile tehlikeli bir hal alan en ciddi hastalıkların başında gelir. Kontrolsüz hücre bölünmesi sonucu ortaya çıkan kanser ile gelişmiş ülkelerde mücadeleye devam edilirken gelişmemiş ülkelerde durum daha vahim bir hal almaya başlamıştır. Kanser meydana gelmesi birden fazla faktöre bağlıdır. Bu faktörlerden bazıları yaşam tarzı, kimyasal kullanımı, radyasyon, dengesiz

beslenme şekli, sigara ve alkol kullanımı gibi dış etmenler olsa da kişinin kendi genetik materyali ile de ilişkilidir. Kansere yakalanmış bir bireyin DNA'sında bulunan genlerin mutasyona uğraması sonucu normal hücreler kontrolsüz bir biçimde çoğalmaya başlayarak kanser oluşumunu sağlamaktadır. 'Onkogen' adı verilen bu genler vücut içinde normal şartlarda hücre çoğalması, damarlanması ve invazyonunu sağlamak ile görevli olmakla beraber bozulmaya uğradıklarında vücudu mücadele edilmesi zor bir hal alan anormallikler ile karşı karşıya bırakmaktadır. Kanser oluşumunun başladığı dokudan bir süre sonra enerji yetersizliği sebebiyle başka dokulara metastazının gerçekleştirilmesinde önemli bir rolü olduğu, yapılan araştırmalar neticesinde ortaya çıkmıştır (Erdoğan, 2016; Bektaş, 2014).

1.3.2 Kanser ile Mücadele

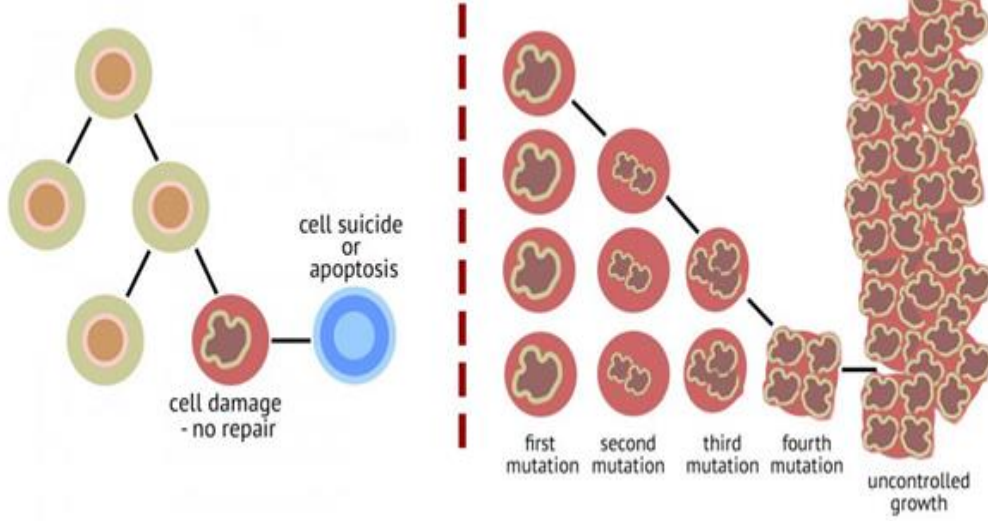
Kanser ile mücadelede son 50 yıl baz alındığında hastaların yaşam kalitesi oldukça yükseğe taşınmaya çalışılmış olsa da, kanser halen büyük bir sağlık sorunu olmayı devam etmektedir. Yapılan mücadelenin en önemli kısmını ise yeni terapötik ajanların bulunması ile ilgili olup bu bağlamda %75'lere kadar varan doğal kaynaklı ilaçlar elde edilmeye çalışılmıştır. Hekim kontrolünde kullanılması gereken bahsi geçen doğal kaynaklı ajanların tedavinin her evresinde hasta yaşam kalitesini arttırmaları, birden fazla hedefli olmaları, vücutta herhangi bir toksifikasyon oluşturmamaları gibi avantajları vardır (Erdoğan, 2016; Bektaş, 2014). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre şu ana kadar kansere yakalanan birey sayısı 14 milyondur. Normal hücre kontrolü kaybetmeye başlayıp kanser hücresine dönüştüğü zaman mücadeleyi zorlaştıran birçok başka yeni özellik kazanması söz konusudur. Bu özelliklerden bazıları hücrelerin büyüme sinyallerinin devamlılığı, büyümeyi baskılayan sinyallere duyarsız olması, diğer doku ve organlara dağılma, sınırsız bölünme yeteneğinin olması ve hücre ölümüne karşı direnç gibi özelliklerdir (Disoma, 2016). Kanser ile mücadelede ve tedavide mevcut kullanılan yöntemler genellikle cerrahi müdahale, radyoterapi ve kemoterapidir. Tedavide kullanılan bu yöntemlerin yan etkilerinin çok olması ve hasta yaşam kalitesini düşürmesi açısından yeni araştırma ve arayışlara zemin hazırlamıştır (Özgöçmen, 2017). Özellikle 20. yüzyıl içerisinde X-ışınlarının keşfi birçok dengeyi bozmuş ve yeni yöntemlerin kullanılması için kapılar açmıştır. Başlangıç itibarıyla hastalığın teşhisi için kullanılmış

olsa da sonraları X-ışınlarının hücrelere zarar verdiğinin anlaşılması ile çalışmalar durdurulmuştur. 1920’de ise Fransız Doktor ve Biyolog Claudius Regaud’un X-ışınlarının yan etkilerini azaltmaya yönelik araştırmaları iyi sonuçlar vermiştir ve tedavilere tekrar başlanmıştır (Demirhan, 2021). Bir diğer tedavi yöntemi olan cerrahi müdahalede ise hastalığın ilk evresinde kullanılmayan ancak ilerlemiş kanser türlerinde tümörün belli bir büyüklüğe ulaşması sonucunda kitlenin direkt olarak hastadan kesilip alınması ile gerçekleşen yöntemdir. Esas amaç tümör kitlesinin başka organlara metastaz yapmasının önüne geçilmesi olup, oldukça hassas bir şekilde uygulanmaktadır. 20. yüzyıl ortalarında kanser ile mücadelede devrim niteliğinde olduğu düşünülen bir yenilik olan kemoterapinin icadı gerçekleşmiştir. Özellikle biyokimya alanındaki yeni gelişmeler ile yeni bileşiklerin keşfi ve laboratuvar ortamında üretiminin yapılabilmesi ile farklı kökenleri olan kitlelere karşı etkili olduğu anlaşılan terapötik ajanlar geliştirilmeye başlanmıştır. Yöntem olarak her ne kadar ayakları sağlam basıyor olsa da tedavi esnasında sağlıklı dokuları da hedef alarak toksik etkiye sebep olması günümüzde dahi aşılması güç bir durum olarak devam etmektedir (Demirhan, 2021). Bu nedenlerden ötürü yeni terapötik ajanlara ve daha az yan etkili yöntemlere şiddetle ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda bu anlamda biyoteknoloji alanında yeni teknikler için çalışmalar devam etmektedir (Demirhan, 2021).

Geliştirilmeye çalışılan bu araştırmaların başında doğal kaynaklardan ilaç üretimi yapılmaya çalışılması gelmektedir. Doğal kaynaklardan faydalanmaya çalışan insanlar ilk sırada bitkiler vasıtasıyla mücadeleye girmiş olmalarıdır. Hal böyle iken bilim dünyası araştırma alanlarını genişletmeye başlamış ve bitkilerden tamamen doğal yeni fitoterapötik ajanlar üzerinde yoğunlaşmaya başlamıştır (Özgöçmen, 2017). Yeni ilaçların gelişimi konusunda bitkilerden faydalanmanın önemi oldukça artmış durumdadır. Bu anlamda bitkiler bilim dünyasına birçok avantaj sağlaması nedeni ile de popüler bir hal almış durumdadır. Bitkilerin bilim dünyasına sağladığı avantajların başında elde etmenin daha kolay olması, tamamen doğal olması ve ekonomik açıdan uygun olması gibi avantajları mevcuttur. (Disoma, 2016).

Kanser ile mücadelede mevcut kullanılan birçok doğal kaynak üretilen ilaç vardır. Bu ilaçlardan en sık kullanılanlar ise vinkristin, vinblastin, etoposid ve paklitaksel olup bu ilaçların tümü bitkilerden elde edilmiştir. Kanser ile mücadelede kullanılan bu ilaçlar çeşitli mekanizmalarla hücre bölünmesinin engellenmesi üzerinedir (Şekil 1.6). Kansere

karşı geliştirilmeye çalışılan ilaçlarda son 13 yıl itibariyle Gıda ve İlaç İdaresi (FDA)’ne yapılan başvuruların 108 tanesi bitkisel kaynaklı ilaç üretim çalışmasıdır (Disoma, 2016).



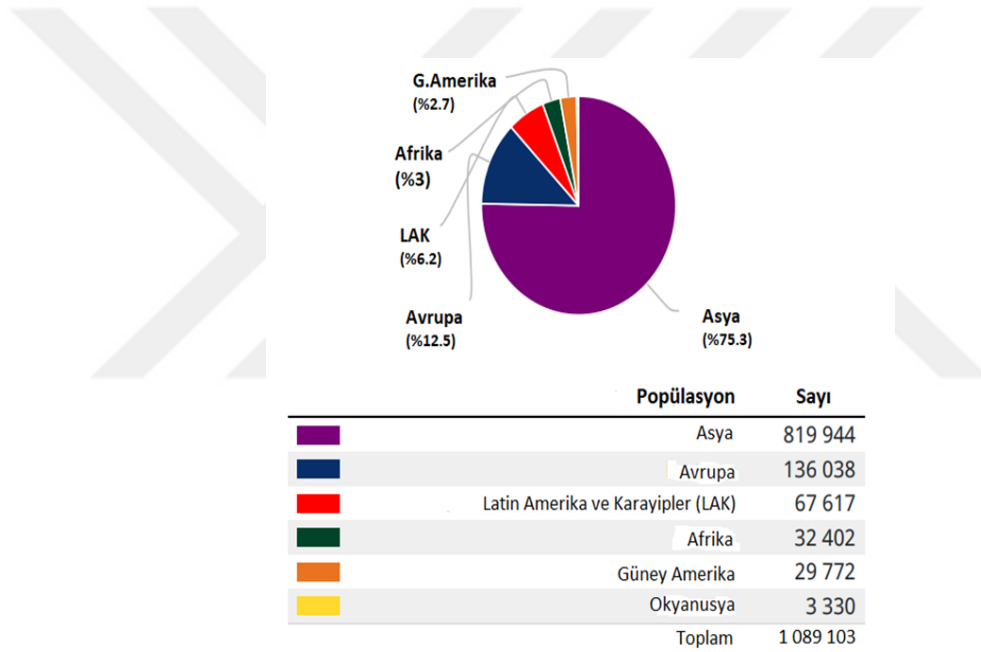
Şekil 1.6 Normal hücre ve kanser hücresinin bölünme evresindeki farkları (Akçiçek, 2019)

1.3.3 Mide Kanseri

Mide kanseri, sindirim sistemini ilgilendiren kanser türleri arasında ölüm oranı en yüksek olan kanser türüdür. Görülen bütün kanser türleri arasında dördüncü sırada iken ölüm oranında ikinci sıradaki yerini almakta, her geçen gün görülme sıklığı daha fazla artış göstermektedir (Yassıbaş, 2009). Ölüm oranı oldukça yüksek olan mide kanseri en sık Japonya, Çin, Doğu Avrupa, Doğu Asya ve Güney Amerika’da görüldüğü rapor edilmiştir (Aydındağ, 2018). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2020 verilerine göre ülkemizde mide kanseri, erkeklerde akciğer kanseri ve kadınlarda göğüs kanserinden sonra ikinci sırada çoğunlukta rastlanılan kanser türü olmakla beraber bu vakaların çoğu ileri evre mide kanserleridir. Ayrıca mide kanseri ile yaş arasında belirli düzeyde bir ilişki bulunmaktadır. Buna göre mide kanseri 30 yaşından sonra daha sıklıkta görülmektedir. İstatistiklere göre ülkemizde 2020 yılında 13.075 kişi mide kanserine yakalanmış ve bunların 10.789’u maalesef ölüm ile sonuçlanmıştır. Buna göre mide kanseri görülme sıklığında beşinci sırada iken ölüm oranında prostat ve kolon kanserlerini geride bırakarak ikinci sıradaki yerini korumaya devam etmektedir. Aynı zamanda mide kanseri

hem kadınlarda hem de erkeklerde hemen hemen eşit sıklıkta görülen tek kanser türüdür. (TÜİK, 2020).

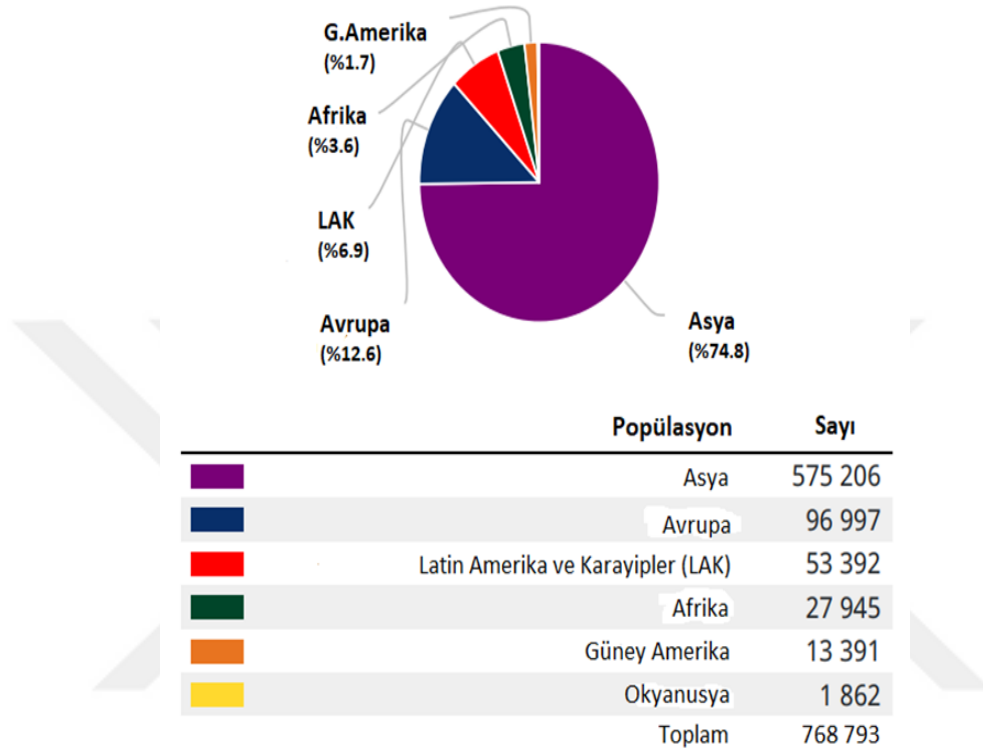
Yayınlanan verilere göre son 30 yılda mide kanserinin görülme sıklığı ve ölüm oranında azalma göstermesine rağmen hala Dünya’da en sık görülen ve mücadele edilmesi en zor kanser türlerinden bir tanesidir (Şekil 1.7). Mide kanserinin görülme sıklığı her ne kadar akciğer ve meme kanserine göre geride olsa da ölüm oranında 2. sıradadır. Sindirim sistemine ait kanser türlerinde her yıl yaklaşık 3 milyon kişiye tanı konmaktadır. Bu kanser türlerinin hepsinden fazla mortaliteye sahip olan tür ise mide kanseridir (Şekil 1.8). Dünya’da görülen mide kanserinden her yıl yaklaşık 600.000’i ölüm ile sonuçlanmaktadır (Yassıbaş, 2009).



Şekil 1.7 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre 2020 yılı itibariyle dünyada mide kanseri vaka sayıları

Bilimsel veriler, çeşitli mide karsinomlarının oluşumu ve vücuda yayılmasında birçok faktörün etkili olduğu bilinmektedir. Bu faktörlerin genellikle genetik taşıyıcılığın dışında mide ve çevresinde enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar ve dengesiz beslenme gibi sebeplerdir. Öyle ki midede Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) enfeksiyona sebep olan *Helicobacter pylori*’yi 1. tip karsinojen olarak değerlendirmiştir. Beslenme alışkanlıkları ise mide kanserine neden olabilecek oldukça spesifik faktörlerdendir. Mide karsinomu, kişinin yaşadığı ortamı, coğrafyası ve etnik kültüre göre

değişiklik gösterebilmektedir. Beslenme ile ilgili, özellikle fazla tuz kullanımı ve işlenmiş et mide kanseri riskini arttırabileceği gibi sebze ve meyve gibi yiyecekler de riski azaltabilir.



Şekil 1.8 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre 2020 yılı itibariyle dünyada mide kanserinde vaka sayılarına bağlı ölüm oranları

Fakat sebze ve meyvenin içerisindeki hangi bileşenin mideye iyi geldiğiyle ilgili detaylı çalışmalara ihtiyaç olmakla beraber en sık bilinenlerden örnek verilecek olursa C vitamininin vücudun birçok yerinde olduğu gibi midede de iyileştirici etki gösterebileceği düşünülmektedir. Genetik faktörler ise direkt olarak hastanın ailesinde kanser geçmişi olabildiğiyle ilgilidir. Genetik faktörlerin mide kanserine yakalanma olasılığını 3 kat arttıracak ve mide kanserine yakalanan insanları %10-15'inin ailesinde bu hastalığın varlığının tespit edildiği rapor edilmiştir. Mide kanserinde genellikle tanısı ileri dönemlerde konulabilmektedir. Hastalık ilerledikten sonra belirtilerinin belirgin hale gelmesinin bunda büyük payı vardır. Hal böyle olunca mide karsinomunda genellikle tek yol cerrahi olarak dokudan parça alınması ameliyatı ile mümkün olmaktadır. Tedavinin iyi sonuçlar vermesi, hastanın yaşam kalitesi ve refahının yüksek tutulması için mide

kanserinde her hastalıkta olduğu gibi mide kanserinde de hayati önem arz etmektedir (Yassıbaş, 2009).

1.4 *Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey.

Globulariaceae familyasına ait dünyada 22 farklı tür tanımlanmıştır. Tanımlanan bu türlerden Türkiye’de 11 diğer Avrupa ülkelerinde ise 15 taksonu bulunmaktadır. Türkiye florası ilk 9 ciltte *Globularia* L. cinsine ait 9 tür bulunurken sonraki çalışmalarda bu sayı 11’e çıkmıştır. Cinsin üyeleri en sık Akdeniz Fitocoğrafik bölgede olmakla beraber İran – Turan, Avrupa – Sibirya bölgelerinde de bulunmaktadırlar. Ülkemizde tanımlanan *Globularia* türlerinden 5 tanesi endemiktir. *Globularia* türleri genellikle ılıman iklimde yetişip bulundukları bölgeler genellikle kayalık, taşlık bölgelerde bulunmaktadırlar (Avşar, 2015). *G. trichosantha* bitki türünün morfolojik özellikleri aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir (Şekil 1.9).

Sırımsı epigeal stolons üreten dallı odunsu gövdeye sahip çok yıllık bir türdür. Saplar çıkışta 5-15 cm, meyvede 35 cm'ye dek yükselir. Bazal yapraklar rozet oluşturan, 25x8 cm kadar, obovat ila eliptik, küt ila tüysüz, yaprak sapına doğru inceler; gövde 12x3 mm, doğrusal - dar eliptik, sapsız. Kapitulum terminali 10-20 mm çapında; involukral brakteler mızrak şeklindedir. Kalikte loplara dar mızraksı, sivri uçlu ve diktir. Korolla'nın alt kısmı 3 linear segmente olup, üst kısım borunun neredeyse boğazına kadar 2 linear segmente bölünmüştür. Türün çiçeklenme zamanı Nisan ayından Temmuz ayının sonlarına kadardır. Türün habitatu ise kayalık ve çimenli yamaçlar, orman açıklıkları, serpantin ve volkanik kayalar üzerinde bozkır alanlardır. Deniz seviyesinden 200-2470 m olduğu yerlerde yetişmektedir (Davis, 1982).

Etnobotanik özelliklerin belirlenmesi neticesinde yapılan olan arazi çalışmaları ile birlikte elde edilen bitki türü olan *G. trichosantha*’nın VANF herbaryumuna getirilerek öncelikle presleme ve takiben bitkiden ekstraksiyon elde edilmesi ile mide kanseri tedavisinde kullanılmak üzere bitkisel drog elde edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma sonrasında elde edilen veriler ışığında mide kanseri çalışmalarına yeni bir tedavi boyutunun kazandırılması ve çalışılan bitki türünün korunmasının elzem olduğu gösterilmeye çalışılmıştır.

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'na (VANF) katkıda bulunularak zenginleştirilmesi ve herbaryumun bölge florasını temsilde güçlü hale getirilmesi gerektiği bilinen bir gerçektir. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda *G. trichosantha* bitki türünün mide kanseri üzerinde herhangi bir çalışma yapılmadığı anlaşılmıştır. Bu çalışmada halkın eskiden beri kanser tedavisi için geleneksel olarak bu bitki türünü kullandığı ve aldığı olumlu sonuçlar ile bitkinin içerik maddesinin tespiti ile birlikte mide kanseri tedavisi için işin bir üst boyutu olan laboratuvar çalışmaları ile desteklenmesini sağlamak.



Şekil 1.9 *Globularia trichosantha* Fisch & C.A. Mey türünün genel görüntüsü

Farmakolojik olarak ilaç üretim potansiyeli olan bu çalışmanın direkt olarak sonuca ve ürüne yönelik bir çalışma olduğu aşikardır.

Sonraki evrelerde bu bitki türünün kültüre alınarak ilaç üretim endüstrisine yeni bir hammadde sentezinin sağlanması bir diğer hedeftir. Böylece ülke ekonomisine katkı sağlanmasının yanı sıra kanser hastalarının da yaşam kalitesinin artırılması sağlanacaktır.



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Aboujanah (2019) yüksek lisans tezinde *Inula viscosa* bitki ekstraktlarının ve DNA koruma özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili yapmış olduğu çalışma neticesinde bitkinin birçok bakteri suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Demircan (2016)'ın yapmış olduğu yüksek lisans tezinde gelişmiş ülkeler dahil olmak üzere tıbbi bitkilerle tedavi kullanımının giderek arttığı belirtilmektedir. Özellikle kanser hastaları için ülkemiz dahil olmak üzere birçok Avrupa ülkesinde bahsi geçen yöntemlerin kullanım oranı %36'ya kadar çıkmaktadır.

Erdoğan vd. (2019) yaptıkları çalışmada *Pistacia eurycarpa* ekstraktları ile farklı bir kimyasalın kombine edilmiş halinin insan kolorektal kanser hücreleri üzerindeki etkisine bakılmış ve *Pistacia eurycarpa* bitkisinin antikanser etkisini gösterdiğini ve bunların moleküler mekanizmasını anlatmıştır.

Çınar (2018)'in yapmış olduğu doktora tezinde *Rheum ribes* L. türü, kolorektal kanser hücre hatları üzerinde denemiş, içerdiği fenolik ve flavonoid bileşenlerince antikanserojenik etkisi incelenmiştir. Çalışma neticesinde *Rheum ribes* L. türünün, farklı kanser türlerinde antiproliferatif etkisine sahip olduğunu tespit etmiştir.

Soltanzadeh (2015)'in yapmış olduğu doktora tezinde *Satureja khuzestanica* bitki özütlerinin antimikrobiyal, antioksidan etkisini bazı kanser hücre hatları üzerindeki etkisini araştırmış. Araştırmaları neticesinde *Satureja khuzestanica* bitki özütlerinin kanser hücre hatları üzerinde oldukça pozitif bir etkiye sahip olduğu ve bu bağlamda yeni kemoterapötik ilaç geliştirilmesinde fitoterapik bir ajan olma potansiyeline sahip olduğu kanısına varılmıştır.

Koca (2013)'nın yapmış olduğu doktora tezinde *Acorus calamus* bitki ekstraktlarının prostat kanseri hücreleri üzerinde yapmış olduğu hücre kültürü araştırmaları neticesinde kanser hücrelerinin üzerinde büyüme baskılayıcı etkisinin olduğu ve erken apoptozu tetiklediğini göstermiştir.

Öztürk (2020)'ün araştırma makalesinde yapmış olduğu *Ecballium elaterium*'un 'Farklı Kanser Hücre Hatlarına Karşı Sitotoksik Aktivitesi' başlıklı çalışmasında, bitki türü ekstraktının birkaç hücre hattına karşı sitotoksik aktivitesi oldukça fazla iken bu aktivitenin çoğunluğunun bitkinin yapraklarından meydana geldiğini rapor etmiştir.

Özen (2020)'nin doktora tezinde 'Farklı Tür Bitki Ekstraktlarının İnsan Kolon Kanseri Hücrelerinde Sitotoksik Etkileri' araştırılmıştır. Uygulanan bitkisel ekstraktların içerisindeki proantisiyanidin, prosiyanidin, kannabidiol ve epigallokateşin fitokimyasallarının zamana ve konsantrasyon miktarının artmasına bağlı olarak hücrelerin canlılığında ve morfolojilerinde değişim meydana getirdiği, ekstraktların HT-29 hücre hattında hücre içi toksisiteye neden olduğunu ve buna bağlı olarak anlamlı düzeyde hücre kaybının gerçekleştiğinin göstermektedir.

Şahin (2019), yapmış olduğu yüksek lisans tez çalışmasında *Achillea nobilis* subsp. *neilreichii* bitkisinin meme kanseri üzerindeki antineoplastik etkisini incelemiştir. Yapılan incelemeler sonucunda *Achillea nobilis* subsp. *neilreichii* bitkisinin meme kanseri üzerinde antikanser birden fazla bağımsız yol ile etki ettiğini ve diğer kanser türleri üzerinde de bahsi geçen etkileri gözlemleme ihtimalinin oldukça yüksek olduğunu belirlemiştir.

Tunçel (2019), yüksek lisans tezinde *Haplophyllum ptilostylum* bitkisinin antikanser özelliklerini incelemiştir. Yapılan bu çalışmada kullanılan bu bitkinin kanser hücrelerinin sitotoksik dozunu düşürdüğünü ve hücreleri ölüm yollarından olan apoptoza yönlendirdiği bulunmuştur.

Taranç (2014)'nın yapmış olduğu yüksek lisans tezinde 'Bazı Bitki Ekstraktlarının Kanseri Hücrelerinde Antioksidan, Antikanserojenik ve Apoptotik Etkisi'ni incelemiştir. Türkiye'de yetişen ve *Asteraceae* familyasına ait endemik *Tanacetum albiannosum* ve *Achillea* sp. nova; yaygın *Centaurea depressa* türlerinin ekstraktlarını çeşitli kanser türlerinde denemesi ile kanser hücrelerinin inhibisyonunda etkili olduğunu belirlemiştir. İnhibisyona sebep olan fitokimyasalların flavonoidler olduğunu belirtmiştir.

Tavşanlı (2021), yüksek lisans tezinde '*Inula viscosa* Bitki Ekstraktının Sağlıklı ve Kanseri Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik ve Genotoksik Etkileri'ni çalışmıştır. *Inula viscosa* türü ekstraktının ana bileşeni olan izokostik asit, tomentosin ve inuviskoid'in sağlıklı hücelere oranla A549 kanser hücre hattında antiproliferatif ve antigenotoksik tesirinin fazla olduğunu tespit etmiştir.

Yalçın vd. (2017), derleme makalesinde Kurkumin, Kuersetin ve Çay Kateşinlerinin Anti-Kanseri etkileri üzerine bir dizi araştırma gerçekleştirmişlerdir. Yapılan araştırmanın sonuçlarında özellikle polifenollerin antikanser ilaçlarının etkinliğini arttırmada önemli bir yeri olabileceğini işaret etmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Etnobotanik araştırmalarda yöntem açısından olabildiğince çok zaman arazide bulunmak oldukça önem arz etmektedir. Tez çalışmalarında bu prensibe uygun olarak Van İli ve ilçelerinde periyodik çalışmalar yapılmıştır. Araştırmamızda yapılan alışmalar Materyal ve Yöntem başlıklar halinde ayrı ayrı verilmiştir.

3.1 Materyal

Tezimizde kullanılan ana material *G. trichosantha* bitkisinin toprak altı kısımlarıdır. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu’da (VANF) 16265 kütük numarasıyla kaydedilmiştir.

3.1.1 Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

LC-ESI-MS/MS

Ultrasonik su banyosu

Rotary evaporatör (Heidolph 94200, Bioblock Scientific)

96 kuyucuklu hücre kültür kapları

2.5-5-10-25ml hacimli steril pipetler

1-10, 20-200, 100-1 000l’lik otomatik pipetler

Pastör fırınında steril edilmiş pastör pipetleri

15 ve 50ml’lik falkon tüpleri

Pipet uçları

Eppendorf tüpler

Sınıf II biyogüvenlik kabini (Tel Star)

CO₂’li 37 O inkubator (Thermo Scientific)

Inverted ışık mikroskopu (Olympus CKX41)

Su banyosu (Memmert)

37⁰C inkubator (Memmert)

Soğutmalı santrifuj (Thermo Scientific)

Vorteks ve Mini santrifuj (Isolab)

-80 Buzdolabı (Nuve)

-20 Buzdolabı (Arcelik)

Dulbecco's Modified Eagle's Medium-High Glucose-DMEM (Sigma Aldrich)

RPMI 1640 (Sigma Aldrich)

Hank's Balanced Salt Solutions-HBSS (Sigma Aldrich)

Fetal Bovine Serum-FBS (Sigma Aldrich)

Penicillin/Streptomycin (Sigma Aldrich)

L-Glutamine (Sigma Aldrich)

Trypsin EDTA (%2.5)(Sigma Aldrich)

%0.5'lik Trypan-Blue (Sigma Aldrich)

3.2 Yöntem

3.2.1 Arazi Çalışmaları

Daha önce Etnobotanik araştırmalarda bölge halkı tarafından mide kanseri tedavisinde yaygın kullanımı tespit edilen *Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey. bitkisinin Van genelinde kanser tedavisinde kullanımlarına ilişkin bilgileri arazide tarafımızca derlenmiş, doğal yetişme habitatlarında bitkiye ait herbaryum örnekleri alınmış, bitki kullanımları fotoğraf ve videolar ile belgelenmiştir (Şekil 3.1).

Kullanıma ilişkin ayrıntılı bilgiler, örnek alınan, teşhisleri yapılan bitkilerin lokalite bilgileri kaydedilmiştir. Araştırma alanından mide kanseri tedavisinde kullanılan bitki örnekleri, doğrudan halk ile birlikte alanda toplanıp, teşhis edilmiştir. Kullanılan bitki kısımları, kullanım amacı ve kullanım miktarı bu şekilde belirlenmiştir.

Yöntem açısından olabildiğince çok zaman arazide olmak Etnobotanik çalışmalarda önemli olsa da bunun her mevsime yayılmış olması da önemlidir. Bu ilkeye uygun olarak Van İli ve ilçelerinde periyodik çalışmalar yapılmıştır (Şekil 3.2). Yapılacak çalışmalar ana başlıklar aşağıda verilmiştir.

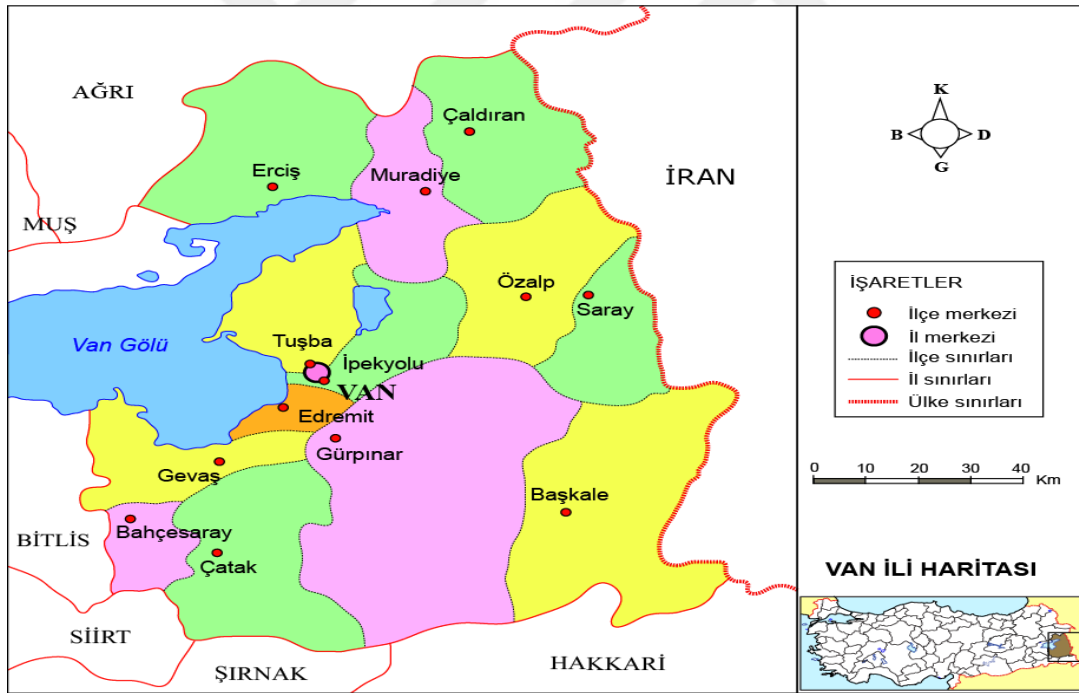
3.2.2 Kaynak Kişilerden Yararlanma

Çalışmada kaynak kişi olarak; orta yaş üstü erkekler ve kadınlar, çobanlar, belirli bitkileri kullanarak ün yapmış kişiler, yörede görevli diğer bu konuda bilgi ve birikimi

olan ziraatçiler, ormancılar ve sağlık memurları başta olmak üzere her kesimden kaynak kişiler seçilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.1 Yapılan arazi çalışmaları



Şekil 3.2 Araştırma alanının coğrafik haritası



Şekil 3.3 Kaynak kişilerden faydalanma çalışmaları

3.2.3 Pazar Araştırmaları

Araştırma alanında kurulan halk pazarlarında her ay periyodik olarak pazara çıkılması ve tüm yıl gözlem yapılması öngörülmüştür. Böylece hem bitkilerin çeşitli evrelerinde toplanarak pazara getirilen hem de kanser tedavisinde kullanılan bitkilerin izlenmesinde süreklilik sağlanması amaçlanmıştır.

Çerçeve soruları ışığında, kaynak kişilerin bilgi birikimine göre yöneltilen sorulara verilen cevaplar olanaklar ölçüsünde digital ses kayıt ve kamerayla izinleri dahilinde kaydedilmiştir. Ancak arazide, pazarda, yolda yapılan görüşmeler ayrıca not tutulmuştur. Mide kanserinde kullanılan bitkinin nereden, kim tarafından toplandığı kaydedilmiş, kullanım tarifi sorulmuştur. Her bitkiye ait yöresel adları ve bitki kullanım bilgisi en az 4-5 kişi tarafından doğrulanması sağlanmaya çalışılmıştır. Bu kişilere ait bilgiler, işlenmek üzere Bilgi formuna (tarafımızdan hazırlandı) işlenmiştir.

Bitki Veri Fişleri: Arazide ve pazarda toplanan bitkiler hakkındaki bütün veriler bu fişlere kaydedilmiştir.

3.2.4 Okullarda Yapılan Çalışmalar

Köy ilkokulları ve merkezlerdeki orta öğretilere uygulanan anket formları (tarafımızdan hazırlandı) okullara dağıtılmış ve toplanan bilgiler kaydedilmiştir.

Belirlenen bitkiler arazide toplanarak, mide kanserine karşı kullanılan bitkilerin, gerekli ve yeterli miktarda bitki kısımları toplanmıştır.

3.2.5 Bitki Toplama ve Presleme

Kaynak kişilerin gösterdiği, kullanımı belirlenen her bitkiden birkaç örnek arazide toplanarak numaralandırıldı, toplama tarihi, bulunduğu mahallenin / mevkiin adı kaydedildi. Toplanan yerin denizden yüksekliği ve koordinatları için GPS kayıtları alındı. Alınan örneklerin fotoğrafları çekildi. Bitkiler hem kullanıldığı evrede hem de kesin teşhisi için gerekli olan çiçekli ya da tohumlu evrede toplanıp preslenerek herbaryum materyali haline getirildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Toplanan bitkileri presleme ve kurutma çalışmaları

3.2.6 Halkın Kullanım Yöntemi

Globularia trichosantha türünü etnobotanik çalışmalar çerçevesinde halkın kullanımının detaylarının belirlenmesi açısından, kullanan kişilerle beraber bulunduğu ortamdan alınması oldukça önemli bir husustur. Bundan ötürü bitki türünü mide kanserine karşı kullanan kişilerle beraber elde edilen bilgileri şu şekildedir.

Lokalite Bilgisi; B9 Van: Tuşba, Sağlamtaş ve Çakırbey köyleri arası yayla, step, 15.05.2020, F14996 (VANF 16265) 38° 53' 42.34" N, 43° 35' 48.51" E, 2012 m.

Bitki toplama işlemi bittikten sonra, kökleri diğer organlarından ayrılarak kullanıma hazır hale getirilir. Alınan kökler su içerisine eklenerek, su kaynamaya bırakılır. Kökler ile beraber kaynayan su kaynar vaziyette 10 dakika kadar işleme devam edilir. Daha sonra su köklerden ayrılması suretiyle süzülür. İçme seviyesine gelen sudan her gün sabah 1 çay bardağı içilir. Bu işlemler 30 gün kadar tekrar edilir. 10 gün ara verildikten sonra tedaviye tekrar aynı şekilde devam edilir.

3.2.7 Ekstraksiyon Yöntemi

Bir miktar bitki kökü alınıp iyice öğütüldükten sonra toz haline getirildi. Toz haline gelen bitki numunesinden 100 gr alınıp 300 ml bir erlen cam kapta 5 gün boyunca oda şartlarında bırakıldı. Böylece bitki içerisindeki etken maddeler çözücü ortama geçmiş oldu. Daha sonra sıvı kısmı süzgeç kağıdından geçirildi. Süzgeç kağıdından geçen sıvı kısmı evaporatör cihazından 50°C 120 rpm hız koşullar altında sıvı içerisinde çözücüler uzaklaştırıldı. Çözücü uzaklaştıktan sonra kalan son numune ependorf tüp içerisine alınıp, Gt rumuzuyla kodlandıktan sonra cihazda okutulmak üzere +4°C derecede buzdolabında, kullanılmak üzere hazır halde bekletildi.

3.2.8 Hücre Kültürü

3.2.8.1 Besiyerinin Hazırlanması

Hücreleri kültür kaplarında çoğaltmak için gerekli olan kimyasallar Çizelge 3.1'deki miktarlara göre hazırlanmıştır. Besiyeri olarak DMEM (Dulbecco's Modified

Eagle's Medium) kullanıldı. Her hücre hattı için besiyeri ortamı (DMEM-F12 ve RPMI 1640) ayrı ayrı hazırlanarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 Besiyerine eklenen kimyasallar

Besiyeri İçeriği Hacim
DMEM-F12/RPMI 1640 500ml
FBS (Fetal Bovine Serum) 50ml (%10)
Penicillin/Streptomycin (Antibiyotik) 5ml (%1)
L-Glutamine 5ml (%1)

3.2.8.2 Hücrelerin Çözülmesi

Çalışmada ATCC'den temin edilip stokladığımız Çizelge 3.2'de belirtilen hücreler kullanılmıştır. Sıvı azot tankından çıkarılan donmuş haldeki hücreler 37 °C'de çözülerek laminar kabin içerisine alınmıştır. Hücrelerin çoğaltılması için hazır hale getirilen DMEM-F12/RPMI-1640 (Sigma Aldrich, ABD) besiyerine hücreler aktararak 75 cm²'lik flaska 10 ml DMEM-F12/RPMI-1640 besiyeri eklenip 37 °C' de %5 CO₂ ve %95 nemli ortam içeren inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Hücre çoğalması tamamlandıktan sonra deney grupları oluşturmak için ilgili plaklara ekim yapılmıştır. Petri kaplarında yaklaşık %90 yoğunluğa ulaşan hücreler pasajlanarak bir alt kültüre alındı.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan normal ve kanser hücre soyları

Hücre Soy	Kanser-Normal	Histopatolojisi	Besiyer
HGC-27	Mide Kanseri Epitel	Kanser	DMEM-F12
DU-145	Prostat Kanseri Epitel	Kanser	DMEM-F12
PNT1-A	Prostat Normal Epitel	Normal	RPMI-1640
A549	Akciğer Kanseri Epitel	Kanser	RPMI-1640
BEAS-2B	Akciğer normal Epitel	Normal	RPMI-1640
HUVEC	İnsan göbek damarı endotel hücresi	Kanser	RPMI-1640
CACO-2	Kolon Kanseri Epitel	Kanser	RPMI-1640
MCF-7	Meme Kanseri Epitel	Kanser	DMEM-F12
T98-G	Glioblastoma Kanseri Epitel	Kanser	DMEM-F12

3.2.8.3 Hücrelerin Kültüre Alınması

Çalışmada sıvı azotta stokladığımız normal hücre hatları kullanıldı. Çizelge 3.2’de görülen hücre hatları; %10 Fetal Bovine Serum (FBS), 100 µg/mL streptomisin/100 IU/mL penisilin eklenmiştir. DMEM: F- 12 (Gibco) ve RPMI-1640 (Gibco), besiyerinde nemli atmosferde, %5 CO₂, %95 hava içeren inkübatörde 37 °C’de kültüre edildi. Bir gün arayla besi ortamları değişen hücreler pleyt yüzeyini kapladıklarında Trypsin ile yüzeyden kaldırıldılar ve deney setleri oluşturmak üzere kullanıldılar.

3.2.8.4 Hücre Sayımı

İzole edilen periferallenfosit ve kanser hücreleri sitotoksosite, genotoksosite çalışmalarında kullanılmadan önce hücre sayımı thoma lamı adı verilen özel sayım lamalarında yapıldı. Steril santrifüj tüpüne alınan hücre çözeltisi santrifüj işleminden sonra süpernatantı atılarak dibe çöken hücre pelleti besiyeri ile seyreltildi. Vortekslenip homojenize edilen hücre süspansiyonundan 10 µl alındı ve 90 µl Tripan mavisi ile karıştırıldı. Bu karışımdan alınan örnek, hemositometre lamına aktarıldı ve ışık mikroskobu ile 10X büyütmede incelendi. Lamdaki boyanmamış (canlı) hücreler sayılarak hücre süspansiyonunun ml’indeki canlı hücre sayısı belirlendi.

$$\text{Toplam canlı hücre sayısı} = A \times B \times C \times 10^4$$

A = Hücre solüsyonunun hacmi (ml)

B = Dilüsyon faktörü (Tripan mavisi ile)

C = Boyanmamış hücrelerin ortalama sayısı formülü ile hesaplandı.

3.2.8.5 Hücre Kültürü Etken Dozunun Hesaplanması

Mikroplağın her bir kuyucuğunda bulunan ilaç ile muamele edilmiş hücrelerin morfolojileri mikroskobik olarak değerlendirilir. Her bir kuyucuktaki hücreler üzerine MTT ilave edilerek formazan kristallerinin oluşumu gözlenir. Oluşan kristaller DMSO ile çözdürülerek mikro plak ELİSA’da okutulur. ELİSA sonuçlarına göre, hücreli ve hücresiz her bir konsantrasyon için kuyucuklardan okunan değerlerin ortalaması alınır. Hücreli kuyucukların ortalama değeri ile hücresiz kuyucukların ortalama değerlerinin

farkı alınır ve formüle uygulanarak % canlılık hesaplanır. Okunan değerlere göre elde edilen grafiğin eğrisinden kültürün %50'sini enfekte eden doz hesaplanır.

3.2.8.6 Maddelerin Sitotoksik Etkisinin MTT Yöntemi İncelenmesi

Maddelerin Çizelge 3.2'de görülen kanser ve normal hücre hatları üzerindeki sitotoksitesi MTT yöntemi ile ölçüldü. MTT yönteminde, sarı tetrazolium tuzu canlı hücrelerin mitokondrilerindeki dehidrogenaz enzimleri aracılığı ile tetrazolium halkasının kırılması sonucu formazan kristallerine dönüştürülür. Oluşan formazan kristalleri DMSO' da çözülmesi sonucu ortamda oluşan renk, spektrofotometrik yöntemle ölçülür ve ölçülen değer canlı hücrelerin sayısı ile ilişkilidir.

Hücre canlılık testi “Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hücre Kültürü Laboratuvarında American Type Culture Collection (ATCC) ‘den temin edilen HGC-27 (insan mide karsinom), DU-145 (insan prostat karsinom), PNT1-A (insan prostat normal epitel), A549 (insan akciğer karsinom), BEAS-2B (insan akciğer normal epitel), CaCO-2 (insan kolorektal adenokarsinom), MCF-7 (insan meme karsinom), T98-G (insan glioblastoma karsinom) kanser hücre hatları ile sağlıklı HUVEC (İnsan göbek damarı endotel hücresi) hücre hattında gerçekleştirildi.

Hücre serileri RPMI-1640 (Sigma-Aldrich R8758, ABD) içeren T75 kültür flasklarında kültüre alındı. Kullanılan kültür ortamına %10 FBS, 100 U/mL penisilin ve 100 U/mL streptomisin ilave edildi. Hazırlanan kültürler hücre serileri %80-90 konfluense ulaşana kadar %5 CO₂ ortamında ve 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda hücreler tripsin yardımı ile flasklardan alınarak hemositometrik yöntem ile sayıları tespit edildi. Sayım işleminin tamamlanmasının ardından her bir hücre serisinin 96 kuyucuklu plaklara ekimleri yapıldı.

Deney Basamakları

1. İzole edilen hücreler thoma lamında sayıldı. 1×10^4 hücre 100µL süspansiyon içinde 96 kuyulu plaklara ekildi. Her bir parametre için üç ekim yapıldı.
2. Plaklar hücrelerin yapışması ve besi ortamına adaptasyonu için 24 saat inkübatörde bekletildi.

3. Kuyucuklardaki ortamlar atılıp ve yerine 0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 200 µg/ml dozlarında madde konstrasyonları ve pozitif kontrol gurubu olarak da aynı dozlarda 5-florourasil kemoterapik maddeleri içeren deney ortamları ilave edildi.
4. Kemoterapik madde ve madde içermeyen sadece deney ortamı içeren kuyucuklar kör olarak değerlendirildi.
5. Plaklar 24 ve 48 saat inkübatörde bekletildi.
6. Plak kuyucuklarına 10'ar µL MTT işaretleme çözeltisi ilave edildi.
7. Plaklar inkübatörde 4 saat bekletildi.
8. Plak kuyucuklarına 100er µL DMSO ilave edildi
9. Plak kuyucuklarının absorbans değerleri plak okuyucuda 570 nm dalga boyuna karşı okundu.
10. Madde içermeyen kuyucuklardan (kontrol hücreleri) okunan absorbans değeri %100 kabul edildi ve diğer örneklerin absorbanslarından rölatif canlılık değerleri hesaplandı.

3.2.8.7 *Globularia trichosantha* Bitki Ekstraksiyonu ve LC-ESI-MS/MS ile Fitokimyasal Analizi

Bitki materyali oda sıcaklığında karanlıkta kurumaya bırakıldı. Kurutulmuş kısımlar mikser ile toz haline getirilerek ekstraksiyon için hazırlanmıştır. Toz bitkiden bir miktar alındı ve üzerine 200 mL metanol ve kloroform (1:1(v/v)) oranında oda sıcaklığında (25°C) yaklaşık 14 gün bekletildi. Daha sonra bir filtre kâğıdı kullanılarak süzölmüştür. Bu işlem iki sefer posaya uygulandı ve tekrar süzme işlemi yapıldı. Süzülen özütleri tek bir erlende toplandı, bir buharlaştırıcı (Heidolph 94200, Bioblock Scientific) ile buharlaştırılmıştır. Çözücüler tamamen uzaklaştırıldıktan sonra ekstraktlar bir balında toplandı. 50 mg *G. trichosantha* kuru özüt tartıldı ve üzerine %0.1 formik asit içeren 1 ml metanol eklendi. Tam çözünme sağlayana kadar ultrasonikte bekletildi. Bu karışıma 1 ml hekzan ilave edildi, vorteks işleminden sonra 10000rpm 5 dk şartlarında santrifüj yapıldı. Üste kalan hekzan fazı atıldı, altaki fazdan 100µl alındı ve üzerine %0.1 formik asit içeren 1 ml metanol 5mM amonyum format içeren ultra saf suyla dilyüye edildi. Daha sonra bu miks karışım solüsyon 0.45 mm filtrelerden süzölmüş ve LC-ESI-MS/MS analizinden

önce şişelere aktarılmıştır. Ayrıca, aynı ekstraktın bir kısmı da antikanser çalışma için ayrıldı ve analiz süresine kadar -20 C de bekletildi.

3.2.8.8 LC-ESI-MS/MS Enstrümantasyon Koşulları

G. trichosantha bitki ekstresindeki fitokimyasal bileşiklerin nicel analizi için kütle 1260 Infinity II sıvı kromatografiyle entegre Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi sistemi kullanılmıştır. Bileşiklerin kromatografik ayrımı için Poroshell 120 EC-C18 (100 mm 4.6 mm I.D., 2.7 mm) kolonu kullanılmıştır. Mobil faz debisi, kolon sıcaklığı koşulları ve formik asit, amonyum asetat ve asetik asit gibi farklı mobil faz katkı maddeleri, yüksek saflıkta su ve metanol mobil fazlar ile birlikte uygulanarak bileşiklerin ideal ayrılması ve iyonlaşması sağlanmıştır. Bu nedenle kromatografik ayırmada, suda A mobil fazında %0.1 formik asit ve 5 mM amonyum formatın mobil fazları ve metanol B mobil fazında %0.1 formik asit ve 5 mM amonyum format kullanılmıştır. Ayrıca, 0.4 mL/dk akış hızı kullanılarak, B mobilde sırasıyla 1-12 dk %15, 12-30 dk %50, 30-32 dk %90 ve 32-35 dk %10 gradyan programı uygulanmıştır. Kolon sıcaklığı 40°C'de tutulmuş, enjeksiyon hacmi ise 4.0 mL olarak uygulanmıştır (Atalar vd., 2021).

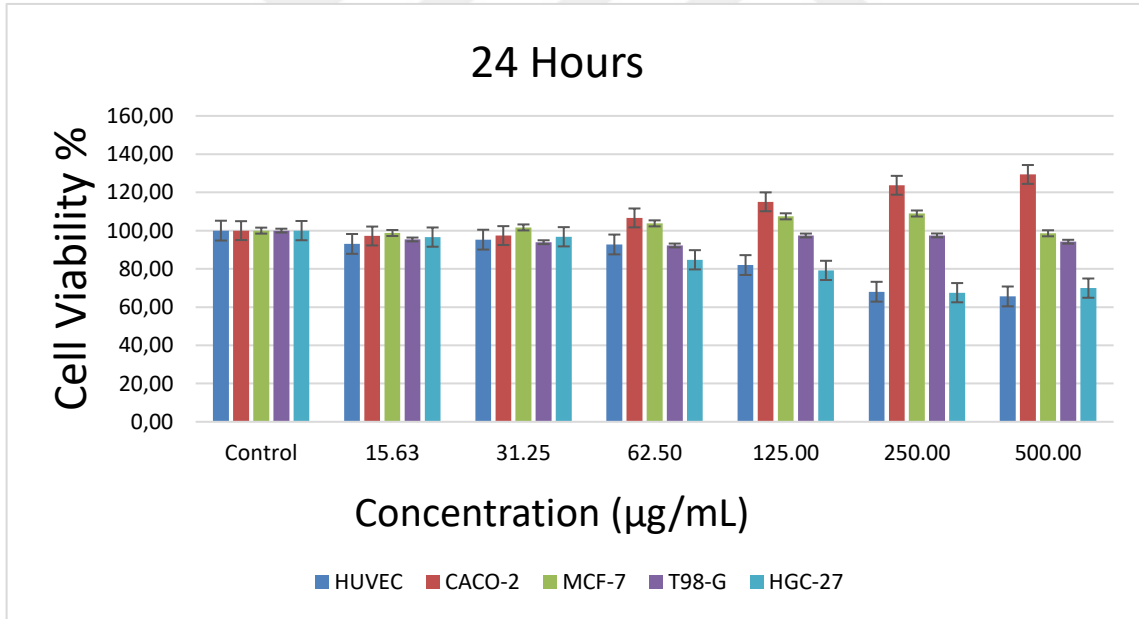
Bileşiklerin kütle/iyon oranını (m/z) belirlemek için hem negatif hem de pozitif iyonizasyon modlarında çalışan bir elektrosprey iyonizasyon (ESI) kaynağı kullanılmıştır. ESI Kaynak parametreleri, tüm bileşiklerin ideal iyonizasyonunu sağlamak ve ideal tepe yoğunluğu noktasına ulaşmak için kılcal voltajda 4000 V'a, nebulize edici gaz (N₂) akışında 8 L/dk'ya, nebulizatör basıncında 35 psi'ye ve gaz sıcaklığında 300°C'ye ayarlanmıştır. Her bir bileşiğin öncü ve ürün iyonları, çarpışma enerjileri ve parçalayıcı voltajı, çoklu reaksiyon izleme (MRM) olarak nicel ölçüm için belirlenmiştir.



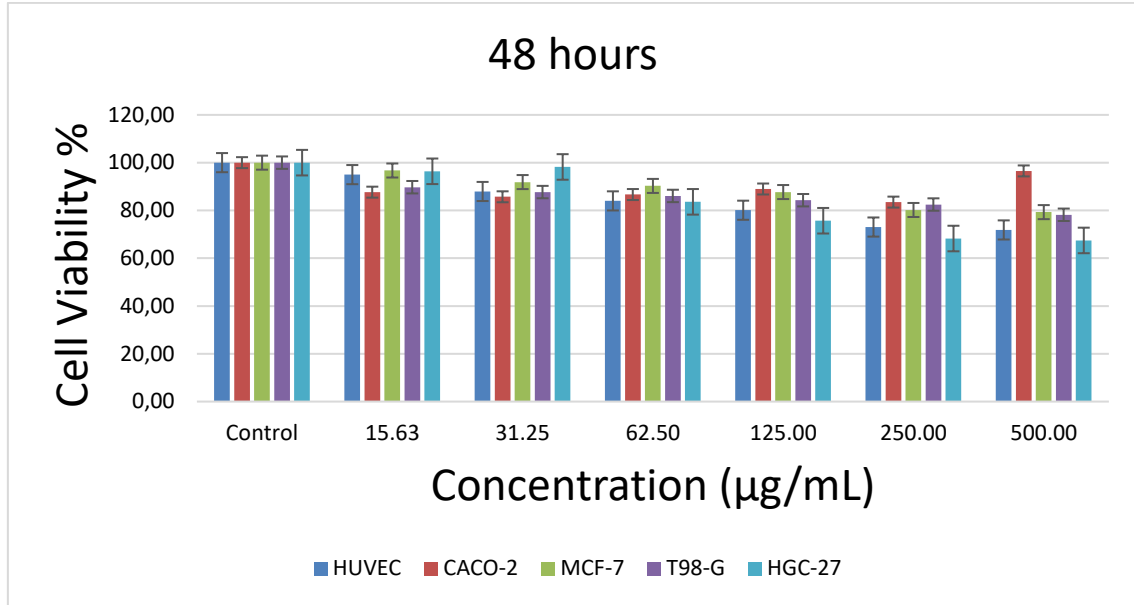
4. BULGULAR

4.1 Birbirinden Farklı Hücre Hatlarına Uygulanan *Globularia trichosantha* Bitkisinin IC₅₀ Sonuçları

G. trichosantha bitki kökünün bire bir oranında metanol ve kloroform içeren çözücü ekstraktı HGC-27, A549/BEAS-2B, DU-145/PNT1-A, HUVEC, CACO-2, MCF-7, T98-G hücre hatlarında 24 ve 48 saatlik canlılık testi yapılmıştır. Farklı doz ve sürelerle bağımlı olarak bitki ekstresinin özellikle yüksek dozlar olan 125.00 µg/ml, 250.00 µg/ml ve 500.00 µg/ml’de belirgin bir şekilde hücre ölümünü gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Yapılan analizlerin neticesinde en uygun dozun 500.00 µg/ml ve en uygun sürenin ise 24 saat olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda daha düşük dozlarda da hücre ölümlerinin olduğu görülmektedir (Şekil 4.1; Şekil 4.2).



Şekil 4.1 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının HUVEC, CACO-2, MCF-7, T98-G ve HGC-27 hücre hatları üzerinde yüzde canlılık grafiği (24 SAAT)



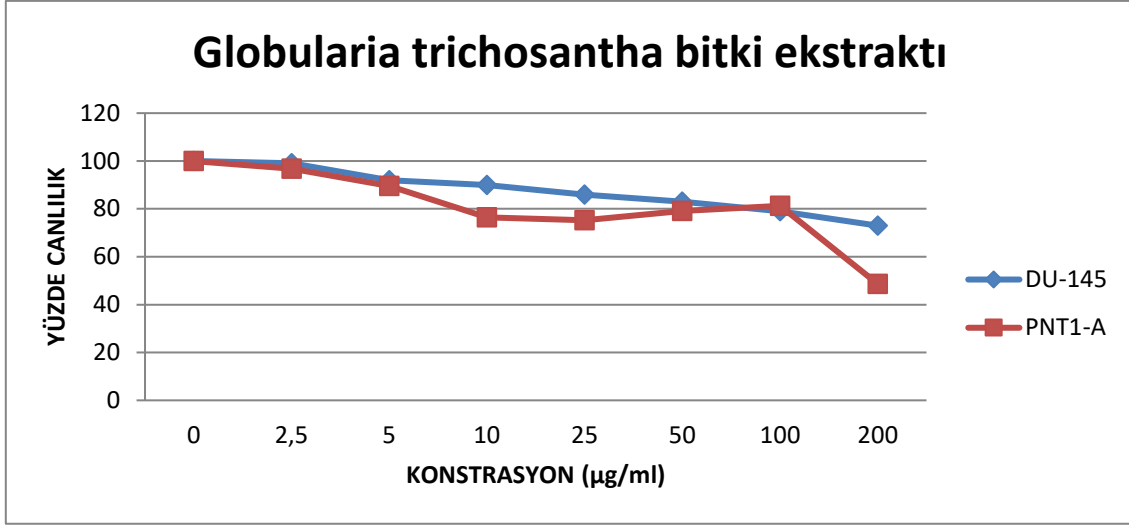
Şekil 4.2 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının HUVEC, CACO-2, MCF-7, T98-G ve HGC-27 hücre hatları üzerinde yüzde canlılık grafiği (48 SAAT)

4.2 A549/BEAS-2B ve DU-145/PNT1-A Hücre Hatlarına Uygulanan *Globularia trichosantha* Bitkisinin IC₅₀ Sonuçları

G. trichosantha bitkisinin bire bir oranında metanol ve kloroform içeren çözücü ekstraktı, A549 (Akciğer Kanseri Epitel) ve BEAS-2B (Akciğer Normal Epitel) hücreler üzerindeki etkisine bakıldığında sitotoksik bir etki göstermediği ve böylece bitkinin bu yöntemle alınan ekstraktının A549 ve BEAS-2B hücreleri üzerinde biyolojik bir aktivitesinin olmadığını tespit ettik (Çizelge 4.1; Şekil 4.3).

Çizelge 4.1 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının A549/BEAS-2B hücre hatlarının IC₅₀ değerleri

Hücre Soyları	A549	BEAS-2B
<i>Globularia trichosantha</i>	195,96	203,58

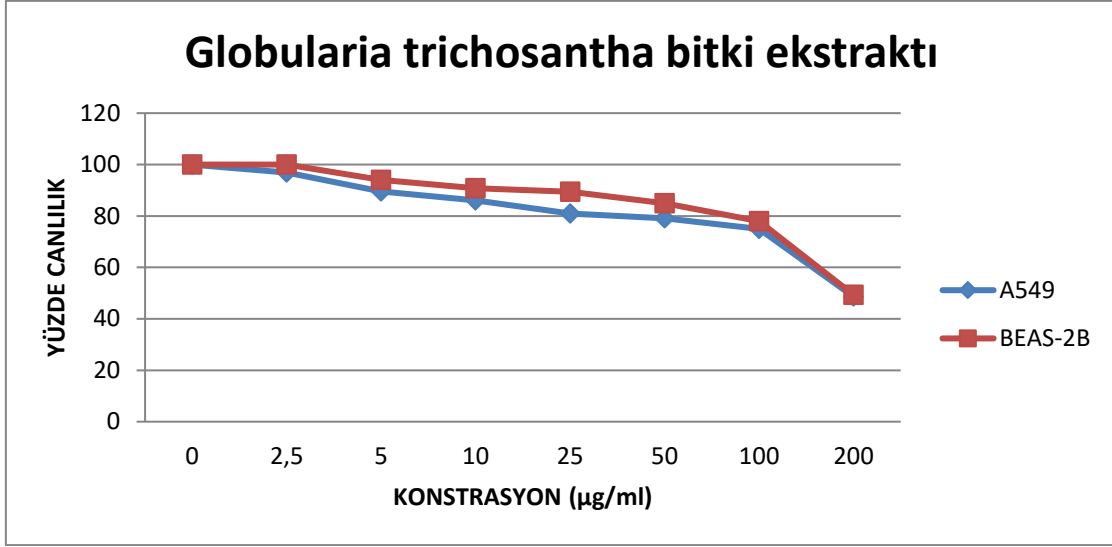


Şekil 4.3 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının DU-145/PNT1-A hücre hatları üzerindeki etki

G. trichosantha bitkisinin bire bir oranında metanol ve kloroform içeren çözücü ekstraktı, DU-145 (Prostat Kanseri Epitel) ve PNT1-A (Prostat Normal Epitel) hücreler üzerindeki etkisine bakıldığında yüksek düzeyli sitotoksik bir etki göstermediği ve böylece bitki türünün bu yöntemle alınan ekstraktının DU-145 ve PNT1-A hücreleri üzerinde anlamlı sayılabilecek düzeyde biyolojik bir aktivitesinin olmadığını tespit edildi (Çizelge 4.2; Şekil 4.4).

Çizelge 4.2 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının DU-145/PNT1-A hücre hatları üzerindeki IC₅₀ değerleri

Hücre Soyları	DU-145	PNT1-A
<i>Globularia trichosantha</i>	369,24	208,20



Şekil 4.4 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının BEAS-2B hücrelerine karşılık A549 hücresi üzerinde yüzde canlılık grafiği

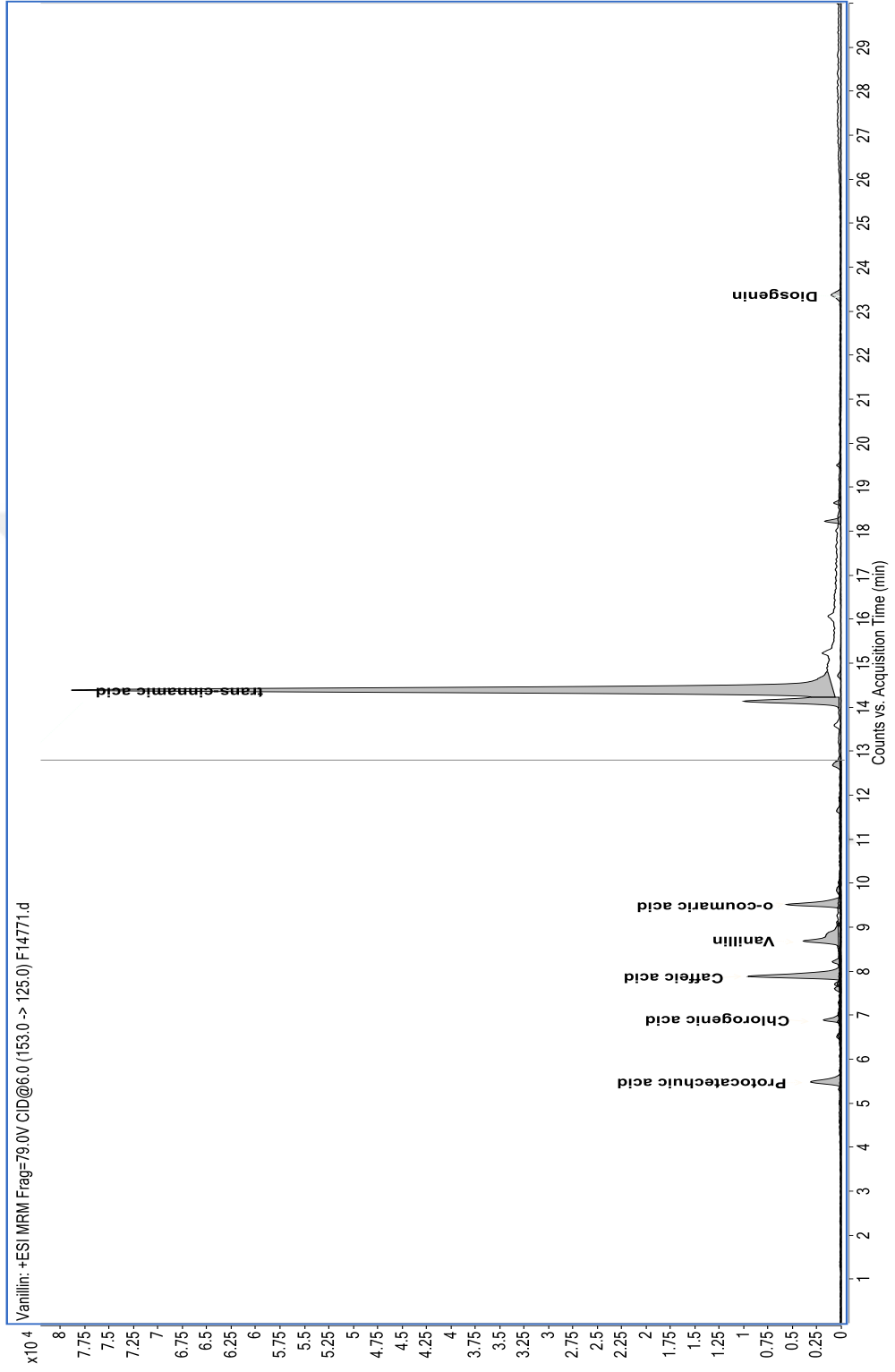
G. trichosantha bitki ekstraktının akciğer kanseri A549 hücresi ve DU-145 (Prostat Kanseri Epitel) hücre hatları üzerinde sitotoksik etkiden söz edebilmemiz için sağlıklı hücrelere kıyasla IC50 değerinin, yaklaşık 5 kat daha yüksek olması beklenmektedir. Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te görüldüğü gibi yüksek dozlarda etkili olduğu görülmektedir fakat bu etkinlik sağlıklı hücrelerde de belirlenmiştir. Bu bağlamda *G. trichosantha* bitkisinin A549 ve DU-145 hücre hatlarının üzerinde mevcut metotla hazırlanan ekstraktının sitotoksik bir etki göstermediğini belirledik. Diğer kanser hücre hatlarında yapılacak çalışmalarla bitkinin biyolojik etkinliği hakkında net bilgiye ulaşılmıştır.

4.3 LC-ESI-MS/MS Sonuçları

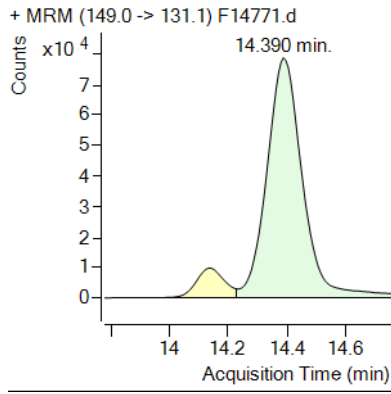
G. trichosantha bitki ekstraktının LC-MS/MS yöntemiyle 45 bileşen analizi yapıldı. Bu fitobileşikler içerisinde, bir gram bitki ekstraktında sırasıyla trans-sinamik asit (2785,6758 ug), Vanillik asit (180,9372 ug), Kafeik asit (168,6931 ug), Sirinjik sit (141,2120 ug), trans-ferulik asit (124,0033 ug), Protokateşik asit (83,1928ug) ve o-kumarik asit (52,6607 ug) yüksek düzeyde bulundu. Ayrıca, düşük düzeyde Klorojenik asit, Hidroksi benzaldehit, Kafein, Vanilin, Salisilik asit, Polidatin, Sinapik asit, p-kumarik asit, Kuersetin-3-ilosit, Kaempferol-3-glukosit, Narinjenin ve Diosjenin tespit edildi (Çizelge 4.1; Şekil 4.5; Şekil 4.6).

Çizelge 4.3 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının LC-MS/MS yöntemiyle analizinde elde edilen bileşikler

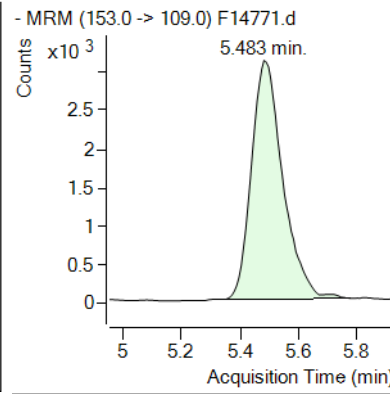
Bileşik	RT	Bileşen(ug)/Globularia trichosantha bitki ekstraktı (g)
Şikimik asit	1,3671	nd
Gallik asit	3,3072	nd
Protokateşik asit	5,4827	83,1928
Epigallokateşin	6,7447	0,3720
Kateşin	6,8490	nd
Klorojenik asit	7,4433	1,8636
Hidroksi benzaldehit	7,7046	7,6193
Vanillik asit	7,8208	180,9372
Kafeik asit	7,8827	168,6931
Sirinjik asit	8,4296	141,2120
Kafeine	8,4586	0,6911
Vanillin	8,6857	31,7866
o-kumarik asit	9,5184	52,6607
Salisilik asit	9,8398	21,0275
Taksifolin	9,7955	nd
Resveratrol	9,7645	nd
Polidatin	9,9515	0,2003
Trans-ferulik asit	10,2132	124,0033
Sinapik asit	10,4865	10,2337
Skutellarin	10,9525	nd
p-kumarik asit	11,6695	6,5132
Kumarin	11,6505	nd
Protokateşik etil ester	11,5745	nd
Hesperidin	11,9529	nd
Izokuersetin	11,7815	nd
Rutin	12,3909	nd
Kuersetin-3-ilosit	12,3710	2,1048
Kaempferol-3-glukosit	13,3330	0,7016
Fisetin	13,1834	nd
Baisalin	13,5102	nd
Krisin	14,2884	nd
Daidzein	14,3726	nd
Trans-sinamik asit	14,3901	2785,6758
Kuersetin	14,8465	nd
Narinjenin	15,1170	4,5540
Silibinin	15,7412	nd
Hesperetin	15,8569	nd
Morin	15,8362	nd
Kaempferol	16,4475	nd
Baisalin	17,1096	nd
Luteolin	17,8838	nd
Biyoşanın A	17,9347	nd
Kapsaiçin	18,2279	nd
Dihidrokapsoiçin	18,6487	nd
Diosjenin	23,3734	16,5152



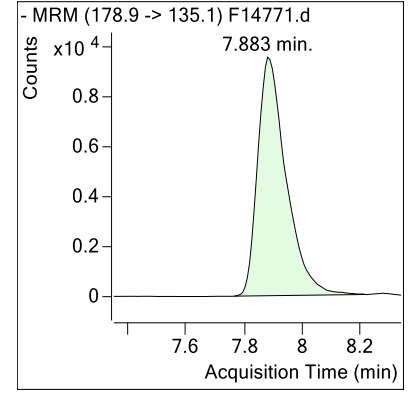
Şekil 4.5 *Globularia trichosantha* bitki ekstraktının LC-MS/MS yöntemiyle analizinde elde edilen bileşiklerin MRM kromatogramı



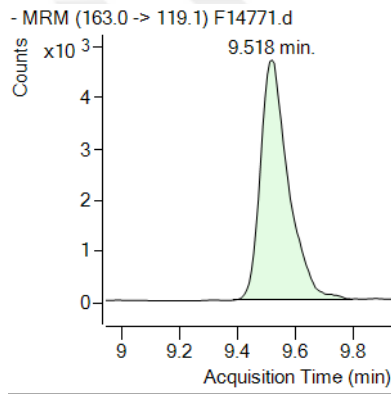
Trans-sinamik asit



Protokateşik acid



Kafeik asit



o-kumarik asit

Şekil 4.6 Trans-sinamik asit, protokateşik asit, kafeik asit, o-kumarik asit MRM kromatogramı



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Etnobotanik çerçevede yapılan çalışmalarda bitkilerin geleneksel olarak halk arasında sıkça birçok amaç doğrultusunda kullanıldığı tespit edilmiştir. Halkın geleneksel olarak atalarından aldıkları bilgiler neticesinde birçok bitkinin halk gözetiminde toplanıp alınması ve bu bitkilerin sistematik olarak bilimsel isimleri ile beraber literatüre kazandırılması oldukça elzem hale gelmiştir. Nitekim bitkilerin gıda, tıbbi, boyar madde, aromatik ve yakacak gibi birçok şekilde kullanımı gün geçtikçe azalmaktadır. Bundan ötürü bitkilerden birçok şekilde faydalanan yaşlı insanların bu bilgileri gelecek nesillere aktarmasının çok önemli olduğu görülmektedir. Alınan bilgilerin literatüre kaydedilmesi ve yüzyıllardan beri kullanım amaçlarının geleneksel olarak kullanımı dışında bilimsel zemine oturtulması gerektiği anlaşılmıştır.

Globularia trichosantha türü Van ili ve çevresinde geleneksel olarak halkın tıbbi anlamda sıkça başvurduğu bitkilerden bir tanesidir. Özellikle bölgede yaygın olan başta mide kanseri olmak üzere diğer kanser türlerinde de halkın kaynatıp suyunu içmek suretiyle kullanımının oldukça fazla olduğu anlaşılmıştır. Kullanılan bitkiden fayda görülmesi, vakaların iyileşmeye yönelik durumlarının artması bitkiye olan ilgiyi ve talebi artırmıştır. *G. trichosantha* türünün literatürde kansere yahut başka hastalıklara yönelik kullanımına rastlanmamıştır. Geleneksel olarak halkın böylesine fayda gördüğü tıbbi bir bitkinin literatüre kazandırılması ve bu amaçla birçok hastalık için yeni hammadde olması Moleküler Biyoloji ve Genetik ile Eczacılık ve Tıp sektörü için büyük bir önem arz etmektedir.

Yapılan ekstraksiyon çalışmalarında *G. trichosantha* türü içerdiği sayıca oldukça fazla ve yoğunluktaki fitokimyasalların tespiti, bu türün tıbbi bitki olma özelliğini daha da artırmıştır. Özellikle yoğunluk olarak diğerlerinden daha fazla ön plana çıkan ‘trans-sinamik asit, protokateşik asit, kafeik asit, o-kumarik asit, vanilik asit ve sirinjik asit’ fitokimyasallarının daha önce birçok tıbbi çalışmada yerini almış oldukları belirlenmiştir. Bu fitokimyasalların başta kanser çeşitleri olmak üzere birçok tedavi yönteminde umut vadeden çalışmalara ön ayak olması çalışılan bitki türünün potansiyelini artırmaktadır.

Trans-sinamik asit ve dimerlerinin meme kanseri hücreleri üzerindeki antineoplastik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kanser hücrelerinin programlı hücre ölümünden biri olan apoptoza ve ‘S’ fazı hücre döngüsünün durmasına sebep olduğu

tespit edilmiştir. Çalışmanın, bizim sonuçlarımızla uyumlu olduğu açıkça görülmektedir (Hunke vd., 2018).

Histon deasetilazların trans-sinamik asit tarafından inhibisyonu ve atimik farelerde kolon kanseri ksenograftlarına karşı antitümör etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, yapılan canlılık testlerinde trans-sinamik asitin birden fazla kanser hücre hattında proliferasyonu inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca yapılan diğer bir test olan western blot analizinde trans-sinamik asitin hücre ölümlerinden biri olan apoptozun gelişimini sağlayan proteinlerin ekspresyonunun arttığı ve apoptozun indüklendiği tespit edilmiştir (Zhu vd., 2016). Bu sonuçlar trans-sinamik asitin kanser hücreleri üzerindeki etkisinin literatürde yer alan çalışmaların bizim yapmış olduğumuz araştırma ile tutarlı olduğunu göstermektedir.

Protokateşik asitin potansiyel kanser kemopreventif aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, epitelyal malignite gelişimine ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere, serbest radikallerin oluşumunun önlenmesi ve antioksidan enzimlerin regülasyonunun artırılması mekanizması ile etki ettiği belirlenmiştir. Ayrıca kanserojenik etkisini de DNA molekülünün doğrudan bloke edilmesi ve bu sayede mutasyonların önlenmesi ile antikarsinojenik etkisinin de olduğu gözlemlenmiştir (Tanaka vd., 2011). Kanser tedavilerinde bu çalışmada görüldüğü gibi bizim yapmış olduğumuz araştırma ile tutarlı olduğunu göstermektedir.

Protokateşik asitin farmakolojik özellikleri ve potansiyel olarak tamamlayıcı tıpta kullanılmasının amaçlandığı bir araştırma neticesinde, antosiyaninin ana metaboliti olan protokateşik asitin, hem in-vitro hücrelerde, hemde sıçanlar ve farelerin kullanıldığı in-vivo deneylerde anti-inflamatuvar anti-hiperglisemik ve anti-apoptotik aktiviteler sergilediği belirlenmiştir. Bunun dışında farklı kanserli dokular üzerinde yapılan denemelerde proapoptotik ve antiproliferatif etki göstererek karsinogenezi inhibe ettiği tespit edilmiştir (Semaming vd., 2015). Kanserli dokunun inhibisyonunda rol alan protokateşik asitin bizim çalışmamızla uyumlu olduğu görülmektedir.

Protokateşik asitin apoptotik etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada, meme, akciğer, karaciğer, serviks ve prostat kanseri hücreleri üzerinde denemeler yapılmıştır. Deneylerin sonuçları ise konsantrasyona bağlı olarak 5 kanser türünün tamamında da hücre canlılığının azaldığını, apoptotik yollarda görev alan enzimlerin aktivasyonunun arttırdığını ve hasarlı DNA fragmentlerinde parçalanmaya neden olduğunu göstermiştir

(Yin vd., 2009). Yapılan çalışmada hücre canlılığının azalmış olması, protokateşik asitin bizim de yaptığımız hücre canlılığı testlerindeki antikanser rolünü göz önüne sermiştir.

Kanserle mücadelede yeni umut olarak görülen kafeik asitin, onkojenik moleküler yolların potansiyel modölatörleri olabileceğine dair yakın zamanda yapılan bir çalışmanın neticesinde, nöroprotektif, hepatoprotektif ve anti-diyabetik etkisinin yanı sıra anti-tümör aktivitesinin de yüksek olması dikkatleri üzerine çekmiştir. Hem in vivo hem de in vitro çalışmalar sonucu kafeik asitin kanserli hücrelerde reaktif oksijen türlerini arttırması suretiyle hücrelerde apoptoz sürecinin başlamasına neden olduğu tespit edilmiştir (Mirzaei vd., 2021). Kafeik asitin göstermiş olduğu etki çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Yapılan bir diğer çalışmada ise kafeik asitin kanser ve nörolojik hastalıklardaki terapötik etkisi incelenmiş, sonuç olarak bileşiğin transkripsiyon ve büyüme faktörlerinin baskılanması yolu ile antioksidan, anti-inflamatuvar, antitümör ve nöroprotektif etkiler dahil olmak üzere birçok tıbbi etkisi belirlenmiştir (Alam vd., 2022). Araştırmanın sonuçları, yapmış olduğumuz çalışmalar ile tutarlıdır.

Ağız kanseri üzerinde kafeik asitin antitümör etkisinin incelendiği bir araştırmada, kanser hücrelerinde hücre döngüsünü durdurması ve programlı hücre ölümü olan apoptozu uyarması ile antikarsinojenik etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir (Yu Kuo vd., 2015). Kafeik asitin göstermiş olduğu bu etki bizim çalışmış olduğumuz kanser türlerinde de aynı sonucu göstermiştir.

Antikanser ve antibakteriyel aktivite ile p-kumarik asit bileşiğinin özel ilişkili olduğunu anlatan bir araştırmada kumarik asit ve farklı formlarının akciğer kanserine karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu moleküler testler ile belirlemiştir (Sathish vd., 2017).

Oksidatif stres kaynaklı hastalıkların önlenmesinde p-kumarik asitin önleyici etkisinin çalışıldığı bir araştırmada yapılan moleküler testler neticesinde bileşiğin, anti-inflamatuvar, antidiyabetik ve bizim de çalışmamızla ilişkili olan antioksidan etki gibi oldukça çeşitli biyoaktiviteye sahip olduğunu belirlenmiştir (Roychoudhury vd., 2021).

Kanserin obezite ile ilişkili olduğunun araştırıldığı bir çalışmada, cilt kanseri üzerinde vanilik asitin etkilerine dair yapılan testlerde bileşiğin kanser hücrelerini baskıladığını ortaya koymuştur (Park vd., 2020). Bu çalışmada olduğu gibi bizim

çalışmamızda da vanilik asitin kanser hücreleri üzerinde baskılayıcı role sahip olduğu görülmüştür.

Kuş üzümü (*Vitis vinifera* L.) ekstraktlarının içeriğindeki en yoğun bileşiğin vanilik asit olduğunu ve bu ekstraktları mide kanseri hücreleri üzerinde deneyen bir çalışmanın neticesinde, başta vanilik asit ve diğer bileşenlerin kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığını ve hücre ölümünü indüklediğini göstermiştir (Kaliora vd., 2008). Görüldüğü üzere bu çalışmada vanilik asitin göstermiş olduğu etki bizim çalışmamızla paralellik göstermiştir.

Vanilik asitin kolon kanseri HCT116 hücre hattındaki denemelerinin anlatıldığı bir araştırmadaki sonuçlarda, bileşiğin anjiogenezi etkili bir biçimde inhibe ettiğini, kanser hücrelerinin G1 fazında durmaya zorladığını ve HCT116 hücrelerinin çoğalmasını engellediğine yönelik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmiştir (Gong vd., 2019). Vanilik asitin tespit edilen bu etkisi bizim kullandığımız hücre hatlarıyla da tutarlı sonuçlar göstermiştir.

Vanilik asitin, İsviçre farelerinde akciğer kanserine karşı koruyucu etkisini araştıran bir çalışmada, kanser hücrelerine karşı yüksek seviyeli önleyici bir etkiye sahip olduğunu ve bunu da serbest radikallere karşı antioksidan aktivite ile gerçekleştirdiğini göstermiştir (Velli vd., 2019).

Sirinjik asitin kolorektal kanser üzerindeki antikanser etkilerini hem in vivo hem de in vitro araştırıldığı bir çalışma sonucunda bileşiğin hücre çoğalmasını ve büyüme faktörlerini inhibe ettiğini ve apoptozu indüklediğini gösteren ilk çalışma olduğunu göstermişlerdir (Mihanfar vd., 2021). Bu çalışma bizim bulgularımızın literatür tarafından desteklendiğini belirten önemli bir referanstır.

Çinko oksit yüklü sirinjik asitin akciğer kanser hücrelerine karşı in vivo ve in vitro terapötik potansiyelinin araştırıldığı bir makalede, bileşiğin farelerde tümör boyutlarında küçülmeye sebep olduğunu ve histolojik olarak iyileşmenin gözlemlendiğini tespit etmiştir (Yang vd., 2023).

Tamarix aucheriana türü ekstraktlarından elde edilen sirinjik asitin kolorektal kanser hücreleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmanın neticesinde, bileşiğin zamana ve doza bağımlı olarak antimitojenik etki gösterdiğini ve apoptozun uyarılmasında rol aldığını göstermişlerdir (Abaza vd., 2013). Bizim de çalışmış

olduğumuz hücre hatlarında sirinjik asitin letal etkiyi yüksek dozlarda göstermiş olması, literatürdeki ilgili araştırmaların çalışmamız ile tutarlı olduğu anlaşılmıştır.

Sonuç olarak *Globularia trichosantha* türü bu bölgede geçmişten günümüze kadar kanser başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde geleneksel olarak halk tarafından sıkça kullanılan bir bitkidir. Bu bitki halk ile birlikte uzman gözetiminde toplanarak herbaryum materyali haline getirilmiş ve nihayetinde ekstraksiyon işlemi ile laboratuvar ortamında kullanılacak hale getirilmiştir. Daha sonra antikanser aktivitesi için kanser hücre hatlarında denenmiş, içerdiği fitokimyasalların çeşitliliği ve yoğunluğunun akciğer ile prostat kanseri hücre hatlarında beklenen etkiyi vermemiştir. Bitkinin bünyesinde barındırdığı fitokimyasallar her bir doku veya organa farklı şekillerde etki etmektedir. Bitki kökünde tespit ettiğimiz bu maddelerin her birinin farklı kimyasal yapıya sahip olması gerek hücre hattında gerekse de doku ve organda farklı etkilerinin olabileceği gerçeğinin göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Buna benzer nedenlerden ötürü bitkinin ilgili fitokimyasallar aracılığı ile kanser hücreleri üzerinde tam bir öldürücü etkiyi yapması birden fazla neden ile ilişkilidir. Dolayısıyla bitkinin ihtiva ettiği bu maddelerin beklenen etkisinin tam olarak anlaşılması, maddelerin her birinin saf bir şekilde elde edilerek kullanımı ile ancak mümkün olabilir. Böyle bir çalışmanın ileride yapılması önerilebilir.

Bitki kökü ekstresi daha sonra 5 ayrı hücre hattında daha denenmeye ihtiyaç duyulmuştur. Bahsi geçen hücre hatları HGC-27, HUVEC, CACO-2, MCF-7 ve T98-G hücre hatlarıdır. 24 saatlik bekleme süresinde 62.50 µg/mL, 125.00 µg/mL, 250.00 µg/mL ve özellikle 500.00 µg/mL yüksek dozlarda beklenen letal etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle daha önce de belirtildiği gibi halkın mide kanseri için kullanımından fayda sağlamış olması nedeniyle mide karsinomu olan HGC-27 hücre hattında denenmiş ve anlamlı kabul edilen öldürücü doza ulaşmış olması kullandığımız bitkinin tıbbi olarak kullanımını teşvik etmektedir. Nitekim etnobotanik çalışmamızda halkın mide kanserinde mevcut bitkiyi kullanması ve iyi neticeler almış olması, bitki türünün daha fazla araştırılmasını gerektirmektedir.

İlerleyen çalışmalarda halkın tıbbi olarak kullandığı bitkilerin üzerine daha fazla eğilmek ve bu bitki kullanımlarını literatüre kazandırmak temel amaçlardan biri olmalıdır. Literatüre kazandırılan her bitki türünün laboratuvar ortamında tıbbi olarak kullanılacak hale getirilmesi gerekmektedir. Nitekim dünyada her geçen gün yeni tanı ve

tedavi yöntemlerinin gelişmesine ihtiyaç duyulduğu yadsınamaz bir gerçektir. Bu bağlamda devletlerin ve büyük şirketlerin buna benzer çalışmalara daha fazla fon ve alanında uzman ekipleri görevlendirmesi ile şu an tedavisi zor gibi görünen birçok hastalığın özellikle de kanser hastalığının daha az maliyetle daha yüksek başarı elde edilen tedaviler için hammadde sağlanmış olacaktır.



KAYNAKLAR

- Abaza, M. S., Al-Attayah, R. A., Bhardwaj, R., Abbadi, G., Koyippally, M., & Afzal, M. (2013). Syringic acid from *Tamarix aucheriana* possesses antimutagenic and chemo-sensitizing activities in human colorectal cancer cells. *Pharmaceutical Biology*, 51(9), 1110-1124.
- Aboujanah, A.A.A. (2019). *Kanser otu (İnula viscosa) ekstraktlarının antimikrobiyal ve dna koruma özelliklerinin belirlenmesi*, Yüksek lisans tezi. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kastamonu, Türkiye.
- Akçiçek, D. (2019). *Haplophyllum buxbaumii bitkisinin kolon kanseri hücreleri üzerindeki antikanser etkisinin incelenmesi*, Yüksek lisans tezi. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye.
- Alam, M., Ahmed, S., Elsbali, A. M., Adnan, M., Alam, S., Hassan, M. I., & Pasupuleti, V. R. (2022). Therapeutic implications of caffeic acid in cancer and neurological diseases. *Frontiers in Oncology*, 12.
- Atalar, M. N., Aras, A., Türkan, F., Barlak, N., Yildiko, Ü., Karatas, O. F., & Alma, M. H. (2021). The effects of *Daucus carota* extract against PC3, PNT1a prostate cells, acetylcholinesterase, glutathione S-transferase, and α -glycosidase; an in vitro-in silico study. *Journal of Food Biochemistry*, 45(12), 13975
- Avşar, M.U. (2015). *Türkiye Globularia L. cinsinde yer alan Globularia alypum O. Schwarz, Globularia orientalis L. ve Globularia trichosantha Fisch & Mey. Ssp. trichosantha taksonlarının karyotip analizi*, Yüksek lisans tezi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir, Türkiye.
- Aydındağ, P. (2018). *Mide kanseri hücre hatlarında vincristine ile indüklenmiş kanser kök hücrelerinin tayini ve ilaç hassasiyetinin belirlenmesi*, Yüksek lisans tezi. Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Aydoğmuş Öztürk, F., 2020. *Ecballium elaterium*'un farklı kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11 (1): 645-653.
- Baday, M. (2013). *Mide kanseri hastalarda xrcc2 ve xrcc3 gen polimorfizmlerinin incelenmesi*, Yüksek lisans tezi. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, Türkiye.
- Balcı, Ş. (2020). *Memelerinde kitle olan hastalarda geleneksel ve tamamlayıcı tıp yöntemlerinin kullanımının değerlendirilmesi*, Tıpta uzmanlık tezi. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.
- Bektaş, T. (2014). *Mide kanseri dizin hücrelerine uygulanan cape'nin biyomarkerlar üzerindeki etkilerinin araştırılması*, Yüksek lisans tezi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa, Türkiye.
- Coşkunırmak, D. (2018). *Diyabetik ayak yarası gelişen hastaların geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarını kullanma durumlarının incelenmesi*, Yüksek lisans tezi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye.
- Çınar, İ. (2018). *Rheum ribes L. bitki ekstrelerinin kolorektal kanser hücre hatlarında antikanserojenik etkisinin araştırılması*, Doktora tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. in Ind. Sem. Horti Petrop (Ed.), *Globularia trichosantha* Fisch. & C.A. Mey. (1839). Vol. 7, pp. 21, Elsevier: Edinburgh, UK.

- Demir, T.D. (2014). *Türkiye’de yayılış gösteren Globularia L. (Globulariaceae) türlerinin tohum morfolojisi etkisi*, Yüksek lisans tezi. Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir, Türkiye.
- Demircan, Z. (2016). *Cerrahi geçiren ve kemoterapi tedavisi alan onkoloji hastalarının bitkisel ürün kullanımı ve etkileyen faktörlerin değerlendirilmesi*, Yüksek lisans tezi. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Demirhan, A. (2021). *Farklı kanser türleri üzerinde endemik Gundelia munzuriensis eksozomlarının anti-kanser etkisi*, Yüksek lisans tezi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, Türkiye.
- Disoma, C. (2016). *Usnea filipendula stirt’in kolon kanseri hücre soyları üzerine sitotoksik aktivitesinin araştırılması*, Yüksek lisans tezi. Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye.
- Erdoğan, M.K. (2016). *HT-29 kolon kanseri hücre hattında bazı bitki ekstraktları ve bitkisel etken maddelerin 5-florouracil (5-fu) ile kombinasyonunun apoptotik yollara ve hücre çoğalmasına etkilerinin araştırılması*, Doktora tezi. Erzurum Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
- Erdoğan, M. K., Ağca, C. A., & Aşkın, H. (2019). İnsan kolorektal kanser hücrelerinde Pistacia eurycarpa ekstraktlarıyla kombine 5-florourasilin artırılmış antiproliferatif ve apoptotik etkileri. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 12(1), 27-38. doi: 10.5505/biodicon.2019.57441
- Gong, J., Zhou, S., & Yang, S. (2019). Vanillic acid suppresses HIF-1 α expression via inhibition of mTOR/p70S6K/4E-BP1 and Raf/MEK/ERK pathways in human colon cancer HCT116 cells. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 465.
- Hunke, M., Martinez, W., Kashyap, A., Bokoskie, T., Pattabiraman, M., & Chandra, S. (2018). Antineoplastic actions of cinnamic acids and their dimers in breast cancer cells: a comparative study. *Anticancer Research*, 38(8), 4469-4474.
- Kaliora, A. C., Kountouri, A. M., Karathanos, V. T., Koumbi, L., Papadopoulos, N. G., & Andrikopoulos, N. K. (2008). Effect of Greek raisins (*Vitis vinifera* L.) from different origins on gastric cancer cell growth. *Nutrition and cancer*, 60(6), 792-799.
- Karabulut, M. (2021). *Öğretmenlerin geleneksel/tamamlayıcı tıp uygulamalarına yönelik tutumu ile sağlık algısı ve sağlık okuryazarlığı arasındaki ilişki*, Tıpta uzmanlık tezi. Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye.
- Kırsoy, H. (2021). *Tıp fakültesi öğrencilerinin geleneksel ve tamamlayıcı tıp konusunda bilgi, tutum ve davranışları*, Tıpta uzmanlık tezi. Fırat Üniversitesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Elâzığ, Türkiye.
- Koca, H.B. (2013). *Prostat kanser hücre kültürü üzerine Acorus calamus bitki ekstraktının etkisi*, Doktora tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye.
- Kuo, Y. Y., Jim, W. T., Su, L. C., Chung, C. J., Lin, C. Y., Huo, C., ... & Chuu, C. P. (2015). Caffeic acid phenethyl ester is a potential therapeutic agent for oral cancer. *International journal of molecular sciences*, 16(5), 10748-10766.
- Mihanfar, A., Darband, S. G., Sadighparvar, S., Kaviani, M., Mirza-Aghazadeh-Attari, M., Yousefi, B., & Majidinia, M. (2021). In vitro and in vivo anticancer

- effects of syringic acid on colorectal cancer: Possible mechanistic view. *Chemico-Biological Interactions*, 337, 109337.
- Mirzaei, S., Gholami, M. H., Zabolian, A., Saleki, H., Farahani, M. V., Hamzehlou, S., & Sethi, G. (2021). Caffeic acid and its derivatives as potential modulators of oncogenic molecular pathways: New hope in the fight against cancer. *Pharmacological Research*, 171, 105759.
- Nişikli, N. (2019). *Yerli turistlerin geleneksel tıp uygulamalarına yönelik algıları: Edirne Sultan II. Bayezid Darüüşşifası*, Yüksek lisans tezi. Kırklareli Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Kırklareli, Türkiye.
- Özdemir, A.A. (2009). *Kronik böbrek hastalarında tamamlayıcı tıp uygulamaları*, Yüksek lisans tezi. Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Özen, F.S. (2020). *Farklı tür bitki ekstraktlarının insan kolon kanser hücrelerinde sitotoksik etkilerinin araştırılması*, Doktora tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
- Özgöçmen, M. (2017). *Linum usitatissimum bitkisinden elde edilen sekoisolarikiresinol diglukosid maddesinin kolon kanseri hücre hatları üzerine etkisi*, Doktora tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye.
- Park, J., Cho, S. Y., Kang, J., Park, W. Y., Lee, S., Jung, Y., ... & Um, J. Y. (2020). Vanillic acid improves comorbidity of cancer and obesity through stat3 regulation in high-fat-diet-induced obese and b16bl6 melanoma-injected mice. *Biomolecules*, 10(8), 1098.
- Roychoudhury, S., Sinha, B., Choudhury, B. P., Jha, N. K., Palit, P., Kundu, S., ... & Kesari, K. K. (2021). Scavenging properties of plant-derived natural biomolecule para-coumaric acid in the prevention of oxidative stress-induced diseases. *Antioxidants*, 10(8), 1205.
- Sarıkaş, A. (2020). *Sympes yöntemiyle kanser hastalarında önemli genlerin saptanması ve kanser türlerinin sınıflandırılması*, Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Sathish, M., Meenakshi, G., Xavier, S., & Sebastian, S. (2017). Conformational stability, TGA, and molecular docking investigations of p-coumaric acid with special relevance to anti-cancer and antibacterial activity. *Acta Physica Polonica A*, 131(6), 1512-1518.
- Semaming, Y., Pannengpetch, P., Chattipakorn, S. C., & Chattipakorn, N. (2015). Pharmacological properties of protocatechuic acid and its potential roles as complementary medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Soltanzadeh, H. (2015). *Satureja khuzestanica metanol, etanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan ve bazı hücre hatları üzerine sitotoksik ve apoptotik etkilerinin incelenmesi*, Doktora tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Şahin, S.S. (2019). *Achille nobilis subsp. neilreichii (ayvadana) bitkisinin deneysel meme kanserinde antineoplastik etkinliğinin incelenmesi*, Yüksek lisans tezi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Tanaka, T., Tanaka, T., & Tanaka, M. (2011). Potential cancer chemopreventive activity of protocatechuic acid. *Journal of Experimental & Clinical Medicine*, 3(1), 27-33.

- Tarançı, Ö. (2014). *Bazı bitki ekstraktlarının kanser hücrelerinde antioksidan, antikanserijenik ve apoptotik etkisinin belirlenmesi*, Yüksek lisans tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Tavşanlı, N. (2021). *Inula viscosa bitki ekstraktının sağlıklı ve kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması*, Yüksek lisans tezi. Bursa Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bursa, Türkiye.
- Tunçel, M.O. (2019). *Haplophyllum ptilostylum bitkisinin antikanser özelliğinin incelenmesi*, Yüksek lisans tezi. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye.
- Ulusoy, S.B. (2020). *Onkoloji hastalarının geleneksel ve tamamlayıcı tıp (getat) yöntemleri hakkındaki tutumlar*, Tıpta uzmanlık tezi. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
- Us Altay, D. (2015). *Deneyisel olarak mide kanseri oluşturulan farelerde irisin hormonu ve bazı kaşektik faktörlerin ekspresyonlarının incelenmesi*, Doktora tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye.
- Uzsoy, M.A. (2019). *Onkoloji polikliniğine başvuran hastalarda tamamlayıcı tıp kullanımı sıklığı ve özel beslenme durumunun belirlenmesi*, Yüksek lisans tezi. Bahçeşehir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Velli, S. K., Sundaram, J., Murugan, M., Balaraman, G., & Thiruvengadam, D. (2019). Protective effect of vanillic acid against benzo (a) pyrene induced lung cancer in Swiss albino mice. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 33(10), e22382.
- Yalçın, A.S., Yılmaz, A.M., Altundağ, E.M., Koçtürk, S. (2017). Kurkumin, Kuersetin ve Çay Kateşinlerinin Anti-Kanser Etkileri. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21: 19-29. doi: 10.12991/marupj.259877
- Yang, N., Qiu, F., Zhu, F., & Qi, L. (2020). Therapeutic potential of zinc oxide-loaded syringic acid against in vitro and in vivo model of lung cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 8249-8260.
- Yassıbaş, E. (2009). *Mide kanseri tanısı konmuş yetişkin bireylerin yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarının değerlendirilmesi*, Yüksek lisans tezi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Yeşil, T. (2021). *KSÜ tıp fakültesi öğrencilerinin geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarına yönelik kullanım, tutum ve bilgi düzeyleri*, Tıpta uzmanlık tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Yin, M. C., Lin, C. C., Wu, H. C., Tsao, S. M., & Hsu, C. K. (2009). Apoptotic effects of protocatechuic acid in human breast, lung, liver, cervix, and prostate cancer cells: potential mechanisms of action. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 6468-6473.
- Zhu, B., Shang, B., Li, Y., & Zhen, Y. (2016). Inhibition of histone deacetylases by trans-cinnamic acid and its antitumor effect against colon cancer xenografts in athymic mice. *Molecular medicine reports*, 13(5), 4159-4166.

ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Abdurrahman CAN

Eğitim Bilgileri

Lisans :
Üniversite : Bingöl Üniversitesi
Fakülte : Fen-Edebiyat Fakültesi
Bölüm : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Mezuniyet Yılı : 2018

Yüksek Lisans :
Üniversite : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Enstitü : Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı : Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Mezuniyet Yılı : 2023

Akademik Yayınlar



VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih 29/05/2023

Tez Başlığı: '*Globularia trichosantha* Fisch. & C.A.Mey. (*Globulariaceae*)'nın
Antikanser Aktivitesinin Araştırılması'

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 57 (Elli yedi) sayfalık kısmına ilişkin, **28/05/2023** tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı % 6 (yüzde altı) dır.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

29/05/2023 ve İmza

Adı Soyadı: Abdurrahman CAN

Öğrenci No: 19910001364

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Statüsü: (X) Yüksek lisans () Doktora

DANIŞMAN
UYGUNDUR

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR