



T.C.

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

MEYAN KOKÜ (*Glycyrrhiza glabra*) VE BİYOAKTİF BİLEŞENİ
OLAN GLİSİRİZİN'İN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RÜMEYSA OLGUN

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi CEREN BAŞKAN

AMASYA
OCAK 2023

T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

MEYAN KOKÜ (*Glycyrrhiza glabra*) VE BİYOAKTİF BİLEŞENİ
OLAN
GLİSİRİZİN' İN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Rümeysa OLGUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Ceren BAŞKAN

AMASYA
ARALIK 2022

RÜMEYSA OLGUN tarafından hazırlanan “**MEYAN KOKÜ (*Glycyrrhiza glabra*) VE BİYOAKTİF BİLEŞENİ OLAN GLİSİRİZİN' İN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Tıp** Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ceren BAŞKAN

Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Başkan: Doç. Dr. Ömer ERTÜRK

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ece Avuloğlu YILMAZ

Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 27/01/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Prof. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü V.



Sevgili aileme

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Rümeysa OLGUN

29/12/2022

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim hayatım sürecinde bana her zaman destek olan, bilgi ve tecrübesiyle beni aydınlatan tez danışmanım canım hocam Dr. Öğr. Ceren Başkan'a,

FMB-BAP 21-0501 Proje No'lu tez projesinin yürütülmesindeki desteklerinden ötürü Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne

Çalışmalarına katkılarından dolayı Prof. Dr. Birsen Aydın Kılıç hocama,

Glycyrrhiza glabra örneğinin toplanmasındaki katkılarından dolayı Dr. Faruk Karahan hocaya,

Lisansüstü eğitimimde bana yol arkadaşlığı yapan Elif Nur Gökçurak'a

Lisansüstü eğitimimde maddi ve manevi her konuda bana destek olan çok sevgili meslektaşım, kuzenim, ablam ve akıl hocam Esra Olgun'a,

Bu süreçte yanımda olup beni destekleyen dostlarıma,

Ve doğduğum günden bugünlere gelmemi sağlayan, her anımda her sıkıntıda yanımda olan, beni sevgiyle büyüten hayattaki en büyük şansım canım aileme; babam Mehmet Olgun'a, annem Arife Olgun'a ve abim Talha Olgun'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------------|
| TEŞEKKÜR | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| TABLolar DİZİNİ | iv |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | iv |
| RESİMLER DİZİNİ | vi |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ | vii |
| ÖZET | ix |
| ABSTRACT | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2.1. Meyan Bitkisinin Genel Özellikleri | 3 |
| 2.2. Meyan Kökünün Biyoaktif Bileşenleri | 5 |
| 2.2.1. Saponin | 6 |
| 2.2.2. Flavonoidler | 6 |
| 2.2.3. Isoflavonlar | 7 |
| 2.3. Farmakolojik Özellikler | 7 |
| 2.3.1. Antimikrobiyal aktivite | 7 |
| 2.3.1.1. Antiviral aktivite | 7 |
| 2.3.1.2. Antibakteriyel aktivite | 8 |
| 2.3.1.3. Antifungal aktivite | 8 |
| 2.3.2. Antioksidan aktivite | 9 |
| 2.3.3. Anti inflamatuvar aktivite | 9 |
| 2.3.4. Anti kanser aktivite | 10 |
| 2.4. Karaciğer | 10 |
| 2.4.1. Karaciğerin görevleri | 12 |
| 2.5. Kanser | 12 |
| 2.5.1. Karaciğer kanseri | 13 |
| 2.5.2. Kanser hücrelerinin özellikleri | 15 |
| 2.6. Kanser ve Apoptoz | 17 |
| 2.6.1. Apoptoz yolları | 18 |
| 2.6.1.1. İntersik yolak | 19 |
| 2.6.1.2. Ekstresik yolak | 20 |

| | |
|---|-----------|
| 3. MATERYAL VE METOD..... | 21 |
| 3.1 Materyal..... | 21 |
| 3.1.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar | 21 |
| 3.1.2. Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar | 21 |
| 3.1.3. Kullanılan besiyeri ve çözeltilerin hazırlanışı | 22 |
| 3.2. Metot..... | 23 |
| 3.2.1. Meyan kökü ve glisirizin örneğinin temini, bitkisel özüt ve glisirizin stoğunun hazırlama şekilleri..... | 23 |
| 3.2.2. Meyan kökü ekstraktı için GC-MS analizi | 24 |
| 3.2.3. Antimikrobiyal aktivite testleri..... | 25 |
| 3.2.3.1. Mikroorganizmalar ve inokülümün hazırlanması | 25 |
| 3.2.3.2. Kuyu difüzyon testi | 26 |
| 3.2.3.3. Mikrodilüsyon testi | 26 |
| 3.2.3.4. Minimum bakteriyosidal ve fungisidal konsantrasyonlarının (MBK, MFK) belirlenmesi | 27 |
| 3.2.4. Antikanser aktivitenin belirlenmesi..... | 27 |
| 3.2.4.1. Hücre kültürü ve kültür şartlarının hazırlanması | 27 |
| 3.2.4.2. MTT testi ile sitotoksitenin belirlenmesi..... | 27 |
| 3.2.5. DNA interaksiyon çalışmaları | 29 |
| 4. BULGULAR..... | 30 |
| 4.1. G. glabra Ekstraktı için Gc-Ms Analizi..... | 30 |
| 4.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi..... | 32 |
| 4.3. Sitotoksiste Testi | 35 |
| 4.4. DNA interaksiyon çalışmaları | 37 |
| 5. TARTIŞMA | 39 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 44 |
| KAYNAKLAR..... | 45 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 56 |

TABLULAR DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan GC-MS cihazının özellikleri | 25 |
| Tablo 4.1. Ekstraktların GC-MS sonuçlarına göre biyoaktif bileşenleri ve oranları..... | 31 |
| Tablo 4.2. Kuyu difüzyon testi sonuçları (mm, mean±std) | 33 |
| Tablo 4.3. Minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/mL)..... | 34 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1. Glycyrrhizin'in kimyasal yapısı..... | 6 |
| Şekil 2.2. Karaciğerin segmentleri | 11 |
| Şekil 2.3. İntrinsik ve ekstrinsik apoptotik yollar..... | 19 |
| Şekil 4.1. <i>G. glabra</i> ekstraktlarının biyoaktif bileşenlerinin GC-MS sonucu elde edilen kromatogram..... | 30 |
| Şekil 4.2. <i>G. glabra</i> ekstraktlarının Hep G2 hücre hattı üzerindeki sitotoksitesinin MTT testi sonuçları | 35 |
| Şekil 4.3. Glisirizinin Hep G2 hücre hattı üzerinde sitotoksitesinin MTT testi sonuçları | 36 |

RESİMLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Resim 2.1. <i>G. glabra</i> ' ya ait yaprak, çiçek ve kök yapısı..... | 4 |
| Resim 3.1. <i>G. glabra</i> örneğinin elde edildiği lokalite | 23 |
| Resim 3.2. Ekstraksiyon sonrası elde edilen <i>G. glabra</i> örneğinin etanol özütü ve evaporatör ile uzaklaştırma işlemi..... | 24 |
| Resim 3.3. Tez çalışmasında kullanılan saf Glisirizin..... | 24 |
| Resim 3.4. Çalışmanın gerçekleştirildiği GC-MS cihazı..... | 25 |
| Resim 3.5. Hazırlanan MTT plağı | 28 |
| Resim 3.6. Çalışmada ölçümlerin yapıldığı multiplaka okuyucu..... | 28 |
| Resim 3.7. Çalışmada kullanılan jel elektroforezi..... | 29 |
| Resim 4.1. <i>G. glabra</i> özütlerine ait kuyu difüzyon sonuçları..... | 32 |
| Resim 4.2. Çalışmada kullanılan mikrodilüsyon testi | 33 |
| Resim 4.3. Çalışma sonrası <i>G. glabra</i> ekstraktı ile muamele edilen Hep G2 hücrelerinin ters faz mikroskopik görüntüleri..... | 36 |
| Resim 4.4. Çalışma sonrası glisirizin ile muamele edilen Hep G2 hücrelerinin ters faz mikroskopik görüntüleri..... | 37 |
| Resim 4.5. pBR322 plazmit DNA ve farklı ekstrakt konsantrasyonlarının etkileşiminin agaroz jel elektroforez modeli..... | 38 |

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| Simgeler | Açıklamalar |
|-----------------|-----------------------|
| °C | Santigrat derece |
| Cm | Santimetre |
| g | Gram |
| kg | Kilogram |
| L | Litre |
| M | Molar |
| m | Metre |
| mm | Milimetre |
| µg | Mikrogram |
| mL | Mililitre |
| mM | Milimolar |
| ng | Nanogram |
| rpm | Revolution per minute |
| U | Unit |
| µg | Mikrogram |
| µM | Mikromolar |
| µL | Mikrolitre |

| Kısaltmalar | Açıklamalar |
|--------------------|--|
| ATCC | Amerikan kültür koleksiyonu |
| BHI | Brain heart infusion broth |
| CFU | Koloni oluşturan birim |
| CLSI | Clinical laboratory standart institute |
| DMEM | Dulbecco's Modified Eagle Medium |

| | |
|------------------------|--|
| DMSO | Dimetil sülfoksit |
| DSÖ | Dünya Sağlık Örgütü |
| EDTA | Etilendiamintetra asetikasit |
| GC-MS | Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi |
| Hep G2 | Hepatosellüler karsinom hücreleri |
| IC₅₀ | %50 olan inhibitör konsantrasyonu |
| MHA | Mueller Hinton agar |
| MHB | Mueller Hinton broth |
| MİK | Minimum inhibisyon konsantrasyonu |
| MTT | (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide) |
| TBE | Trizma base, Borik asit, EDTA |
| TE | Tris, EDTA |
| TSA | Triptik soy agar |
| SDA | Sabouraud Dekstroz agar |
| SDB | Sabouraud Dekstroz broth |
| WEF | The World Economic Forum |
| WHO | World Health Organization |

ÖZET

MEYAN KOKÜ (*Glycyrrhiza glabra*) ve BİYOAKTİF BİLEŞENİ OLAN GLİSİRİZİN'İN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Rümeysa Olgun

Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, Aralık/2022
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ceren Başkan

Fabaceae familyasına ait olan *Glycyrrhiza glabra* (*G. glabra*, Meyan), çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı dünya çapında bilinen tıbbi bitkilerden biridir. Önemli biyoaktif bileşeni olan Glisirizin, bitkisel ilaç ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sebeple çalışmada *G. glabra*'ya ait kök özütünün ve biyoaktif bileşeni olan glisirizinin antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak Hatay ilinden elde edilen *G. glabra* örneğinden sokslet cihazı kullanılarak 8 saat boyunca etanol ile özüt elde edilmiştir. İkinci olarak elde edilen özütün kimyasal kompozisyonu Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC-MS) kullanılarak belirlenmiştir. Üçüncü olarak *G. glabra* özütü ve biyoaktif bileşeni olan glisirizinin antimikrobiyal aktivitesi Gram-pozitif (*Streptococcus mutans* ATCC®35668, *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Bacillus cereus* ATCC®7064, *Bacillus subtilis* ATCC®6633, *Listeria monocytogenes* ATCC®7677) ve Gram-negatif (*Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC®13076, *Citrobacter freundii* ATCC®43864, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853) bakteri ve maya'ya (*Candida albicans* ATCC®10231) karşı kuyu difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak test edilmiştir. Son olarak, *G. glabra* özütü ve glisirizinin sitotoksik aktivitesi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. GC-MS sonuçlarına göre *G. glabra* bitkisinin kimyasal içeriğinde 28 bileşen tanımlanmıştır. En yüksek % alana sahip farmakolojik açıdan önemli olan bileşenler 2,8-Dimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta (18.59) ve Thiophene (16.58) olarak tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre, *G. glabra* özütünün Gram pozitif bakterilerden *L. monocytogenes* (20,66 ±1,15), *S. mutans* (19,66±1,52, 125 µg/mL) üzerinde önemli bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Gram negatif bakteriler arasında ise etkili *S. Enteritidis* (16,66 ± 0,57, 500 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. MTT sonucuna göre ise *G. glabra* özütünün insan karaciğer karsinoma (Hep G2) hücre hattı üzerinde sitotoksik etki göstermiş olup IC₅₀ değeri 250 µg/mL, glisirizinin ise 50 µM olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları *G. glabra*'nın *In vivo* çalışmalar ile desteklenerek alternatif amaçlı kullanılma potansiyeline sahip olabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, GC-MS, Glisirizin, *Glycyrrhiza glabra*
Hep G2 hücre hattı, MTT

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITIES OF LICORICE ROOT (GLYCYRRHIZA GLABRA) AND ITS BIOACTIVE COMPONENT GLYCIRIZINE

Rümeysa Olgun

Amasya University, Institute of Health Sciences

Department of Molecular Medicine, MSc, December/2022

Advisor: Assist. Prof. Ceren Başkan

Glycyrrhiza glabra (*G. glabra*, Licorice), belonging to the Fabaceae family, is one of the worldwide known medicinal plants due to its various biological and pharmacological properties. Its important bioactive component, glycyrrhizin, is widely used in herbal medicine and food industry. For this reason, it was aimed to determine the antimicrobial and cytotoxic activity of the root extract of *G. glabra* and its bioactive component, glycyrrhizin. For this purpose, firstly, the *G. glabra* sample obtained from Hatay Province was extracted with ethanol for 8 hours by using a soxhlet apparatus. Secondly, the chemical composition of the obtained extract was determined using Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC-MS). Third, the antimicrobial activity of *G. glabra* extract and its bioactive component, glycyrrhizin, were tested against Gram-positive (*Streptococcus mutans* ATCC®35668, *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Bacillus cereus* ATCC®7064, *Bacillus subtilis* ATCC®6633, *Listeria monocytogenes* ATCC®7677), Gram-negative (*Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC®13076, *Citrobacter freundii* ATCC®43864, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853) bacteria and yeast (*Candida albicans* ATCC®10231) using well diffusion and microdilution methods. Finally, the cytotoxic activity of *G. glabra* extract and glycyrrhizin was determined by MTT method. According to the GC-MS results, 28 components were identified in the chemical content of the *G. glabra* plant. The pharmacologically important components with the highest % area was determined as 2,8-Dimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta (18.59) and Thiophene (16.58). According to the antimicrobial activity results, it was determined that the *G. glabra* extract had a significant antimicrobial activity on Gram-positive bacteria *L. monocytogenes* (20,66 ±1,15) and *S. mutans* (19.66±1.52, 125 µg/mL). *S. Enteritidis* (16.66 ± 0.57, 500 µg/mL) was found to be the most effective among Gram-negative bacteria. According to MTT results, *G. glabra* extract showed cytotoxic effect on human liver carcinoma (Hep G2) cell line, and its IC₅₀ value was 250 µg/mL and glycyrrhizin was 50 µM. The results of this study showed that *G. glabra* may have the potential to be used for alternative purposes, supported by *In vivo* studies.

Keywords: Antimicrobial activity, GC-MS, *Glycyrrhiza glabra*, Glycyrrhizin
Hep G2 cell line, MTT

1. GİRİŞ

İnsanoğlu varoluşundan günümüze kadar geçen sürede gıda, giysi ve barınma gibi vazgeçilmez temel ihtiyaçları için bitkilere ve doğaya başvurmuştur. En önemlisi çeşitli hastalıklarla mücadele için tıbbi ve aromatik özellikteki bitkilerin farklı kısımlarından kür, merhem, balsam yaparak ilaç ve ilaç ham maddesi olarak yararlanmıştır. Deneme yanılma ile kullanılan bu bitkiler kuşaktan kuşağa aktarılmıştır [1]. 1900'lü yıllarda modern tıbbın gelişmesiyle tıbbi ve aromatik özellikteki bu bitkiler yerini büyük ölçüde sentetik ilaçlara bırakmıştır [2].

Alexander Fleming tarafından 1928 yılında tesadüfen penisilin antibiyotiğinin keşfiyle enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yeni bir dönem açılmıştır. 1950'lere kadar penisilin yaygın bir şekilde kullanılmış ve sonraki yıllarda yeni doğal antibiyotiklerin yanı sıra sentetik antibiyotikler de üretilmiştir. Hücre duvar sentezinin inhibisyonu, sitoplazma zarının işlev ve yapısının bozulması, protein sentezinin inhibisyonu, nükleik asit sentez ve işlevlerinin bozulması, kimyasal yapısındaki benzerliklerle metabolizmalarının bozulması gibi 5 farklı mekanizmalarla mikroorganizmalar üzerinde etkili olan antibiyotikler mucizevi ilaç olarak kabul edilmiştir. Fakat antibiyotiklerin, yoğun ve bilinçsiz olarak kullanılması sonucu ise mikroorganizmalarda oluşan kromozomal değişiklikler, plazmitler veya transpozon gibi mekanizmalar nedeniyle antibiyotiklere dirençli organizmalar ortaya çıkmıştır. Mikroorganizmaların kazandığı farklı direnç mekanizmaları, ilk zamanlar etkili olan antibiyotik gruplarının bir süre sonra etkisini yitirmesine neden olmuştur. Bu durum 1970'lerden sonra *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp. gibi hastane enfeksiyonlarına sebep olan patojenlerde çoklu ilaç direncinin gelişmesine yol açmıştır. Dolayısıyla hastane kaynaklı enfeksiyonlar tedavisi zor, mortalitesi yüksek hale gelmiştir [3-5].

Antibiyotik direnç sorunu yalnızca Türkiye ile sınırlı değil, küresel bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporunda, solunum yolu enfeksiyonları, ishal, menenjit, frengi, gonore ve tüberküloz gibi dünya çapında ölümcül bulaşıcı bakteriyel enfeksiyonların çoğuna neden olan bakteriyel enfeksiyonlarda antimikrobiyal direncin yaygın olduğu bildirilmiştir [6]. Antibiyotik direncinin yanı sıra sentetik kimyasallardan kaynaklanan yan etkilerin anlaşılması ile günümüzde araştırmacılar yan etkisi olmayan yeni doğal moleküllerin arayışına girmiştir. Günümüzde alternatif tedavi arayışları içerisinde yeniden bitkisel ürünlerden yararlanılmaya

başlanmıştır. Özellikle bitkilerdeki antimikrobiyal etkinin birden fazla bileşenden kaynaklandığı anlaşılmıştır. Bu durum ise tek bileşenden oluşan antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştiren bakterilerin birden fazla bileşen karşısında direnç geliştirememesi açısından önemlidir. Ayrıca ucuz olması, doğada kolaylıkla bulunması, yan etkilerinin az olması gibi nedenler bitkilerin önemli bir alternatif kaynak olmasını sağlamaktadır [7].

Ülkemiz coğrafi konumu itibarıyla; orta kuşakta bulunması, Avrupa ve Asya kıtalarının kesişim noktasında yer alması nedeniyle zengin bitki çeşitliliğine ev sahipliği yapmaktadır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ve Akdeniz Bölgesi'nde yetişen ve doğada yaygın olarak bulunan bir bitki olan *Glycyrrhiza glabra* (*G. glabra*, Meyan), geçmişte olduğu gibi günümüzde de hala çeşitli hastalıkların tedavisinde alternatif olarak kullanılan bitkilerden bir tanesidir. Ana maddesi glisirizin olan, baklagiller ailesinde yer alan ve yaklaşık 120–150 cm'e kadar uzayabilen çok yıllık çalı formunda olan bir bitkidir. İçeriğinde bulunan flavonoidler sayesinde antioksidan aktiviteye sahip olmasının yanı sıra, yapılan çalışmalar meyan kökünün; antibakteriyal, antiviral, antiülserojenik, hepatoprotektif ve antitümör etkiye sahip olduğunu göstermiştir [8-10].

Bu çalışmada, meyan kökü ve biyoaktif bileşeni olan glisirizinin antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitesi belirlenmiştir. Meyan kökünün etanol ekstraktlarının kimyasal kompozisyonu ise GC-MS cihazı ile tayin edilmiştir. Ayrıca, *G. glabra* ekstraktlarının ve glisirizinin hidroksil radikal aracılı plazmit DNA hasarı üzerindeki koruyucu etkisini araştırmak amacıyla jel elektroforezi yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile *G. glabra* bitkisinin ve biyoaktif bileşeni olan glisirizinin ileride yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meyan Bitkisinin Genel Özellikleri

Çiçekli bitkiler (Angiospermae) arasında, Asteraceae'den sonra ikinci en büyük familya olan Leguminosae (Fabaceae, baklagiller) familyasına ait olan *Glycyrrhiza* cinsi çok yıllık otsu bir bitkidir. Latince karşılığı olarak tatlı (glukos) ve kök (rhiza) olduğu için bu cinse *Glycyrrhiza* adı verilmiştir. *Glycyrrhiza* cinsinin dünya da 12 türü, Türkiye'de ise 6 taksonla varlığı belirtilmiştir.

Bu cinsin taksonomik yeri ve Türkiye'de yayılış gösteren bazı taksonları aşağıda belirtilmiştir [11-14].

Alem: Plantae

Şube: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Fabales

Aile: Fabaceae (Baklagiller)

Cins: *Glycyrrhiza*

A. Yapraklar 2-4 çift yaprakçıktan oluşmuş

2. Çiçekler sarı; legüme yaklaşık 4×1,5 cm, oblong *asymmetrica*

2. Çiçekler eflatun veya kırmızı leylak ve beyaz olmak üzere iki renkli, legüme yaklaşık 15-30×0,3 cm

3. Çiçek durumu 2-5 (-6) cm; standart 14-17 mm *aspera*

3. Çiçek durumu 7-10 cm; standart 18-20 mm *iconica*

B. Yapraklar 4-9 çift yaprakçıktan oluşmuş

4. Çiçek durumu 2-5 cm; sıkı, korolla 5-7 mm; legüme sık sert dikenli *echinata*

4. Çiçek durumu 5-15 cm; gevşek, korolla 9-18 mm; legüme pürüzsüz veya glandulara

5. Korolla mavimsi, 9-11 mm; meyve düz yuvarlak, yaklaşık 2×0.5 cm *glabra*

5. Korolla sarı, 12-18 mm; meyve yassı, yaklaşık 4×1 cm *flavescens*

Bu türler arasında *Glycyrrhiza glabra* (*G. glabra*, meyan, Licorice) tıbbi ve endüstriyel yönden en çok kullanılan meyan türünü oluşturmaktadır. Resim 2.1’de *G. glabra*’ya ait yaprak, çiçek ve kök yapısı gösterilmiştir. *G. glabra* bazı morfolojik özellikleri bakımından incelendiğinde 1- 1,5 m yüksekliğe kadar uzanan, 7 ile 15 cm uzunluğunda yaprakları olan tipik çok yıllık mor ve mavi renkte çiçeklere sahip olan bir bitkidir. Farklı büyüklükte ve şekilsel olarak farklı petal yapısına sahiptir. Büyük ve dik bir şekilde üstte bulunan petal bayrakçık adını alır, iki yanda da bulunduğu için kanat şeklinde olan petal kanatçık adını alır, altta birleşik şekilde bulunan petal ise kayıkçık olarak adlandırılır. Meyveleri düz salgı tüylü veya dikenli legümenli olup, 2 ile 3 cm uzunluğunda ve düz yuvarlak veya iki yana doğru sıkıştırılmış birkaç tohum içeren bir baklagildir. Ülkemizde yaygın olarak bulunan bu türün tüysüz (var. *glabra*) tüylü (var. *glandulifera*) meyveleri olan iki varyetesi bulunur [11-13, 15].



Resim 2.1. *G. glabra*’ya ait yaprak, çiçek ve kök yapısı

G. glabra Anadolu da Süs, Buyan, Biyam, Boyam, Piyam [16] Avrupa’da Licorice, Reglisse [17], Hindistan’da Yashimadhu, Çin de Ganco ve Japonya’da Kanzo [18] gibi farklı isimlere sahip olduğu bilinmektedir. Yunanistan, İspanya, Irak, Türkiye, Kafkasya, Rusya ve Kuzey Çin’e özgü olan *G. glabra* başta Akdeniz ülkeleri olmak üzere subtropikal iklim ve sıcak ılıman iklim bölgelerinde yayılış göstermektedir [19]. *G. glabra* ülkemizde Güneydoğu ve Akdeniz bölgelerinde; Adana, Gaziantep, Konya illerinde yetişen bir türdür [8, 20]. Ayrıca Hatay ilinin Kırıkhan ilçesinde ve Amik ovasında da yaygın olarak yetişmektedir [21].

G. glabra'nın geleneksel tüketimde yaygın olarak kullanılan kısımları kök ve rizomlarıdır. *G. glabra* bitkisinin köklerine meyan kökü denir ve dünyada önemli bir yere sahiptir. Yaklaşık olarak 1,5 cm uzunluğunda olan kökleri, yatay şekilde uzanan 1,25 cm boyutunda yardımcı köklere bölünür. Yardımcı kökler ise uzayarak 8 m'ye kadar ulaşabilir [22, 23]. Eylül aylarında topraktan çıkarılan kökler yıkanıp kesilerek kurutulur. Kabukları soyularak ya da soyulmadan kullanılabilir. Karakteristik koku ve tada sahiptir. Kabukların dışı koyu veya açık kahve içi sarımsı renkte olan bu köklerin ana bileşeni, bir triterpenoid saponin olan glisirizindir. Meyan kökü kuru ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturan Glisirizin, sakarozdan neredeyse 50 kat daha tatlıdır [15, 24].

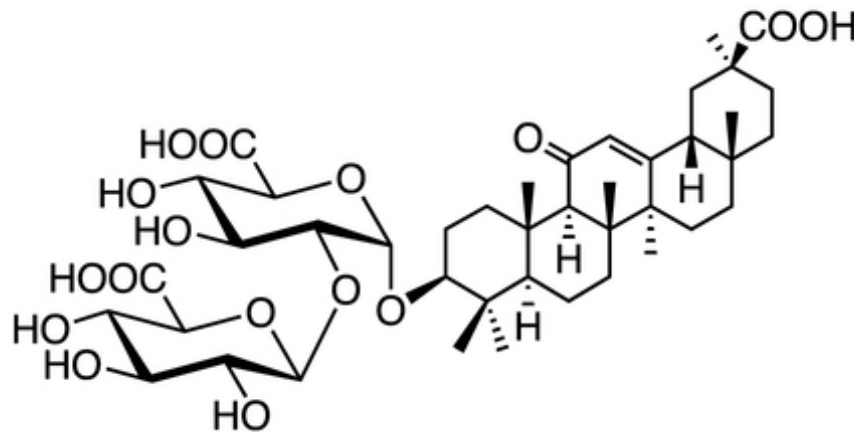
Zengin biyoaktif bileşenlerine sahip olması ile *G. glabra* 4000 yıldan fazla bir süredir alternatif tıpta kullanılan çok sayıda geleneksel formülde bulunan bir bitkidir [25, 26]. Yunan kaynakları, Avrupa'da meyan kökünün ilk defa yatıştırıcı olarak kullanıldığını göstermektedir [25]. Meyan kökü hem Doğu tıbbında hem Batı tıbbında soğuk algınlığından karaciğer hastalığına kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır [27]. Meyan kökünün antibakteriyel, anti inflamatuvar ve bağışıklık güçlendirici gibi çeşitli faydalı etkileri vardır [28]. *G. glabra*'nın rizomlarının ve köklerinin, birçok sindirim sistemi rahatsızlığının (örneğin mide ülseri, hiperdipsi, şişkinlik ve kolik), solunum yolu rahatsızlıklarının (örneğin öksürük, astım, bademcik iltihabı ve boğaz ağrısı), karaciğer hastalıklarının tedavisinde ve epilepsi, ateş, cinsel güçsüzlük, felç, romatizma, sedef hastalığı, prostat kanseri, sıtma ve hemorajik hastalıklar gibi rahatsızlıkların tedavisinde olumlu etkileri vardır [29].

2.2. Meyan Kökünün Biyoaktif Bileşenleri

G. glabra'nın kök kısımlarından çok sayıda bileşen izole edilmektedir. Kuru ağırlığının yüzde 40-50'si suda çözünen biyolojik olarak aktif kompleksten oluşmaktadır [30]. Nişastalar (%30), triterpenoidler (glisirizik asit gibi), kumarinler (glisikumarin, gliserin ve glisrol gibi), flavonlar (liquiritin ve liquiritigenin gibi), kalkonlar (isoliquiritigenin ve licochalcone A gibi), izoflavonlar (örneğin glabridin olarak), stilbenoidlerdir pektinler, polisakkaritler, basit şekerler, zamklar, müsilaj (Rizom), amino asitler, mineral tuzlar, asparaginler, kadınlık hormonu östrojen, tanenler, glikozitler, protein, reçineler, steroller, uçucu yağlar ve diğer çeşitli maddeler bu kompleksin bileşenleridir [31, 32]. Glisirizik asit normalde biyolojik olarak aktif ana bileşen olarak kabul edilir [15, 33].

2.2.1. Saponin

Saponinler, karasal yüksek bitkilerde yaygın olarak bulunan glikozitlerdir [34]. Meyan kökü, çoğunlukla Glisirizin olmak üzere triterpenoid saponinler içerir (Şekil 2.1) Glisirizin, glisirizik asid olarak bilinen (Ca) ve potasyum (K) tuzlarından oluşmaktadır [35]. Mevcut diğer triterpenler, liquiritik asit, glisirretol, glabrolid, izoglabrolid ve meyan asididir. Glisirizin gıda endüstrisinde tatlandırıcılarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [19, 33]. Saponinlerin köpürme ve emülsifiye edici özellikleri vardır [35]. Bağışıklığı ve hafızayı güçlendirici etkisinin yanı sıra antikanser ve yorgunluk önleyici özelliklere sahiptir. Saponinlerin antikanser özelliklerinin temeli hücre hapsini ve apoptozu indükleyerek Ca^{2+} homeostazını yok etmesine bağlıdır. Ayrıca hücreleri iskemi ve hipoksinin neden olduğu hasarlardan koruyabilirler [34]. Bir saponin olan glisirizin, mevcut COVID-19 pandemisinde anti-koronavirüs özellikleri için de araştırılmıştır [36].



Şekil 2.1. Glisirizin'in kimyasal yapısı [37].

2.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler, meyvelerde, sebzelerde, çayda, şarapta ve Çin bitkisel ilaçlarında yaygın olarak bulunan çeşitli doğal fenolik bileşikler ailesidir. Flavonoidler, iki aromatik halka ve bir piran halkasından oluşan temel bir C₆-C₃-C₆ yapısında 15 karbon iskelete sahiptir [38]. Meyan kökü liquiritin ve isoliquiritin gibi flavonoidler nedeniyle sarı renge sahiptir. *Glycyrrhiza*'nın çeşitli türlerinde 300'den fazla flavonoidin bulunmaktadır. Bunlar arasında yaygın olarak kullanılan flavonoid türleri flavanonlar, kalkonlar ve izoflavanlardır. Meyan kökü flavonoidlerinin anti-inflamatuvar, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir [15].

2.2.3. Isoflavonlar

Meyan kökünde bulunan izoflavonoid türevleri arasında glabridin, galbrene, glabrone, shinpterocarpin, licoizoflavones A ve B, formononetin, glizarin, kumatakenin bulunur [33]. Glabridin (Glab), orijinal olarak *G. galabra* köklerinden izole edilen bir izoflavonoittir. Antioksidan, anti-inflamatuar, antiaterojenik, enerji metabolizmasının düzenlenmesi, östrojenik, nöroprotektif, anti-osteoporotik, cilt beyazlatma gibi çok çeşitli biyolojik özelliklerle ilişkilendirilmiştir [39].

2.3. Farmakolojik Özellikler

2.3.1. Antimikrobiyal aktivite

2.3.1.1. Antiviral aktivite

Meyan kökünden izole edilen bileşenler arasında bugüne kadar 73 biyoaktif bileşen tespit edilmiştir. Birçok çalışma glisirizik asit ve glisirizinin antiviral aktivitesini triterpenoidin bileşiğine bağlamıştır [40].

Hepatit C virüsü (HCV) ile enfekte olmuş Huh7 hücrelerinde *Glisirizin* tedavisi bulaşıcı HCV üretiminde azalmaya neden olmaktadır. *Glisirizin* enfeksiyöz HCV partiküllerinin salınımını baskılamaktadır. Bu baskılama *Glisirizin*'in PLA2G1B üzerindeki inhibitör etkisine bağlıdır [41].

Glisirizin ve Glisirizik asit bileşikleri SARS-CoV-2 dahil olmak üzere çeşitli virüsler üzerinde engelleyici etkiler sergilemektedir. Bu bileşiklerin ana etki mekanizmaları şunlardır; virüs replikasyonunun inhibisyonu, virüslerin doğrudan inaktivasyonu, HMGB1/TLR4'ün aracılık ettiği inflamasyonun inhibisyonu, β -kemokinlerin inhibisyonu, virüslerin aktivitesini zayıflatmak için HMGB1'in DNA'ya bağlanmasında azalma ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunun inhibisyonu [42].

Glisirizin ve türevleri kronik hepatit B ve C'de hepatoselüler hasarı ve Hepatit C virüsünün neden olduğu sirozda hepatoselüler karsinom riski azaltmaktadır. Hayvan çalışmaları, herpes simpleks virüsü ensefaliti ve influenza A virüsü pnömonisinde mortalite ve viral aktivitede azalma olduğunu göstermiştir. *Glycyrrhiza* spp.'nin antiviral aktivitesi için mekanizmalar, hepatit B virüsü yüzey antijeninin membrana taşınmasının ve sialilasyonunun azaltılmasını, HIV-1'in viral zarının hücre ile füzyonunun inhibisyonuna

yol açan membran akışkanlığının azalmasını, T hücrelerinde interferon gama indüksiyonunu, fosforile edici enzimlerin inhibisyonunu içerir [25].

G. glabra ekstresinin fitoterapötik özellikleri, glisirizin ve glisiretinik asit ile ilişkilendirilir. Farmakolojik özellikleri arasında, SARS koronavirüsü de dahil olmak üzere farklı ailelere ait virüslere karşı antiviral etki göstermektedir. In vitro veriler, glisirizinin hücre ve viral membranlar üzerinde spesifik olmayan bir etki ile, ACE2 ve spike ile doğrudan etkileşime girerek virüs girişine müdahale edebileceğini göstermiştir [43].

2.3.1.2. Antibakteriyel aktivite

Çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalar, klinik tıpta yeni aktif ilkelerin araştırılmasına yol açan ciddi bir sorunu temsil etmektedir. Farklı çalışmalar *G. glabra*'nın özellikle *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* gibi Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal özelliklerini rapor etmişlerdir. Gözlemlenen antibakteriyel aktivite, sekonder metabolitlerin, yani saponinler, alkaloidler ve flavonoidlerin varlığından kaynaklanmaktadır [15]. Metisiline dirençli *S. aureus* hem hastanelerde hem de toplumda ana enfeksiyon kaynağı haline geldi. *S. aureus* suşlarında artan antibiyotik direnci, hastalığın tedavisinde alternatif tedavilere ihtiyaç doğurmuştur. *G. glabra*, metisiline dirençli *S. aureus*'un temel virülans genleri olan SaeR ve Hla (human lökosit antijenleri) ekspresyonunu azaltarak bakterisidal aktivite gösterir. Özellikle *G. glabra*'dan izole edilen glabridin, glabrol, glabrene, hispaglabridin A, hispaglabridin B, 40-metilglabridin ve 3-hidroksiglabrol bu aktiviteden sorumlu olduğu bilinmektedir [40].

2.3.1.3. Antifungal aktivite

G. glabra'nın antifungal aktivitesi de vardır. Meyankökü ekstraktı *Arthrimum sacchari* ve *Chaetomium funicola*'ya karşı fungisidal aktivite göstermiştir. Aktiviteden sorumlu olan bileşik bir izoflavonoid olan glabridindir [15].

Meyan kökü ekstraktı *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* mantarlarına karşı antifungal aktivite göstermektedir [44]. Farklı çalışmalar, liquiritigenin, liquiritin, licochalcone A ve glabridin bakımından zengin olması nedeniyle *C. albicans*'ın meyan kökü ekstraktlarına duyarlı olduğunu göstermektedir [45, 46].

2.3.2. Antioksidan aktivite

Biyolojik olarak aktif bir triterpen glikozit olan glisirizinin yanı sıra, meyan kökü ayrıca flavonoidler ve izoflavonoidler, kalkonlar ve kumarinler içerir. *G. glabra*'nın antioksidan aktivitesi, kullanımlarının başlıca nedenlerinden biridir. Fenolik içerik muhtemelen gözlemlenen güçlü antioksidan aktiviteden sorumludur. Flavonoidler, antioksidan aktiviteye sahip doğal bitki bileşenleri olarak büyük ilgi görmektedir. Meyan kökünde bulunan flavonoidlerden glisikumarin önemli bir aktiviteye sahip değilken, likochalcone A ve licochalcone B yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Özellikle meyan kökünde bulunan ve izoflavonoid türevi olan Glabren, E vitamininden 3 kat daha antioksidan aktiviteye sahiptir [47]. Türe özgü bir flavonoid olan glabridin de antioksidan aktivite göstermektedir [48]. Glabridin antioksidan aktivitesini, serbest radikal süpürücü etkisi ile ve oksidatif stresi indüklemeye yarayan nitrik oksitin üretimini arttırması ile sağlamaktadır [49].

G. glabra yapraklarında bulunan dihidrostilben türevleri yüksek seviyede antioksidan aktivite göstermektedir. Ayrıca, *G. glabra*'da likokalkonlar B ve D bulunur. Likokalkonlar, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali üzerinde güçlü bir süpürücü aktivite ve mikrozomal lipid peroksidasyonunu inhibe edici aktivite gösterir. Bu fenolik bileşikler, biyolojik sistemlerin oksidatif strese karşı korunmasında etkilidir [15]. Likokalkon A meyan kökünde bulunan karakteristik bir kalkondur. Geleneksel tıpta, Likokalkon A, anti-parazitik, anti-inflamatuar antitümör aktiviteleri ve antioksidan aktiviteleri dahil olmak üzere birçok potansiyel biyolojik aktiviteye sahiptir [50].

2.3.3. Antiinflamatuar aktivite

Meyan kökü, şüphesiz en popüler şifalı bitkilerden biridir ve en çok kullanılan kısmı kökleridir. Özellikle, *G. glabra* türü, Mısır çağından beri belgelenen iyi bilinen terapötik özelliklere sahiptir. Mevcut bulgular, meyan kökü yapraklarından metanol ve etil asetat ekstraksiyonu yoluyla elde edilen fitokomplekslerin, antioksidan, anti-genotoksik ve anti-inflamatuar potansiyele sahip olduğunu göstermektedir [51].

Meta-analiz sonuçları glisirizin daha düşük bir TNF-a, IL-6, IL-8, IL-17, AER, RER ve daha yüksek bir IL-10 seviyesi ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu gösterdi [52]. Wang ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışma glisirizinin anti inflamatuar ve analjezik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, glisirizinin anti inflamatuar ve analjezik

etkilerinin mekanizmalarının, TNF- α , IL-6, ve COX-2'nin ekspresyon seviyelerinin inhibisyonuna atfedilebileceğini öne sürdüler [40].

Akamatsu et al. glisirizinin bir reaktif oksijen süpürücüsü temizleyicisi olmadığını, ancak nötrofiller tarafından ROS oluşumunu engelleyerek anti inflamatuvar etki sağladığını gösterdi. Bununla birlikte, meyan kökü ekstresinin büyük bir bölümünü oluşturan bitki polifenolik bileşikleri, nötrofiller tarafından üretilen ROS üzerinde doğrudan radikal süpürücü etki uygulayabilir ve bu süpürücü etki meyan kökü ekstresinin anti inflamatuvar etkisini arttırdığını ileri sürdüler [53].

Glisirizinin anti inflamatuvar etkileri glukokortikoidlerin ve mineralokortikoidlerinkine benzer. Ayrıca, *G. glabra*'nin üçlü anti-inflamatuvar etkileri temelde böbrek ve karaciğer komplikasyonlarında kullanılır [15]. Glisirizin, Japonya'da kronik viral hepatitli hastaları tedavi etmek için, serum alanin aminotransferaz seviyelerini azaltmak için bir anti-inflamatuvar ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir [41].

2.3.4. Anti kanser aktivite

2021 yılında yapılan meta analiz çalışmasında on altı meyan flavonoidinin antikanser aktivitelere sahip olduğu bulunmuştur. Bu flavonoidler, hücre döngüsünü bloke ederek ve çoklu sinyal yollarını düzenleyerek kanser hücrelerini inhibe eder. Meyan kökü flavonoidleri tarafından hedeflenen başlıca yollar şunları içerir: MAPK yolu, PI3K/AKT yolu, NF-kB yolu, ölüm reseptörüne bağımlı dışsal sinyal yolu ve mitokondriyal apoptotik yol olmak üzere gruplandırılır [54].

Glisirizin, antitümör aktivitesini TNF- α seviyesini azaltarak, mukus tabakasının tükenmesini azaltarak, sialomusini sülfomusine kaydırarak ve kaspaz ve mitokondriye bağımlı yollar yoluyla kanser hücresi apoptozunu indükleyerek gösterir [55].

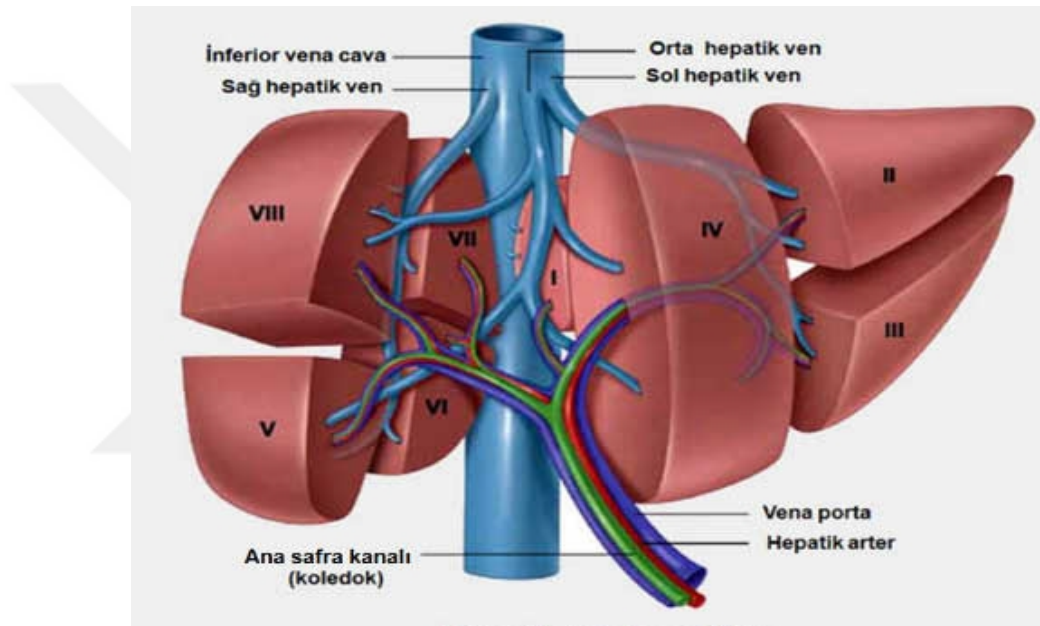
2.4. Karaciğer

Karaciğer, ortalama vücut ağırlığının yaklaşık %2 ila %3'ünü oluşturan en büyük organdır [56]. Vücudumuzun sağ üst karın boşluğunda diyaframın altında yer almaktadır. Ortalama ağırlığı kadınlarda 1,2-1,4 kg, erkeklerde ise 1,4-1,8 kg kadardır. Vücudumuzun birçok önemli fonksiyonunu yerine getirmektedir [57]. Sağlıklı karaciğerin rengi kahverengidir ve dış yüzeyi pürüzsüz bir yapıya sahiptir [58].

Karaciğer dört lobdan oluşur: Sağ lob, sol lob, kaudat lob ve dörtgen lob. En büyük olan lob sağ lobtur (Şekil 2.2). Sol ve sağ lob, karaciğeri karın duvarına bağlayan falciform

(Latince "orak biçimli") bağ ile ayrılır. Karaciğer lobları ayrıca binlerce lobülde oluşan sekiz bölüme ayrılmaktadır. Bu lobüllerin her biri, safrayı karaciğerden boşaltan ortak hepatic kanala doğru akan bir kanala sahiptir [59].

Karaciğer kan akışını iki kaynaktan alır: %80'i dalak ve bağırsakları boşaltan portal ven tarafından sağlanır; kalan %20'si oksijenli kan hepatic arter tarafından iletilir. Portal ven, splenic ve superior mezenterik venlerin, splenic vene akan inferior mezenterik ven ile birleşmesiyle oluşur. Hepatic arter, splenic ve sol gastrik arterlerle birlikte çölyak arterin bir dalıdır [58].



Şekil 2. 2. Karaciğerin segmentleri [60].

Karaciğer, hepatositler, safra epitel hücreleri (kolanjiyositler), stellat hücreler, kupffer hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri dahil olmak üzere farklı embriyolojik kökene sahip birkaç hücre tipinden oluşur. Bu hücre tiplerinin her biri, hepatic fonksiyonu düzenleyen benzersiz işlevlere sahiptir. Hepatositler, karaciğerin birincil epitel hücre popülasyonudur. Karaciğerin yaklaşık %67'sini oluşturan hepatositler karaciğerin birçok fonksiyonunu yerine getirmektedir [61].

Kolanjiyositler, karaciğerde en bol bulunan ikinci epitel popülasyondur ve safra kanallarının lümenini kaplarlar. Stellat hücreler, A vitaminini lipid damlacıklarında depolar. Stellat hücreler ayrıca yaralı karaciğerde kollajenin birikmesinden ve organizasyonundan da sorumludur. Kupffer hücreleri, karaciğerin yerleşik makrofaj

popülasyonudur. Bu hücreler, portal dolaşım yoluyla getirilen birçok patojenik uyarımı tanır. Ayrıca karaciğer yara iyileşmesinde anti-inflamatuar roller üstlenir [62].

2.4.1. Karaciğerin görevleri

Karaciğer vücuttaki en önemli organlardan biridir ve metabolik, vasküler, immünolojik, salgı ve boşaltım işlevleri dahil olmak üzere çeşitli önemli işlevlere hizmet etmektedir. İnsan vücudundaki karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır [63].

Karaciğer; glikojenez, glikojenoliz ve glikoneojenez mekanizmaları ile karbonhidrat metabolizmasını düzenlemektedir. Glikojenez, karaciğerin fazla glikozu kendi bünyesinde depolanmasını sağlayacak glikojen formuna dönüştürmesidir [63].

Karaciğer, lipoprotein sentezini ve lipid alımı ve dönüşümünü ve ayrıca yağ asitlerinin de novo sentezini ve oksidasyonunu düzenleyerek lipid metabolizmasına katılır [64].

Protein sentetik bir organ olarak karaciğer, dolaşımdaki protein hacminin %85-90'ından sorumludur. Albümin, bu salgılanan proteinlerin en bol olanıdır ve sadece karaciğer tarafından sentezlenir. Bu protein, kan hacminin korunması için gereklidir ve lipitler ve hormonlar gibi bir dizi kritik molekülün taşınmasında taşıyıcı işlevlere sahiptir. Karaciğer aynı zamanda akut faz proteinlerini, büyüme faktörlerini ve sistemik regülasyonda yer alan çok sayıda başka peptidi de salgılar [62]. Ek olarak, karaciğer proteinleri parçalama ve onları oluşturan amino asitleri metabolize etme konusunda yüksek bir kapasiteye sahiptir. Amonyakın üreye çevrildiği üre döngüsü, atık nitrojenin atıldığı ana yoldur ve karaciğer tarafından gerçekleşir [65].

2.5. Kanser

Kanser, kalp hastalıklarından sonra ölümlerin ve önemli halk sağlığı problemlerinin ikinci önde gelen nedenidir [66]. Kanser, dünya çapındaki ölümlerin önde gelen nedenidir. 2020 yılında yaklaşık 10 milyon kişinin, yaklaşık 6 kişiden birinin ölüm nedeni kanser olmuştur [67].

20. yüzyılın en korkulan hastalıklarından biri olan kanser, 21. yüzyılda artan insidansla birlikte yaygınlaşmakta ve bu yaygınlaşma o kadar endişe verici ki, her dört kişiden biri yaşam boyu kanser riski taşımaktadır. Mevcut duruma ek olarak, nüfus

büyüdükçe, yaşlandıkça ve kanser riskini artıran yaşam tarzı davranışları benimsedikçe kanser vakalarının ve kansere bağlı ölümlerin sayısının hızla artması bekleniyor [66].

Dünya Sağlık Örgütü' ne göre kanser, insan vücudunun herhangi bir dokusunda veya organında meydana gelen ve diğer doku ve organlara yayılabilen, kontrol edilmesi güç normal olmayan hücre büyümesidir [68].

Kanser, vücuttaki sıradan hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesidir. Kanserler herhangi bir organ veya vücut yapısından kaynaklanır ve büyümeyi durdurma yeteneğini kaybetmiş küçük hücrelerden oluşur. Eski hücreler yıkılmaz ve kontrolsüz bir şekilde büyümeye devam ederek yeni anormal hücreler oluşturur. Bu garip hücreler, tümör adı verilen bir doku kütlesi oluşturur [66].

Normal bir hücrenin kanserli bir hücreye dönüştürülmesi, kanserin oluşumunda çok kritik bir olay değildir; kritik olan vücudun bağışıklık hücrelerinin yeni oluşan kanser hücrelerini sayıca az olduklarında teşhis edip yok edememeleridir [69].

En sık görülen kanserler meme, akciğer, kolon-rektum karaciğer ve prostat kanserleridir. Kansere bağlı ölümlerin yaklaşık üçte biri; yüksek beden kitle indeksi, dengesiz ve düzensiz beslenme, fiziksel aktivite eksikliği ve tütün ve alkol tüketiminden kaynaklanmaktadır [67].

2.5.1. Karaciğer kanseri

Kanser, dünya çapında ölümlerin önde gelen nedenidir. 2020 yılı Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre yaklaşık 10 milyon kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir.

Karaciğer kanseri dünyada görülen kanser türleri arasında 5. sırada yer almaktadır ve kansere bağlı ölümlerin 3. en sık nedenidir [70]. Karaciğer kanseri insidansı son birkaç yılda artmaya devam etti ve karaciğer kanserine bağlı ölüm oranı 2007'den bu yana yılda %2'den fazla arttı [71]. Bazı kronik enfeksiyonlar kanser için risk faktörleridir. Hepatit B ve C virüsleri karaciğer kanseri riskini arttırmaktadır [67].

Primer karaciğer kanseri türleri arasında en sık görülenler: Hepatoselüler karsinom (HCC) ve intrahepatik kolanjiokarsinom (ICC) dur ve bu iki tür dünya çapında da en sık görülen kanserler arasındadır. Çeşitli primer karaciğer kanserleri arasında Hepatoselüler karsinom (HCC) ve intrahepatik kolanjiokarsinom (ICC), sırasıyla vakaların yaklaşık %70'ini ve %15'ini oluşturan yaygın türlerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde son birkaç on yılda, HCC ve ICC insidansı istikrarlı bir şekilde arttı ve önümüzdeki yıllarda, artışların devam etmesi beklenmektedir [72].

2.5.1.1. Hepatosellüler karsinoma

Hepatosellüler karsinom (HCC), karaciğer kanserlerinin çoğunluğunu oluşturan karaciğerin birincil kanseridir. Dünya çapında, tüm malign tümörlerin %4'ü HCC'dir. HCC erkeklerde yedinci, kadınlarda ise dokuzuncu en sık görülen kanserdir. HCC ile ilişkili risk faktörleri arasında HBV ve HCV ile kronik enfeksiyonlar, alkolik karaciğer hastalığı ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı yer almaktadır. Cinsiyet, HCC'nin gelişiminde rol oynayabilir. Erkek hastalarda risk kadın hastalara göre daha fazladır ve risk yaşla birlikte artmaktadır [73]. Bu cinsiyet farkının açıklaması üç yönlü olabilir: birincisi, erkeklerin kadınlara göre fazla alkol tüketmesi, daha fazla sigara içmesi ve vücut kitle indeksinin kadınlara göre daha fazla olması viral hepatite yakalanma olasılıklarını arttırabilir [74]. İkinci olarak, östrojen etkileri, kadınlarda interlökin (IL)-6 aracılı inflamasyonu baskılayarak hem karaciğer hasarını hem de kompensatuar proliferasyonu azaltabilir; üçüncü olarak, testosteron etkileri, erkeklerde androjen reseptör sinyalini artırarak karaciğer hücresi proliferasyonunu teşvik edebilir [75].

Viral hepatit ve aşırı alkol alımı; kronik karaciğer hastalığı ve siroza neden olan risk faktörleridir ve HCC'nin gelişimi için en önemli risk faktörleri olmaya devam etmektedir. Kronik viral hepatit siroza ve/veya HCC'ye yol açabilir. Hepatit B ve C, dünyadaki kronik hepatitin en yaygın nedenleridir [74].

Kronik hepatit B, Asya'da hepatosellüler karsinomun (HCC) en yaygın nedenidir. Viral hepatit B, postnekrotik siroz evresiyle HCC'ye dönüşebilmektedir [76]. HBV enfeksiyonunun HCC'ye neden olduğu mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Virüsün kendisinin doğrudan etkisiyle veya HBV enfeksiyonuna bağlı siroz ile ilişkili inflamasyon, rejenerasyon ve fibroz süreci yoluyla dolaylı bir etki ile HCC'ye evrim gözlenebilmektedir [77]. HBV virüsü hepatik onkogeneze dolaylı bir rol oynamaktadır. HBV'nin onkogenetik kapasitesi, HbsAg'ye karşı antikörlerin üretilmesine rağmen viral sekansların bulunduğu birçok HCC'de entegre HBV DNA'sının bulunmasıyla desteklenir. Hemen hemen tüm endemik HCC vakaları HBV ile ilişkilidir [76]. Hepatit B virüsü (HBV) genomunun entegrasyonu, karsinogenez sürecini başlatmaktadır. Entegre HBV genomu, karaciğer hücrelerine seçici bir büyüme avantajı sağlamak için komşu hücrel genleri doğrudan aktive etmektedir. Örneğin, retinoik asit reseptör alfa geni içinde ve insan siklin A geni içinde HBV DNA'nın entegrasyonu gözlemlenmiştir, bunların her ikisi de hücrel büyümede çok önemli roller oynamaktadır [77]. HCC vakalarının neoplastiklerinin %83'ünde ve karaciğerin neoplastik olmayan kısımlarının %100'ünde serbest, rastgele ve

klonal entegre HBV DNA tespit edildi [76]. Hepatit B X proteininin üretimi, tümör gelişimi için çeşitli hücrel genler üzerinde bir transaktivatör görevi görebilir. Karaciğer iltihabı ve siroz da karsinogenez sürecini destekler. Hepatosellüler karsinom gelişimi ile ilişkili çeşitli viral faktörler, HBV genotipini, bazal çekirdek promotör mutasyonlarını ve yüksek viral yükü içerir. Androjen reseptör düzenleyici genlerdeki ve sitokin genlerindeki polimorfizmler, HCC ile ilişkili olası konak faktörleridir [78].

Hepatit C virüsü (HCV) ile kronik enfeksiyon, hepatosellüler karsinom (HCC) gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Genel olarak, HCC ancak 2 veya daha fazla on yıllık HCV enfeksiyonundan sonra gelişir ve artan risk büyük ölçüde sirozlu veya ilerlemiş fibrozlu hastalarla sınırlıdır [79].

Sıcak nemli koşullarda depolanan tahıllar, mısır, yer fıstığı veya soya fasulyesinde bulunan *Aspergillus* türleri (küfler) tarafından üretilen aflatoksin, güçlü bir hepatokarsinogen [74]. Aflatoksin B1 (AFB1), kemirgenlerde, insan olmayan primatlarda, balıklarda ve kuşlarda güçlü bir karaciğer kanserojenidir. İnsanlarda p53 geninin modifikasyonu ile güçlü bir kanserojen etki göstermektedir [80]. Aflatoksin B1, insanlarda HCC gelişimi ile nedensel olarak ilişkilidir ve insan tarafından bilinen en güçlü deneysel hepatokarsinogenidir. Bugüne kadar toksine maruz kalan hiçbir hayvan modeli HCC geliştirmede başarısız olmamıştır. Hepatosellüler karsinom, sayıları yıldan yıla artan dünya çapındaki tüm yeni kanserlerin yaklaşık %9,2'sini oluşturmaktadır [81].

Aflatoksin, hepatit B ve C'nin neden olduğu karaciğer kanseri üzerinde sinerjistik bir etki gösterir; kronik hepatit B artı aflatoksin maruziyeti ile risk, tek başına aflatoksin maruziyetine göre 30 kat daha fazladır. En güçlü aflatoksin olan AFB1, çevreden uzaklaştırıldığında HCC insidansında bir azalma ile sonuçlanmıştır [74].

2.5.2. Kanser hücrelerinin özellikleri

İnsan vücudu yaklaşık 37,2 trilyon hücreden oluşmaktadır. Çok sayıdaki bu normal hücreler insan vücudunun temel yapı taşları olup dokuların, organların ve organ sistemlerinin doğru işleyişini sürdürmelerini sağlayan belirli özelliklere sahiptirler. Normal hücreler: büyümelerini harici sinyaller kullanarak kontrol ederler, yani sadece gerektiğinde büyürler ve bölünürler, normal gelişimin bir parçası olarak doku homeostazını sürdürürler ve onarılamaz hasara yanıt olarak programlanmış hücre ölümüne (apoptoz) uğrarlar. Hedeflenen konumlarında kalmalarını sağlayan aşamalı olarak ayarladıkları seçici

adezyonları koruyarak birbirlerine yapışırlar ve aynı genoma sahip olmalarına rağmen belirli işlevlere sahip özel hücrelere farklılaşırlar [82].

Kanser, trilyonlarca hücreden oluşan insan vücudunda hemen hemen her yerde başlayabilir. Normalde insan hücreleri, hücre bölünmesi adı verilen bir süreçle vücudun ihtiyaç duyduğu yeni hücreler oluşturmak için büyür ve çoğalır. Yaşlanan veya hasar gören hücreler ölürler ve onların yerlerini yeni hücreler alır. Bazen bu düzenli süreç bozulur ve anormal veya hasarlı hücreler yok olmaları gerekirken büyümeye ve çoğalmaya devam ederler. Çoğalan bu hücreler tümörleri oluştururlar. Tümörler malign (kötü huylu) veya benign (iyi huylu) özellik gösterirler. Kanserli tümörler metastaz adı verilen süreç ile yakındaki dokulara yayılır veya onları istila eder ve vücutta uzak yerlere seyahat ederek yeni tümörler oluşturabilir [83].

Ne kadar kanser türü varsa o kadar kanser hücresi türü vardır. Kanser hücreleri, çevresel kaynaklı değişikliklerle ve genetik değişikliklerle ortaya çıkar. Normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşüm süreci, genellikle hücrelerin giderek daha anormal bir görünüme kavuştuğu aşamalar ile başlar [84]. Normal hücrelerde, hücre döngüsü proteinlerinin aktivitesi, hücre döngüsüne özgü transkripsiyon, protein bozulması ve birkaç CDK inhibitör proteini tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir. Tüm bu mekanizmalar, insan kanserlerinde sıklıkla düzensizdir ve bu düzensizlik hücre döngüsü proteinlerinin anormal aktivasyonu ile sonuçlanır. Çekirdek hücre döngüsü içindeki genetik lezyonlar, hiperaktivasyon ile sonuçlanır, çoğu tümör tipinin gelişimine sebebiyet verir [85]. Kanser hücreleri, yayılma, yakındaki dokuları istila etme ve sonsuza kadar yaşama yetenekleri ile normal hücrelerden farklıdır. Bunu, kendilerini farklı şekillerde gizleyerek veya kurtarmaya gelen bağışıklık hücrelerini etkisiz hale getirerek başarabilirler. Bir kanser oluşuktan sonra hücreler aynı kalmaz. Aksine, devam eden mutasyonlar meydana gelmektedir [84].

Kötü huylu hücre şu şekilde karakterize edilir: hücre döngüsünün hızlanması; genomik değişiklikler; invaziv büyüme; artan hücre hareketliliği; kemotaksis; hücre yüzeydeki değişiklikler; litik faktörlerin salgılanması [86]. Kanser hücreleri hücre ve nükleer pleomorfizm gösterirler, hücrelerin normal düzenini kaybederler, hücre zarlarında ve organellerinde değişiklikler geliştirirler, anormal mitoz bölünme özelliği ve kromozomal anormallikler sergilerler. Kanser hücreleri, normal hücrelere kıyasla metabolizmada farklılıklar gösterir [87]. İlk tümöre özgü değişmiş metabolizma, 1920'lerde Otto Warburg tarafından keşfedildi. Otto Warburg kanser hücrelerinin glikozu

aşırı tüketip fazla laktat oluşumuna neden olduğunu ve ek olarak anaerobik reaksiyonlar için yüksek miktarda glikoz kullandığını keşfetmiştir [88]. Kanseri hücrelerinin metabolizması, genellikle hızlı bölünmeyen normal hücrelere göre daha anaerobiktir ve kanser hücreleri hızlı bölünürler. Kanseri hücreleri hipoksik koşullara dayanıklıdır. Artmış glikoz ve aminoasit alımına sahip olabilirler. Bu hücreler, glikoz kullanımını artıran yüksek seviyelerde heksokinaz içerir. Kanseri hücreleri, farklılaşmış hücreler için tipik olan özel proteinleri sentezleme yeteneklerini kaybeder [87].

Kanseri hücrelerinin ayırt edici özellikleri:

1. Büyüme karşıtı sinyallere karşı duyarsızlık,
2. Apoptozdan kaçınma,
3. Sınırsız replikasyon potansiyeli,
4. Sürekli anjiyogenez,
5. Doku istilası,
6. Metastaz,
7. Metabolik yeniden programlama,
8. Bağışıklık sisteminden kaçınma,
9. Tümör destekleyen inflamasyon ve
10. Genom kararsızlığı ve mutasyon [89].

2.6. Kanseri ve Apoptoz

Tüm organizmalarda yaşam, belirli aşamalardan geçmektedir. Bunlar; doğum, canlılığın devamlılığını sağlayan üreme, yaşlanma ve ölümdür. Yaşamın devamı için canlıyı oluşturan fonksiyonların dengede olması gerekmektedir. Her organizmada yeni hücreler oluşmaya devam ederken, var olan hücrelerin belirli bir kısmı da hücre ölümü ile yok olmaktadır. Ölüm ve yaşam arasındaki denge bu şekilde sağlanmaktadır [90].

Hücre ölümü 2 temel mekanizma ile sağlanır. Bunlar, apoptoz ve nekrozdur. [91]. Nekroz, şiddetli hipoksi/iskemi, aşırı sıcaklıklar ve mekanik travma gibi şiddetli çevresel bozulmalara tepki olarak hücre zarının erken bozulmasına ve düzenli hücre yapılarının ilerleyici bozulmasına neden olan tesadüfi pasif bir süreçtir [92]. Apoptoz ise erken gelişim sırasında ve patofizyolojik koşullarda morfojenetik homeostaz için gerekli olan temel bir süreçtir [93].

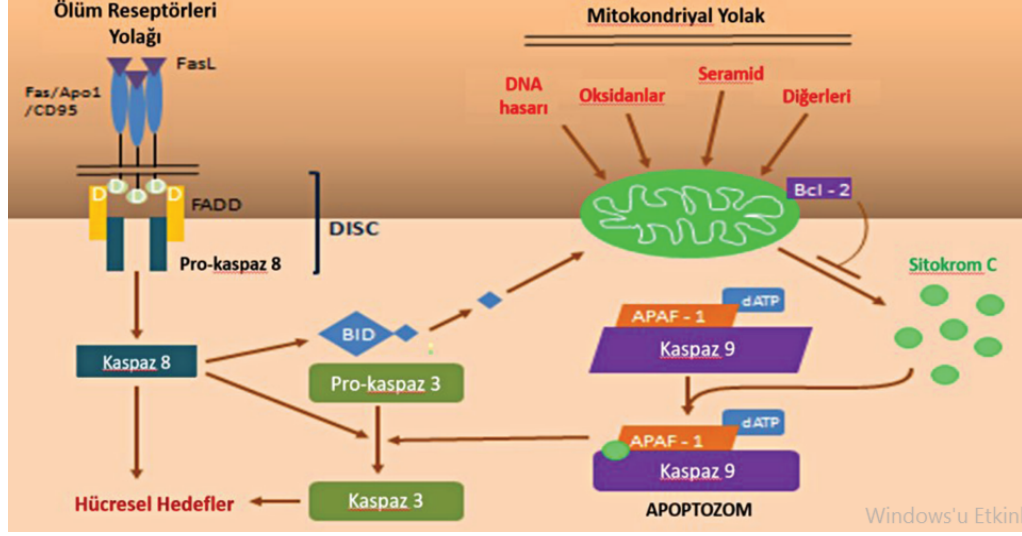
Apoptoz, fosfatidilserini açığa çıkaran ve aynı zamanda sistein-aspartik proteaz (kaspaz) ailesi proteinlerini aktive eden hücre zarı kabarcıklarını içeren programlanmış hücre ölümünün spesifik bir şeklidir [94]. 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie'nin çalışmaları ile ortaya çıkmıştır [93]. Apoptoz, yüksek düzeyde düzenlenmiş bir hücre ölümü sürecidir. Hücre ölümünün travmatik bir versiyonu olan nekrozdan farklı olarak apoptoz, organizmanın daha büyük yararları için belirli hücreleri feda etmek için verilen rasyonel ve aktif bir karardır. Çok hücreli organizmalarda rutin olarak yürütülen normal bir fizyolojik süreçtir [95].

Birçok sofistike düzenleyici yol gibi, apoptoz da kanserin ilerlemesinde iki ucu keskin bir bıçaktır. Örneğin, anti-kanser tedavisine bağlı apoptoz kanser hücrelerini öldürebilirken, kaspaz 3'ün subletal aktivasyonu onkojenik ilerlemeye neden olabilir, çünkü apoptozun optimal olmayan indüksiyonu otofaji gibi telafi edici hayatta kalma mekanizmalarını tetikleyebilir. Bu nedenle, kanserin daha fazla ilerlemesine yol açan etkili apoptoz ve verimsiz apoptotik yol aktivasyonu arasındaki hassas dengeyi bulmak zordur [94].

Kanserin çoğalması, apoptoz olarak adlandırılan programlanmış hücre ölümünden kaçınma yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Bu yetenek kanser hücrelerinin daha uzun süre hayatta kalmasına imkân tanımaktadır. Bu nedenle kanserde apoptoz indüksiyonu kanserin tedavisi için bir hedef olarak tanımlanmıştır [96].

2.6.1. Apoptoz yolları

Kaspaz aktivasyonu ile gerçekleşen iki apoptoz yolağı vardır: Dış Yolak (ekstrinsik ya da ölüm reseptörü aracılı yolak) ve İç Yolak (intrinsik ya da mitokondriyal yolak) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. İntrensik ve ekstrinsik apoptotik yollar [90].

2.6.1.1. İntrensik yolak

İntrensik apoptotik yol, UV ve γ -ışınları, kemoterapötik ilaçlar, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar, serbest radikaller ve belirli büyüme faktörlerinin, hormonların ve sitokinlerin uzaklaştırılması dahil olmak üzere çeşitli "hücre stresi" uyarıları tarafından başlatılır [97]. İçsel sinyal yolları, sitokrom c sitoplazmaya salındığında mitokondriyal başlatılan olaylar ile doğrudan hücre içindeki hedeflere etki eden hücre içi sinyallerin üretilmesi yoluyla apoptozu uyarır [98]. Hücre içi apoptotik hücre ölümü için ortak yol, mitokondriden sitokrom c'nin salınmasıyla mitokondriyal dış zar geçirgenliğini (MOMP), APAF1 ve başlatıcı kaspaz 9 ile apoptozom oluşumunu ve ardından cellat kaspaz 3'ün aktivasyonunu içerir. Çoğu memeli hücrelerinde, MOMP ve sitokrom c'nin sitoplazmaya salınması, apoptozu tetiklemek için kritik gereksinimlerdir ve kaspaz aktivasyonundan bağımsız olarak meydana gelebilecek hücre ölümüne hüresel bağlılıkta geri dönüşü olmayan nokta olarak kabul edilmiştir. Mitokondriden sitokrom c salınımı, BAX (BCL-2-associated X protein), BAK (BCL-2 antagonist killer 1), BIM, BID, PUMA gibi proapoptotik BCL-2 ailesi üyeleri tarafından düzenlenir [99].

Bax ve Bak, mitokondriyal dış zar bütünlüğünün kaybından doğrudan sorumludur. Aktivasyon üzerine, mitokondriyal dış zara giren ve onu bozan büyük oligomerler oluştururlar. Bax ve Bak, MOMP'de fazlalık olarak hareket etmektedir ve mitokondriyi geçirgenleştirmek için bunlardan en az biri gerekmektedir. Canlı hücrelerde bu proteinler genellikle aktif değildir, ancak yukarı akış olaylarına yanıt olarak aktif hale gelir. Yalnızca BH3 proteinlerinden en az ikisi (Bim ve aktif Bid), geçici etkileşim yoluyla Bax ve Bak'ı

aktive eder. MOMP, hem Bax/Bak'a hem de BH3 alanlarıyla etkileşerek yalnızca BH3 içeren proteinlere bağlanan ve bunları inhibe eden antiapoptotik Bcl2 proteinleri tarafından antagonize edilir [100]. Aktifleşen Bax ve Bak mitokondri membran permeabilitesini bozar ve Sitokrom c' nin sitoplazmaya geçmesine neden olur. Sitokrom-c, Apaf-1 ve kaspaz-9 ile birleşerek apoptozom kompleksini oluşturur. Oluşan kompleks de diğer kaspazları aktive eder ve hücreyi ölüme sürükler. Kaspazlar hücre içi kalsiyum artışı ile aktifleşirler ve birbirlerini aktifleştirerek proteolitik zincir oluştururlar. En sonunda da DNA' nın ve sitoplazmik proteinlerin yıkımı gerçekleşmiş olur [101].

2.6.1.2. Ekstrinsik yolak

Ekstrinsik ölüm reseptörü yolu, adından da anlaşılacağı gibi, ölüm ligandları bir ölüm reseptörüne bağlandığında başlar [102]. Proapoptotik ölüm reseptörleri arasında Fas, TNFR1, TNFR2 ve TRAIL DR4 ve DR5 yer alır [99]. En iyi bilinen ölüm reseptörleri ise tip 1 TNF (tümör nekroz faktör) reseptörü (TNFR1) ve Fas (CD95) reseptörüdür. Ve bunların ligandları sırasıyla TNF- α ve Fas ligandı (FasL) olarak adlandırılır [102]. Ekstrinsik yoldaki ölüm reseptörlerinin tümü, transmembran bölgeleriyle hücre zarına bağlanır. Hücre dışı bir ligandla etkileşim üzerine, zar reseptörleri ölüm sinyallerini sitoplazmik ölüm alanları aracılığıyla hücre içi boşluğa iletir. Apoptozda yer alan membran reseptörleri, aktivasyonu iki ana ligand olan TNF ve Fas'a bağlı olan tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailesine aittir. TNF ve reseptörleri, yani TNFR-1 ve TNFR-2, majör bir apoptoz yolunu başlatmaktan sorumludur [95]. Fas ve TNF reseptörü integral proteinlerdir. Komplementer ölüm aktivatörleri olan FasL ve TNF- α ' nın bağlanması ile prokaspaz-8 kaspaz-8'e dönüşür Bu dönüşüm kaspaz aktivasyonunun başlamasına yol açar [91]. Apoptotik ölüm reseptörleri, TNFR1/2, Fas ve TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL) reseptörleri DR4 ve DR5'i içerir. Ligandları (yani sırasıyla TNFa, FasL veya TRAIL) tarafından aktivasyon üzerine, ölüm reseptörleri hücre yüzeyinde platformlar oluşturmak üzere oligomerize olur. Bu olay, adaptör proteinlerin (TRADD ve FADD) toplanmasına ve apoptotik başlatıcı kaspazlar kaspaz-8 ve kaspaz-10'un aktivasyonuna yol açarak ölüme neden olan sinyal kompleksini (DISC) oluşturur [103]. Bu kompleks tarafından aktive olan kaspaz 8 ve 10, cellat kaspazlar 3, 6 ve 7'yi aktive eder. Aktive olan cellat kaspazlar hücre imhasına başlar. Ayrıca kaspaz 8 BID'i parçalar ve mitokondriden sitokrom C salınımına sebep olur ve böylece intrinsik yolu aktive hale getirir [91].

3. MATERİYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar

Antimikrobiyal aktivite testlerinden kuyu difüzyon için kullanılan kimyasallar; gentamisin (CN; 10 µg, ASD04405), ketokonazol (CTX, 50 µg, ASD04751) Biyoanalase firmasından temin edilmiştir. Mikrodilüsyon testi için kullanılan gentamisin (CN; 250 mg, 1405-41-0) toz antibiyotiği Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan bakterilerin canlandırılmasında ve antibiyotik duyarlılık testlerinde triptik soy agar (TSA, Merck, Germany), mueller hinton agar (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK), mueller hinton broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) sabouraud dekstroz agar (SDA, Condalab, İspanya) ve Sabouraud Dekstroz broth (SDB, Condalab, İspanya) marka besiyerleri kullanılmıştır.

Hücre kültürü çalışmasında kullanılan besiyeri hazırlanması için ve MTT testi için gerekli olan kimyasallar Dulbecco's modified eagle's medium L-glutamin ve yüksek glukoz içeren (DMEM, D5648), penisilin-streptomisin antibiyotiği (P4458), tripsin-EDTA (T4049), fetal sığır serumu (FBS, F7524), NaHCO₃ (S5761), tripan mavisi (T8154) Sigma'dan temin edilmiştir.

Glisirizin (99.0% saflıkta, 1405-86-3) TCI'dan temin edilmiştir.

DNA interaksiyon çalışmalarında kullanılan pBR322 plasmid DNA (SD0041), ve DNA jel yükleme boyası (R0611) Thermo Fisher Scientific'den firmasından; agaroz jel (9012-36-6), trizma base (T1503), borik asit (B6768), etilen diamin tetra asetik asit (EDTA, 60-00-4) ve etidyum bromür (E1510), DMSO (472301) Sigma'dan temin edilmiştir.

3.1.2. Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar

Analitik hassas terazi (Shimadzu, Japonya), -86 °C derin dondurucu (Thermo Scientific, ABD), +4 °C ve -20 °C buzdolabı (Arçelik), otoklav (Nüve), sınıf II kabin (Thermo Scientific, ABD), inkübatör (Mettler, Almanya), CO₂ inkübatör (Mettler, Almanya), vorteks (IKA, Almanya), ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (IKA, Almanya), mikrosantrifüj (Heidolph, Almanya), pH metre (isolab 61601001), UV transilüminatör,

yatay elektroforez sistemi, ultra saf su cihazı (Merck, Millipore), mikroplaka okuyucu (Multiscan GO, Thermo Scientific), klasik binoküler ışık mikroskobu (Olympus) inverted mikroskop (Leica, Almanya) marka ve modelde cihazlar kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan besiyeri ve çözeltilerin hazırlanışı

Triptik Soy Agar

Ticari besiyeri 40 g/L olacak şekilde su banyosu içerisinde tam olarak çözündürülmüştür. Besiyerinin pH $7,1\pm 0,2$ 'ye ayarlanmış 121°C 'de 15 dk otoklavda steril edilmiş ve yaklaşık olarak 45°C sıcaklığa düşünce petrilere dökülerek katılması sağlanmıştır.

Mueller-Hinton Agar

Ticari besiyeri 38 g/L olacak şekilde su banyosu içerisinde tam olarak çözündürülmüştür. pH $7,2\pm 0,2$ 'ye ayarlanmış 121°C 'de 15 dk otoklavda steril edilmiş ve su banyosunda yaklaşık olarak 45°C sıcaklığa düşünceye kadar bekletilmiş ve petrilere dökülerek katılması sağlanmıştır.

Mueller Hinton Broth

Ticari besiyeri 21 g/L olacak şekilde hazırlanmıştır. pH $7,2\pm 0,2$ 'ye ayarlanarak 121°C 'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir. Katyon ayarı için; hazırlanan MHB'nin tamamen soğuması beklendikten sonra her litrede 1 mg'lık artış sağlamak için 0,4 M $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve 0,2 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ stok çözelti 0.20 μm 'lik filtreden geçirilerek steril edilmiş ve litre başına 0,1 mL ilave edilerek kullanılmıştır.

Sabouraud dekstroz agar

Ticari besiyeri 65 g/L olacak şekilde su banyosu içerisinde tam olarak çözündürülmüştür. pH $7,2\pm 0,2$ 'ye ayarlanmış 121°C 'de 15 dk otoklavda steril edilmiş ve yaklaşık olarak 45°C sıcaklığa düşünce petrilere dökülerek katılması sağlanmıştır ve çalışmalarda kullanılmıştır.

Sabouraud Dekstroz broth

Ticari besiyeri 30 g/L olacak şekilde hazırlanmıştır. pH 7,2±0,2'ye ayarlanarak 121°C'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir.

Tris-Borik asit- EDTA tamponu (TBE, 10X)

Tampon Trizma base 108 g/L, Borik asit 55 g/L, EDTA 7,5 g/L (pH 7,5-7,8) olacak şekilde dH₂O ile çözülerek hazırlanmıştır. 10XTBE tamponu çalışmalar sırasında 1X'e seyreltilerek kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Meyan kökü ve glisirizin örneğinin temini, bitkisel özüt ve glisirizin stoğunun hazırlama şekilleri

G. glabra örnekleri Mustafa Kemal Üniversitesi Öğretim üyesi Dr. Faruk Karahan Hoca tarafından Hatay Yarseli sulama kanalı kenarından aşağıda koordinatları belirtilen lokaliteden (36°10'40.0"N 36°20'33.8"E) toplanmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. *G. glabra* örneğinin elde edildiği lokalite

Örnekler uygun şartlarda kurutulup öğütülerek Amasya Üniversitesi Biyolojik aktivite laboratuvarına getirilmiştir. Ekstraksiyon için Soxhlet ekstraktörü kullanılmıştır. Bu amaçla; 60 g toz meyan kökü 300 mL %80'lik etil alkol 1:5 (bitki:çözücü) ile yaklaşık olarak 8 saat süre ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra evaporatörde (Heidolph, Germany) 40 °C sıcaklıkta çözücünün buharlaşması sağlanarak

çözücü uzaklaştırılmıştır (Resim 3.2). Ardında DMSO içerisinde konsantrasyonları ayarlanarak kullanıncaya kadar +4°C’de karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir [104].



Resim 3.2. Ekstraksiyon sonrası elde edilen *G. glabra* örneğinin etanol özütü ve evaporatör ile uzaklaştırma işlemi

G. glabra’nın biyoaktif bileşeni olan glisirizin (99.0% saflıkta) DMSO içerisinde tam olarak çözündürülerek çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Kullanıncaya kadar +4 °C’de bekletilmiştir (Resim 3.3).



Resim 3.2. Tez çalışmasında kullanılan saf Glisirizin

3.2.2. Meyan kökü ekstraktı için GC-MS analizi

G. glabra’dan elde edilen etanolik ekstrakt Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresinde (GC-MS) incelenmek üzere hazır hale getirilmiştir. Daha sonra, 1 µL numune GC-MS’e enjekte edilerek analiz edilmiştir. Analiz GC-MS (Agilent D-7890B GC-5977MSD) ile yapılmıştır (Resim 3.4) Kapillar kolon 30 m uzunluk, 250 µm çap, 0.5 µm film kalınlığında olacak şekilde kullanılmıştır (Tablo 3.1). 1,2 mL/dk akış hızıyla analizler gerçekleşirken taşıyıcı gaz olarak, helyum gazı kullanılmıştır. Meyan kökü ekstraktların analizinde başlangıç kolon sıcaklığı 60 °C/dk olup, son sıcaklık 250 °C ye çıkarılmıştır. Analiz sonucu belirtilecek olan pik değerleri referans kütüphanesi ile tanımlanmıştır [105].

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan GC-MS cihazının özellikleri

| | |
|------------------|-----------------------------------|
| Marka ve Model | Agilent GC-MSD - 7890B GC-5977MSD |
| Gaz akış hızı | 1,2 mL/dk |
| Taşıyıcı gaz | Helyum |
| Kolon tipi | 30m x 250 µm x 0.5 µm |
| Enjeksiyon hacmi | 1 µL |

**Resim 3.3.** Çalışmanın gerçekleştirildiği GC-MS cihazı

3.2.3. Antimikrobiyal aktivite testleri

G. glabra'dan elde edilen etanolik ekstrakt ve biyoaktif bileşeni olan glisirizinin antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde kuyu difüzyon yöntemi ve mikro dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite sonuçları Klinik Laboratuvarları Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterleri esas alınarak yorumlanmıştır [106].

3.2.3.1. Mikroorganizmalar ve inokülümün hazırlanması

G. glabra'dan elde edilen etanolik ekstrakt ve biyoaktif bileşeni olan glisirizinin antimikrobiyal aktiviteleri 5 Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Bacillus cereus* ATCC®7064, *Bacillus subtilis* ATCC®6633, *Listeria monocytogenes* ATCC®7677, *Streptococcus mutans* ATCC®35668) 5 Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC®25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603, *Citrobacter freundii* ATCC®43864 *Salmonella enteritidis* ATCC®13076) bakteriler ve 1

maya (*Candida albicans* ATCC®10231) standart suşları kullanılarak test edilmiştir. Suşların aktifleştirilmesinde bakteriler TSA'a inoküle edilerek 24 saat 37 °C'de, mantarlar için ise SDA üzerine inoküle edilerek 24-48 saat 25 °C 'de inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri üzerinde üreyen bakterilerden her bir suşa ait 1 koloni steril bir eküvyon yardımı ile alınarak serum fizyolojik içerisinde (%0,9'luk NaCl) 0,5 McFarland (~ 1.5 x 10⁸ CFU/mL) bulanıklığında her bir mantar örneğine ait bir koloni alınarak (10⁷ CFU/mL) mikroorganizma süspansiyonları hazırlanmıştır.

3.2.3.2. Kuyu difüzyon testi

Kuyu difüzyon testi için hazırlanan mikroorganizma süspansiyonları steril bir eküvyon yardımıyla bakteriler için MHA üzerine maya için SDA üzerine yayma ekimi yapılmıştır. Oda ısısında 5-10 dk bekletildikten sonra 6 mm çapındaki steril bir aparatla agar üzerinde delik açılmıştır. Ekstrakt ve Glisirizin 4000 µg/mL konsantrasyonda olacak şekilde DMSO (toksik etki oluşturmaması için %0,1'lik DMSO kullanılmıştır) ile hazırlanmış ve 50 µL olacak şekilde kuyulara ilave edilmiştir. Pozitif kontrol olarak bakteriler için gentamisin (CN, 10 µg) maya için ketokonazol (KTC, 50 µg) antibiyotikleri kullanılmıştır. Negatif kontrol için konsantrasyon ayarlanmasında çözücü olan DMSO kullanılmıştır. Hazırlanan petri kapları bakteriler için 37 °C 'de 24 saat mayalar için 25 °C 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapı bir kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir [106 ve 107].

3.2.3.3. Mikrodilüsyon testi

Mikrodilüsyon testindeki amaç mikroorganizmaları öldürecek ya da üremesini durduracak etkili olan en küçük konsantrasyonu bulmaktır. Bu amaçla minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri belirlenmiştir. 96 kuyulu U tabanlı plakalardan yararlanılmıştır. Öncelikle her bir kuyuya 100 µL katyon ayarı yapılmış bakteriler için MHB mayalar için SDB ilave edilmiştir. Ekstrat ve glisirizinin 4000 µg/mL konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanarak yarı yarıya seyreltilerek mikropalakalara ilave edilmiştir. Ardından önceden hazırlanmış olduğumuz 0,5 McFarland bakteri süspansiyonlarını kuyulara inoküle edilerek bakteri için 37 °C 'de 24 saat maya için 25 °C 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gözle görülür üremenin olduğu kuyudan bir

önceki yani üremenin olmadığı en küçük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır [106 ve 107].

3.2.3.4. Minimum bakteriyosidal ve fungisidal konsantrasyonlarının (MBK, MFK) belirlenmesi

Ekstrakt ve glisirizinin belirlenen MİK değeri üzeri konsantrasyona sahip kuyulardan alınan örneklerin steril bir eküvyon yardımıyla aseptik teknikler doğrultusunda alınan örneklerin TSA ve SDA'ya ekimleri gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan plakları 37 °C ve 25 °C'de 18-24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Belirlenen sürenin ardından mikroorganizmaların %99'unu öldürdüğü minimum antimikrobiyal madde konsantrasyonu (MBK) değeri olarak değerlendirilmiştir [108].

3.2.4. Antikanser aktivitenin belirlenmesi

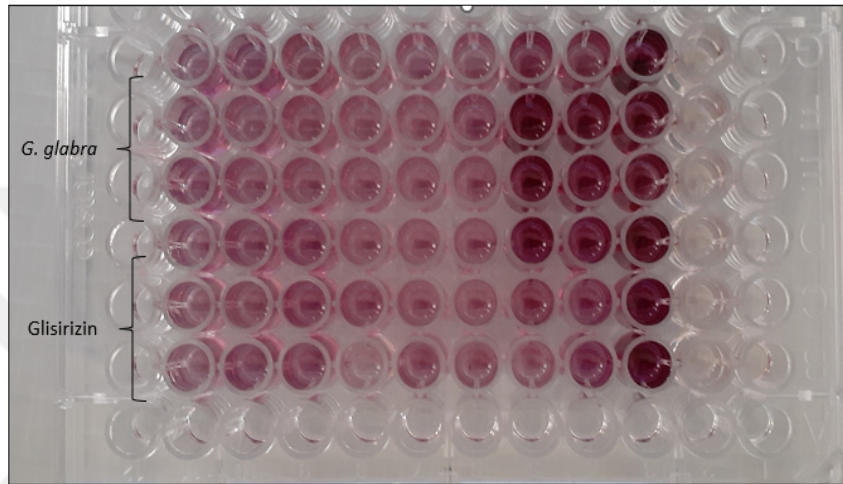
3.2.4.1. Hücre kültürü ve kültür şartlarının hazırlanması

Sitotoksik aktivitenin belirlenmesi Amasya Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, insan hepasellular karsinoma (Hep G2) hücre hatları hücre hatları kullanılmıştır. Hücreler %10 (v/v) fetal bovin serum (FBS), %1 L-glutamin, 100 ünite/mL penisilin/streptomisin, %9,2 NaHCO₃ içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içinde, %5 CO₂ atmosfer ve %95 nem ortamında inkübasyona bırakılmıştır. Hücreler stokları açılığında öncelikle 25 cm² sonra 75 cm² hacimli flaklarda monolayer tabaka oluşturması sağlanmıştır. Yaklaşık olarak %80 doluluk oranına ulaşan hücrelerin pasajlanması sırasında ise %1'lik Tripsin/EDTA kullanılmıştır.

3.2.4.2. MTT testi ile sitotoksitenin belirlenmesi

Hücreler üzerinde sitotoksitenin belirlenmesinde kullanılan 3-4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT) testi mitokondri aktivitesine bağlı olan bir test olup hücre canlılık testi olarak da bilinmektedir [109 ve 110]. Hücreler uygun besin ortamlarında büyütüldükten sonra yaklaşık olarak %80 doluluk oranına ulaştıklarında hücre sayıları belirlenerek MTT testi için uygun hücreler belirlenmiştir. 96 kuyulu düz tabanlı hücre kültür kaplarına (Resim 3.4) 100 µL medyum + hücre olacak şekilde ilave edilip 24 saat 37 °C'de ve %5 CO₂ içeren ortamda inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat

sonrasında yüzeye yapışan hücreler farklı dozlarda meyhan kökü ekstraktı ve glisirizin ile muamele edilerek 24, 48 ve 72 saat hücreler inkübasyona bırakılmıştır. Gerekli sürelerin sonunda besiyeri hücre kültür kaplarından uzaklaştırılarak son konsantrasyonu 5 mg/mL olacak şekilde MTT solüsyonu ilave edilmiştir. Yaklaşık olarak 3 saat 37 °C’de bekletilmiştir. Süre sonunda hücre kültür kabı tekrar boşaltılarak 100 µL DMSO ilave edilerek 10 dakika formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır.



Resim 3.5. Hazırlanan MTT plağı

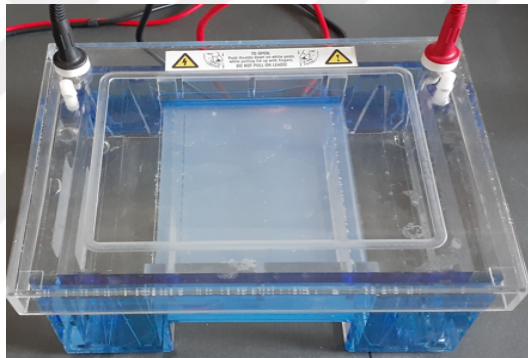
Hücrelerin dansiteleri, multiplaka okuyucuda (Resim 3.6) 570 nm’de ölçülerek hücrelerin %50 sini öldüren doz (Inhibitör konsantrasyonu, IC_{50}) değeri belirlenmiştir. Çözücü kontrol %100 olarak kabul edilip sonuçlar bu değere göre yorumlanmıştır.



Resim 3.7. Çalışmada ölçümlerin yapıldığı multiplaka okuyucu

3.2.5. DNA interaksiyon çalışmaları

G. glabra L. ekstraktlarının ve glisirizinin hidroksil radikal aracılı plazmit DNA hasarı üzerindeki koruyucu etkisini araştırmak için pBR322 plazmit DNA kullanılmıştır. İlk olarak, *G. glabra* L. ekstraktlarının ve glisirizin örnekleri DMSO içerisinde farklı konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Tris-EDTA (TE) tamponunda 0.25 $\mu\text{g} / \mu\text{L}$ plazmit DNA pBR322, 1 μl %3 H_2O_2 , 0.1g/mL *G. glabra* L. özütü ve glisirizin içeren bir reaksiyon karışımı (20 μl nihai hacim) hazırlanmıştır. Kontrol grubu olarak H_2O_2 ve %0,1 DMSO ile muamele edilmiş plazmid DNA'lar kullanılmıştır. Hazırlanan karışım 37 $^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Karışıma (10 μl toplam hacim) 2 μl yikleme boyası (bromofenol mavisi [%0.025] ve sükroz [%4]) ilave edilecek ve %1 agaroz jeli üzerine yüklenmiştir. Elektroforez işlemi, TBE tamponunda (pH 8) 80 V'de 90 dakikada elektrik akımına maruz bırakılmıştır (Resim 3.7). Jel, UV ışığı altında görüntülenmiştir [111 ve 112].

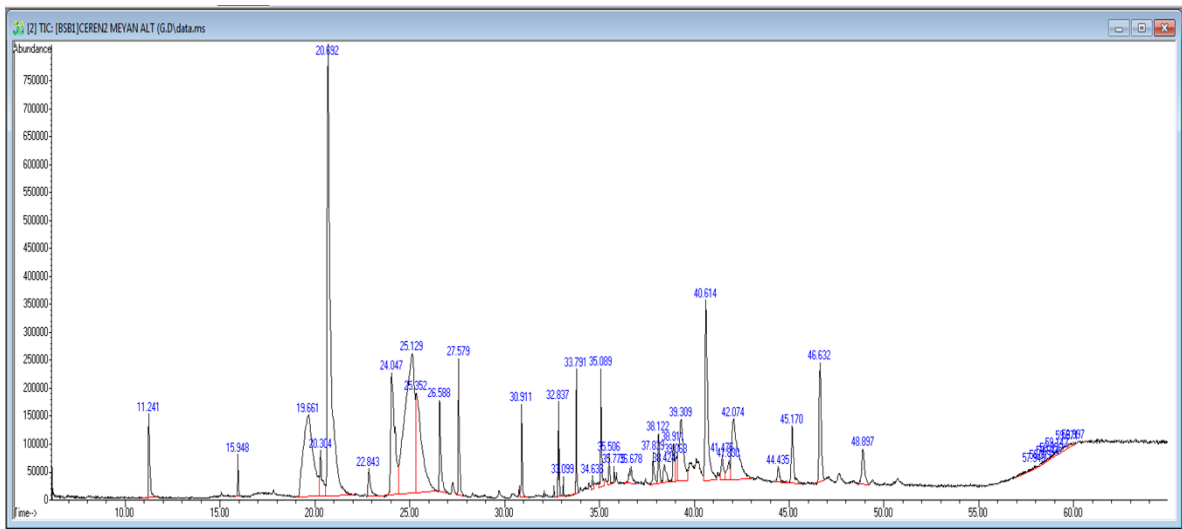


Resim 3.8. Çalışmada kullanılan jel elektroforezi

4. BULGULAR

4.1. *G. glabra* Ekstraktı için GC-MS Analizi

G. glabra ekstraktının bileşenlerin GC-MS ile tayini için maddelerin tutulma zamanı, maddelerin adı ve maddelerin yüzde (%) konsantrasyonu tablo halinde gösterildi (Tablo 4.1, Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *G. glabra* ekstraktlarının biyoaktif bileşenlerinin GC-MS sonucu elde edilen kromatogram

Kromatogram sonucunda ana piklerin bileşenleri Tablo 4.1’de verilmiştir. GC-MS sonuçlarına göre *G. glabra*’nın en fazla %18,59 oranında 2,8-Dimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]furan-6-one, %16.58 oranında Thiophene, %9.97 oranında 1,5 - anhydro – arabino-furanose, %6.18 oranında 4'-O-Methylglabridin, %4.76 oranında 2 Bicyclo[2.2.1]heptane-2-acetamide, %1.95 oranında 1-Naphthol, %1.95 oranında 2-Cyanoimino-4,5-dihydro-5-phenyl-1,3-dioxazole, %1.33 oranında n-Tetracosanol-1, %1.28 oranında Peracetyl-Maltotetraose-1-Phenylfl, %1.23 oranında Cycloheptasiloxane, %1.20 oranında 1-Nonadecanol bileşenlerini içerdiği diğer bileşenlerin %1’in altında olduğu tespit edildi.

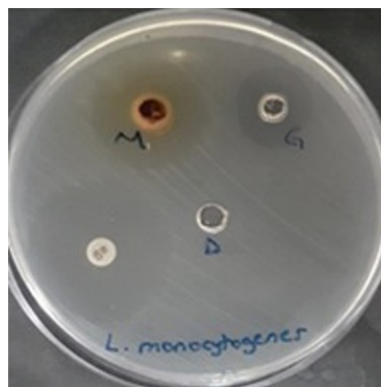
Tablo 4.1. Ekstraktların GC-MS sonuçlarına göre biyoaktif bileşenleri ve oranları

| | RT (dk) Tutunma zamanı | Bileşimin adı | % Alan |
|----|---------------------------------------|--|---------------|
| 1 | 11,249 | Benzeneacetonitrile | 1,65 |
| 2 | 15,944 | Cyclohexasiloxane | 0,34 |
| 3 | 19,661 | 1,5 - anhydro - arabino – furanose, Cyclopentanol | 9,97 |
| 4 | 20,298 | Cycloheptasiloxane | 1,26 |
| 5 | 20,702 | 2,8-Dimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]furan-6-one | 18,59 |
| 6 | 22,848 | 4-Hexylacetophenone | 0,82 |
| 7 | 25,121 | Thiophene | 16,58 |
| 8 | 26,586 | 1-Naphthol | 1,95 |
| 9 | 27,585 | 2-Cyanoimino-4,5-dihydro-5-phenyl-1,3-dioxazole | 1,95 |
| 10 | 30,920 | Palmitic acid, ethyl ester | 0,92 |
| 11 | 32,832 | Linoleic acid ethyl ester | 0,97 |
| 12 | 33,788 | 1-Nonadecanol | 1,20 |
| 13 | 34,637 | Benzoic acid | 0,19 |
| 14 | 35,084 | n-Tetracosanol-1 | 1,33 |
| 15 | 35,508 | 1,2-Benzenedicarboxylic acid | 0,43 |
| 16 | 37,845 | 2-morpholino-4H-pyrimido[2,1-a]isoquinolin-4-one | 0,55 |
| 17 | 38,418 | Phthalic acid | 0,60 |
| 18 | 38,907 | Shinpterocarpin | 0,89 |
| 19 | 39,311 | Eryvarin | 3,70 |
| 20 | 40,607 | 4'-O-Methylglabridin | 6,18 |
| 21 | 42,072 | Bicyclo[2.2.1]heptane-2-acetamide | 4,76 |
| 22 | 48,892 | Peracetyl-Maltotetraose-1-Phenylfl | 1,28 |
| 23 | 57,941 | 2-Methyl-5H-dibenz[b,f]azepine | 0,19 |
| 24 | 58,302 | Arsenous acid | 0,07 |
| 25 | 58,642 | Decamethyltetrasiloxane | 0,10 |
| 26 | 58,855 | 3-Quinolinecarboxylic acid | 0,10 |
| 27 | 59,152 | Tetrasiloxane | 0,19 |
| 28 | 59,662 | 1,4-Bis(trimethylsilyl)benzene | 0,39 |

4.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Bu çalışmada *G. glabra* özütünün antimikrobiyal aktivitesi bazı Gram negatif, Gram pozitif bakterilere ve mayaya karşı kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak antibakteriyel etki için gentamisin, antifungal etki için ise ketokonazol antibiyotiği negatif kontrol olarak ise DMSO kullanılmıştır. İnhibisyon zonları kumpas yardımıyla ölçülerek milimetre (mm) cinsinden kaydedilmiştir. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde testler 3 tekrarlı olarak çalışılmış ve elde edilen sonuçların ortalama \pm standart sapma değerleri Tablo 4.2’de özetlenmiştir.

Kuyu difüzyon sonucuna göre *G. glabra* etanol özütünün Gram pozitif bakteriler üzerinde daha etkili olduğu görülmüştür. Özellikle *S. mutans* ($19,66 \pm 1,52$), *L. monocytogenes* ($20,66 \pm 1,15$), *B. cereus* ($15,66 \pm 1,15$), *S. aureus* ($15,33 \pm 0,57$) üzerinde geniş bir inhibisyon zonu açtığı belirlenmiştir. Gram negatif bakteriler arasında ise en etkili *S. Enteritidis* ($16,66 \pm 0,57$) üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir. *G. glabra* özütünün *C. albicans*’a karşı orta derecede antifungal etkiye sahip olduğu görülmüştür ($14,33 \pm 1,52$). Bu çalışmada *G. glabra*’nın biyoaktif bir bileşeni olan glisirizininde aynı zamanda antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Gram negatif bakterilerden *S. Enteritidis* ($18,66 \pm 1,15$) üzerinde en yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda antifungal etkiye de sahip olduğu tespit edilmiş olup *C. albicans* üzerinde önemli antifungal etkiye sahip olduğu görülmüştür ($15,00 \pm 0,00$). Negatif kontrol olarak kullanılan DMSO’nun %0,1’lik konsantrasyonu toksik etki göstermeyip bakteriler için ise herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermemiştir (Resim 4.1, Tablo 4.2).



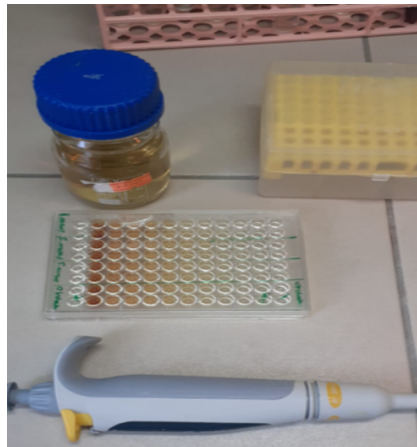
Resim 4.1. *G. glabra* özütlerine ait kuyu difüzyon sonuçları, M: Meyan kökü (*G. glabra*), D: DMSO, G: Glisirizin

Tablo 4.2. Kuyu difüzyon testi sonuçları (mm, mean±std)

| | <i>G. glabra</i> | Glisirizin | DMSO (%0,1) | CN | KTC |
|-------------------------|------------------|------------|----------------|--------------|--------------|
| <i>S. mutans</i> | 19,66 ± 1,52 | 16,33±0,57 | - | 26,66 ± 0,57 | NT |
| <i>S. aureus</i> | 15,33 ± 0,57 | 14,33±1,15 | - | 22,33 ± 0,57 | NT |
| <i>B. cereus</i> | 15,66 ± 1,15 | - | - | 16,00 ± 0,57 | NT |
| <i>B. subtilis</i> | 12,00 ± 1,00 | - | - | 17,00 ± 0,00 | NT |
| <i>L. monocytogenes</i> | 20,66 ± 1,15 | 17,66±1,52 | - | 28,66 ± 0,57 | NT |
| <i>K. pneumoniae</i> | 11,00 ± 1,73 | 14,00±1,00 | - | 17,66 ± 1,15 | NT |
| <i>E. coli</i> | 13,66 ± 1,52 | - | - | 19,00 ± 1,00 | NT |
| <i>S. Enteritidis</i> | 16,66 ± 0,57 | 18,66±1,15 | - | 25,00 ± 1,00 | NT |
| <i>C. freundii</i> | 11,00 ± 1,00 | - | - | 23,66 ± 1,15 | NT |
| <i>P. aeruginosa</i> | 11,66 ± 1,66 | - | - | 19,33 ± 0,57 | NT |
| <i>C. albicans</i> | 14,33 ± 1,52 | 15,00±0,00 | - | NT | 16,66 ± 0,57 |

DMSO: Dimetil sülfoksit, (-): İnhibisyon zonu oluşmamıştır, CN: Gentamisin (30 µg)
KTC (50 µg): Ketokonazol, NT: Test edilmedi.

Aynı zamanda bu tez çalışmasında *G. glabra* özütünün Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan mikrodilüsyon testi Resim 4.2’de gösterilmiştir.

**Resim 4.2.** Çalışmada kullanılan mikrodilüsyon testi

Bu yöntem antibakteriyel duyarlılık testleri için referans yöntemdir. Bir mikroorganizmanın gözle görülebilir olarak üremesinin inhibe olduğu en düşük antibakteriyel ajan konsantrasyonu “Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK)” olarak belirlenir. Dilüsyon testleri sonucunda elde edilen MİK değerleri, enfeksiyona neden olan mikroorganizmayı inhibe etmek için gerekli olan antibakteriyel ajanın konsantrasyonunu vermektedir. Mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen minimum inhibisyon konsantrasyonu sonucu Tablo 4.3’te belirtilmiştir.

Tablo 4.3. Minimum inhibisyon konsantrasyonları ($\mu\text{g/mL}$)

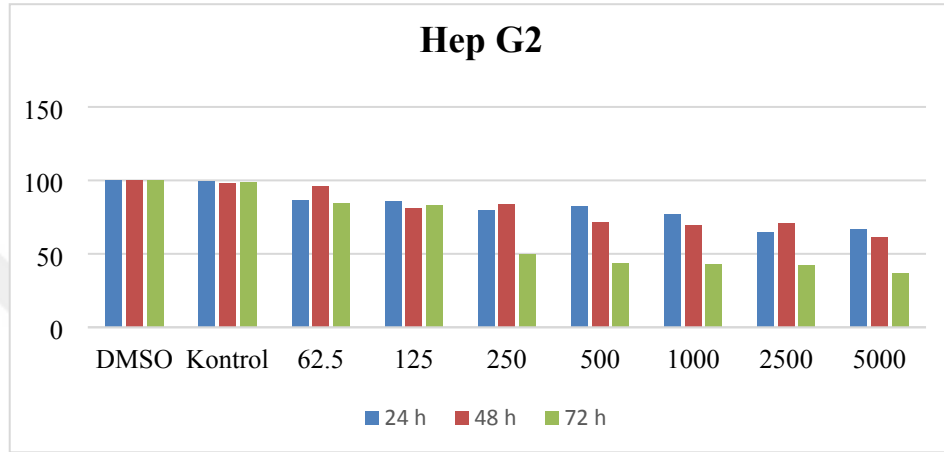
| Mikroorganizma | <i>G. glabra</i> | Glisirizin | DMSO |
|-------------------------|------------------|------------|-------|
| <i>S. mutans</i> | 125 | 1000 | >4000 |
| <i>S. aureus</i> | 500 | 2000 | >4000 |
| <i>B. cereus</i> | 500 | >4000 | >4000 |
| <i>B. subtilis</i> | 1000 | >4000 | >4000 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 125 | 500 | >4000 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 4000 | 2000 | >4000 |
| <i>E. coli</i> | 2000 | 4000 | >4000 |
| <i>S. Enteritidis</i> | 500 | 250 | >4000 |
| <i>C. freundii</i> | 4000 | >4000 | >4000 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 4000 | >4000 | >4000 |
| <i>C. albicans</i> | 1000 | 1000 | >4000 |

DMSO: Dimetil sülfoksit

Tablo 4.3’te görüldüğü gibi *G. glabra* özütünün MİK değerine bakıldığında Gram pozitif bakterilerden *S. mutans*’a (125 $\mu\text{g/mL}$) karşı Gram negatif bakteriler arasında ise *S. Enteritidis*’e (500 $\mu\text{g/mL}$) karşı yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda özütler bir maya türü olan *C. albicans* üzerinde orta derecede antifungal aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir. *G. glabra* özütünün, *K. pneumoniae*, *C. freundii* ve *P. aeruginosa* organizmalarına karşı ise önemli bir antibakteriyel etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir. *G. glabra*’nın biyoaktif bileşeni olan glisirizinin mikro dilüsyon testi sonucu *S. Enteritidis* üzerinde MİK değeri 250 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir.

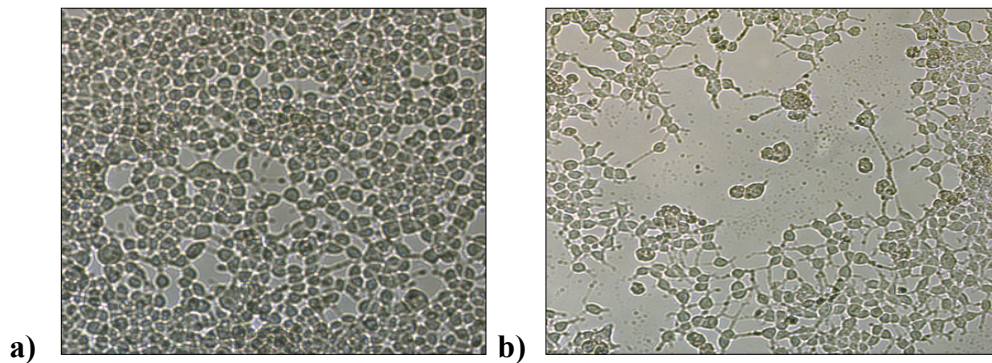
4.3. Sitotoksosite Testi

G. glabra ekstrakt Hep G2 hücre hattı üzerinde sitotoksitesini MTT yöntemiyle belirlenmiştir. Ekstrakta belirli konsantrasyonlarda (62,5, 125, 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/mL) 24, 48 ve 72 saat sürelerle maruz bırakılan hücrelerde canlılık oranı sonuçları ölçülmüş ve sonuçlar Şekil 4.2, ve Resim 4.3 'de özetlenmiştir.



Şekil 4.2. *G. glabra* ekstraktlarının Hep G2 hücre hattı üzerindeki sitotoksitesinin MTT testi sonuçları

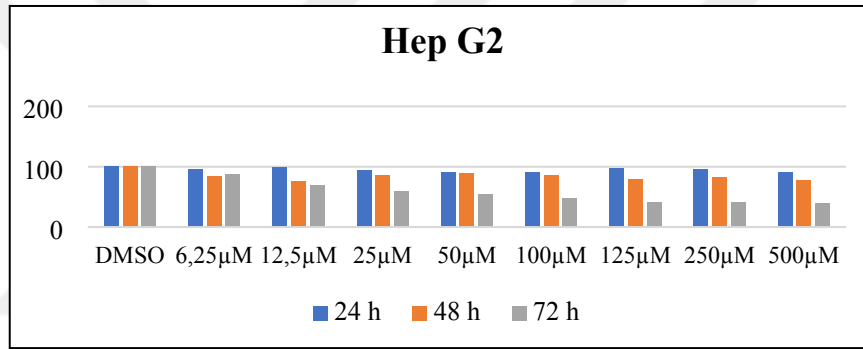
MTT testine göre, 24 ve 48 saatlik maruziyet sonrasında hücrelerin sayısında azalma gözlemlenmiştir. Fakat 72 saatlik deney süresi sonunda artan dozla beraber *G. glabra* ekstraktının HepG2 kanser hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. IC₅₀ değeri 250 µg/mL olarak belirlenmiştir.



Resim 4. 3. Çalışma sonrası *G. glabra* ekstraktı ile muamele edilen Hep G2 hücrelerinin ters faz mikroskopik görüntüleri a) DMSO kontrol b) 250 µg/mL konsantrasyonda *G. glabra* ekstraktı ile muamele edilen

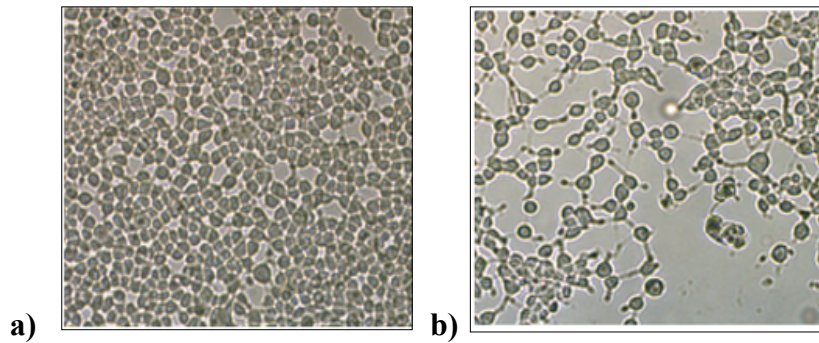
Resim 4.3'te çözücü kontrol olarak DMSO uygulanan hücreler ve IC₅₀ değeri olan 250 µg/mL konsantrasyonda *G. glabra* ekstraktı uygulanan Hep G2 hücrelerinin morfolojisi görülmektedir. Kontrol grubuna göre hücre morfolojileri karşılaştırıldığında, hücelere uygulanan ve sitotoksik konsantrasyon olan 250 µg/mL konsantrasyonun hücrelerin morfolojilerini kaybetmeye ve yüzeye tutunamamalarına neden olduğu görülmüştür.

Çalışmada ayrıca saf olarak satın alınmış ve *G. glabra*'nın önemli bir biyoaktif bileşeni olan glisirizinin Hep G2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri belirlenmiştir. DMSO içerisinde belirli konsantrasyonlarda (6,25, 12,5, 25, 50, 100, 250, 500 µM) hazırlanan glisirizine 24, 48 ve 72 saat sürelerle maruz bırakılan hücrelerde canlılık oranı sonuçları ölçülmüş ve sonuçlar Şekil 4.3'de ve Resim 4.4'te özetlenmiştir.



Şekil 4.3. Glisirizinin Hep G2 hücre hattı üzerinde sitotoksitesinin MTT testi sonuçları

Şekil 4.3'ten anlaşıldığı gibi 72 saatlik deney süresi sonunda artan dozla beraber glisirizinin Hep G2 kanser hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. IC₅₀ değeri 50 µM olarak belirlenmiştir.

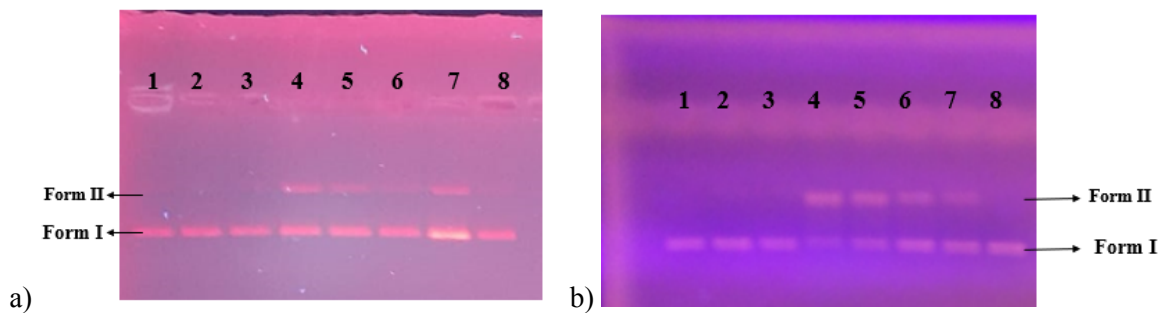


Resim 4.4. Glisirizin ile muamele edilen Hep G2 hücrelerinin ters faz mikroskopik görüntüleri a) DMSO kontrol, b) 50 µM konsantrasyonda glisirizin ile muamele edilen hücre hattı

Resim 4.4'te çözücü kontrol olarak DMSO uygulanan hücreler ve IC₅₀ değeri olan 50 µM konsantrasyonda glisirizin uygulanan HepG2 hücrelerinin morfolojisi görülmektedir. Kontrol grubuna göre hücre morfolojileri karşılaştırıldığında, hücrelere uygulanan ve sitotoksik konsantrasyon olan 50 µM glisirizin hücrelerin morfolojilerini kaybetmeye ve yüzeye tutunamamalarına neden olduğu belirlenmiştir.

4.4. DNA interaksiyon çalışmaları

DNA etkileşim çalışmaları, ekstraktların ve plazmit DNA'nın bağlanması sonucu H₂O₂ kaynaklı hasarın önlenmesinin belirlenmesine yönelik sonucun jel elektroforezi ile belirlenmesi esasına dayanır. DNA'daki konformasyonel değişim, süper sarmal DNA'nın (Form I) açık dairesel DNA'ya (Form II) ve lineer DNA'ya (Form III) dönüşümü dikkate alınarak yorumlanmıştır. Plazmid DNA jel elektroforezinde 3 formda gözlemlenir. Bunlardan süpersarmal form olan Form I, DNA'nın sıkı bir halde sarılı olarak bulunduğu form olduğu için jel üzerinde en hızlı hareket eden formunu oluşturur. DNA'nın bir zincirinde kesik oluşursa DNA süper sarmal formu bozularak Form II yapısı şekillenir ve je üzerinde en yavaş hareket eden formudur dolayısıyla en üstte duran bant olarak kendini belli eder. DNA üzerinde iki zincirde meydana gelen kırıklar ise DNA'nın doğrusal formu olan Form III yapısının şekillenmesine neden olur. Form III jel üzerinde Form I ve Form II arasında gözlemlenen DNA bantıdır [111]. Bu çalışmada ekstraktın plazmit DNA üzerinde konformasyonel değişikliklere neden olup olmadığını belirlemek için agaroz jel elektroforez yöntemini kullanmıştır.



Resim 4.5. pBR322 plazmit DNA ve farklı ekstrakt ve Glisirizin konsantrasyonlarının etkileşiminin agaroz jel elektroforez modeli, a) *G. glabra* ekstraktı, b) Glisirizin, Kuyu 1, Kuyu 2 ve Kuyu 3 sırasıyla plazmit DNA kontrol, TRIS-EDTA ve DMSO kontrol, Kuyu 4: H₂O₂ ve plazmit DNA kontrol Kuyu 5-8 sırasıyla 500, 1000, 2000 ve 4000 µg/mL aralığındaki ekstrakt ve bileşiklerle inkübe edilmiş plazmit DNA

Resim 4.5'te görüldüğü gibi pBR322 plazmit DNA üzerinde oluşan H₂O₂ kaynaklı hasarı *G. glabra* ekstraktı ve glisirizin düzeltmiştir. Özellikle en yüksek konsatrasyonda (4000 ug/mL, 8. kuyu) H₂O₂ kaynaklı hasarın önlendiği ve bantların kontrol grubuna benzediği açıkça görülmektedir.



5. TARTIŞMA

Bu çalışmada *G. glabra* ekstraktı için GC-MS analizi yapılmıştır. GC-MS sonuçlarına göre *G. glabra*'nın en fazla %18,59 oranında 2,8-Dimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]furan-6-one, %16.58 oranında Thiophene, %9.97 oranında 1,5 - anhydro - arabino-furanose bileşiklerini içerdiği tespit edilmiştir.

Mabkhot vd. [112]'nin yaptıkları çalışmada tiyofen türevlerinin bazı Gram negatif bakteriler, Gram pozitif bakteriler ve mantarlar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Disk difüzyon sonuçları tiyofenin bakteriler ve mayalar üzerinde önemli bir antimikrobiyel etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ancak bu etkinin Gram pozitif bakterilerde Gram negatif bakterilere göre daha fazla olarak tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada *G. glabra* ekstraktının içeriği GC-MS analizi ile belirlenmiştir. GC-MS sonuçlarına göre ekstrakt en fazla Carbamicacid,N-(3-chloro-4-methoxyphenyl)-,glycidyl ester, 2.olarak Lauric anhydrideve 3. olarak 3-Dibenzofuranamine bileşenlerini içermektedir. Aynı çalışmada disk difüzyon yöntemi ile ekstraktın antibakteriyel etkiye ve antifungal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Görülen bu antimikrobiyal etki ekstraktın içerdiği bileşenlere atıf edilmiştir. GC-MS sonuçlarının bizim çalışmamızdan farklı olmasının nedeni *G. glabra*'nın toplandığı alanın, toplama zamanının, toplanma yılının vb. farklı olmasından kaynaklanmış olabilir [113].

Başka bir çalışmada Tiyofenin, halk sağlığını tehdit eden 15 bakteri ve 4 mantar izolatına karşı antibakteriyel ve antifungal özellikleri alamar mavisini ile test edilmiştir. Sonuçlar, tiyofen bileşiğinin antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu özellikle *Enterococcus faecalis* izolatına karşı yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. MİK değerleri 2500 µg/ml olarak tespit edilmiştir [114].

Yaptığımız çalışmada *G. glabra* özütünün antimikrobiyal aktivitesi bazı Gram negatif, Gram pozitif bakterilere ve mayaya karşı kuyu difüzyon testi ile belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak antibakteriyel etki için gentamisin antifungal etki için ise ketokonazol antibiyotiği kullanılmıştır. *G. glabra* etanol özütünün Gram pozitif bakteriler üzerinde daha etkili olduğu görülmüştür. Gram negatif bakteriler arasında ise en etkili *S. Enteritidis* olarak belirlenmiştir. *G. glabra* özütünün *C. albicans*'a karşı orta derecede antifungal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Sultana vd. [115]'nin yaptıkları çalışmada *Glycyrrhiza glabra*'nın metanolik özünün, (*B. megaterium*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. lutea*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. paratyphi*, *S.*

typhi, *S. boydii*, *S. dysenteriae*, *Vibrio mimicus* ve *V. parahemolyticus*) 12 test bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile taranmıştır. Çoğu organizmanın ekstrakta duyarlı olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, en önemli antimikrobiyal aktiviteyi 22 mm inhibisyon zonu ile *S. aureus*'a karşı gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuçlara göre *G. glabra* özütü, *B. subtilis* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermiş ancak *P. aeruginosa*'ya karşı göstermemiştir.

Bir başka çalışmada *G. glabra*, mürver (*Sambucus nigra*) ve karahindiba (*Taraxacum officinale*) gibi çeşitli tıbbi bitki ekstraktlarının Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile taranmıştır. *G. glabra*'nın etanolik özleri, *S. aureus*, *E. coli*, *P. fluorescens* ve *B. cereus*'a karşı net inhibisyon aktivite göstermiştir [116].

Yahia [117] dört bakteriyel organizma "*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis*" üzerinde *G. glabra*'nın antibakteriyel etkisini disk difüzyon yöntemi ile incelemiştir. *G. glabra* L bitkisinden elde edilen flavonoid özütünün çok iyi bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini kanıtlamıştır, başka bir deyişle flavonoid özütü *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis*'in bakteriyel büyümesini engellemiştir. Bu sonuç, tıbbi bitki *G. glabra* L ve/veya flavonoid ekstresinin kullanımının özellikle önemli antibakteriyel etkiler oluşturduğunu göstermiştir.

S. aureus, dental implant yerleştirilmesinden sonra endodontik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca metisiline dirençli *S. aureus* hastanelerde ciddi enfeksiyonlara neden olan ajanlar olarak ortaya çıkmıştır. *S. mutans*, diş yüzeyine yapışan ve bir biyofilm oluşturan insanlarda diş çürüğünün önemli bir etiyolojik ajanıdır. Biyofilm oluşumu, *Candida* türleri için önemli bir virülans faktörüdür çünkü antifungal tedaviye direnci artırır. *C. albicans*, insanlarda en patojenik maya türüdür ve genellikle diş protezlerinde ve oral kandidiyazda tanımlanır. Oliveira vd. [118] *G. glabra* L. ekstraktının minimum inhibisyon konsantrasyonu *S. aureus* ve *S. mutans* için 100 mg/ mL ve *C. albicans*, için 50 mg/mL olarak bulmuştur.

Sedighinia vd. [119] bu çalışmada *G. glabra*'nın oral patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesini difüzyon yöntemleriyle ve hem sıvı hem de Agar seyreltme yöntemi minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ile değerlendirmiştir. Bu çalışmada kullanılan mikroorganizmalar arasında oral patojenler olarak *S. mutans*, *E. faecalis*, *S. aureus* ve *E. coli* yer almıştır. *G. glabra* ekstraktının analizi, tüm yöntemlerde dört bakteriye karşı inhibitör aktivite göstermiştir. Sonuçlara göre hiçbir suş bu ekstrakta direnç

göstermemiştir. Agar seyreltme yönteminde MİK değerleri *S. mutans* ve *E. faecalis* için 12,5 mg/ml ve *E. coli* ve *S. aureus* için ise 35 mg/ml olarak tespit edilmiştir.

Nikolova vd [120] bu çalışmada *G. glabra*'nın su-etanol ekstraktının, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteri suşları'na (*B. subtilis*, *S. aureus*, *S. saprophyticus* ve *E. coli*) karşı antibakteriyel aktivitesini incelemiştir. Test edilen ekstraktların aktivitesini belirlemek için antibakteriyel duyarlılık testlerinden biri olan agar disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Çalışmanın sonuçları, Gram-pozitif bakterilerdeki antibakteriyel potansiyelin Gram-negatif bakterilere göre daha etkili olduğunu ortaya koymuştur. Sonuçlar bizim çalışmamızı destekler biçimdedir.

Yapılan çalışmada şifalı bitkiler *G. glabra*, *Ficus religiosa* ve *Plantago major* ekstraktlarının *C. albicans* karşı antifungal aktivitesine bakılmıştır. Ekstraktlar, disk difüzyon yöntemi kullanılarak oral *C. albicans*'a karşı antifungal etkinlik testine tabi tutulmuştur. Çalışma sonucuna göre, *G. glabra* ekstraktı *C. albicans* üzerinde diğer ekstraktlara ve ayrıca flukonazol (10 µg) ve itrakonazol (10 µg) gibi sentetik antifungal ajanlara kıyasla daha güçlü bir inhibitör özellik [121].

Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada ise toplanan *G. glabra* MeOH ile ekstrakte edilip ve iki antimikrobiyal madde olan pinocembrin ve licoflavanone izole edilmiştir. İzole edilen maddelerin antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Bu bileşikler *B. subtilis*, *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı beklenen aktiviteyi göstermese de *Escherichia coli*'ye karşı iyi bir aktivite göstermiştir. MİK değerlerini bakıldığında en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi, pinocembrin *Candida albicans*'a (32 µg/disk) karşı licoflavanone ise *Bacillus subtilis*'e (32 µg/disk) karşı göstermiştir [122].

Dinteren vd. [123] bu çalışmada 3 farklı tür meyan kökü ekstraktları (*G. galabra*, *G. inflata* ve *G. uralensis*) ve işaret bileşikleri glabridin, licochalcone A ve glycycomarinin antibakteriyel aktivitelerini incelemiştir. Sonuçlara göre bu ekstraktlar Gram-pozitif bakteriler *S. aureus*, *S. mutans* ve *L. buchneri*'ye karşı antibakteriyel aktivite gösterirken, gram-negatif bakteri *E. coli*'ye karşı hiçbir aktivite göstermemiştir.

Esmaili vd. [48] yaptıkları çalışmada *G. glabra* ekstresinin antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Numune ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, *S. aureus*, *E. faecalis*, *A. baumannii*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumonia*'ya karşı disk difüzyon yöntemiyle değerlendirilmiştir. Ekstrakt numuneleri her bir mikroorganizmanın kültürlerinde 24 saat inkübe edilmiştir. Araştırma sonuçları, *G. glabra* ekstraktının hem

Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler üzerinde önemli bir antimikrobiyal etkisi etkisi olduğunu göstermiştir.

Nitalikar vd. [124] tarafından yapılan çalışmada *G. glabra* özütünün 4 farklı bakteride (*S. aureus*, *B. subtilisi*, *E. coli* ve *P. aerugenosa*) antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Çalışma sonucu, yaptığımız çalışmayı desteklemiştir ve *G. glabra* özütü bakteri suşlarına karşı iyi bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Literatürde *G. glabra* özütünün antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalar incelendiğinde bizim çalışmamıza benzer sonuçların olduğu gibi bazı farklı sonuçların bulunduğu tespit edilmiştir. Bitkilerin içeriğinin, örneğin hasat edildiği zamana, elde edildiği bölgedeki toprak yapısı ve iklim özelliklerine göre değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Bu durumun ise literatürdeki farklı sonuçların olmasının sebebi olarak açıklanabilir.

Yaptığımız çalışmada Hep-G2 hücreleri belirli konsantrasyonlardaki *G. glabra* ekstraktlarına (62,5, 125, 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/mL) 24, 48 ve 72 saat sürelerle maruz bırakılmıştır ve maruz bırakılan hücrelerde canlılık oranı MTT yöntemiyle belirlenmiştir. Fakat 72 saatlik deney süresi sonunda artan dozla beraber *G. glabra* ekstraktının Hep-G2 kanser hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. IC₅₀ değeri 250 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Popovich vd. [125] yaptıkları çalışmada meyan kökünün Hep-G2 hücre hattındaki sitotoksik aktivitesine bakmışlardır. Meyan kökü ekstraktları çeşitli konsantrasyonlarda (0,2-0,9 mg/mL) eklenmiş ve 72 saat inkübe edilmiştir. Kontrol grubu Hep-G2 hücreleri, kültür ortamı içermiş ancak ekstrakt içermemiştir. MTT sonuçları bizim çalışmamızı desteklemiştir ve artan dozla beraber meyan kökünün Hep-G2 hücre hattında sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. IC₅₀ değeri 0,5 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ayrıca glisirizinin Hep-G2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri belirlenmiştir. DMSO içerisinde belirli konsantrasyonlarda (6,25, 12,5, 25, 50, 100, 250, 500 µM) hazırlanan glisirizine 24, 48 ve 72 saat sürelerle maruz bırakılan hücrelerde canlılık oranı MTT testi ile belirlenmiştir. Sonuçlar artan dozla beraber glisirizinin Hep G2 kanser hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğunu görülmüştür. IC₅₀ değeri 50 µM olarak belirlenmiştir.

Sun vd. [126] her plakaya 5000 hücre/kuyu Hep-G2 hücresi ekmiştir. Hep-G2 hücreleri, 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda glisirizin solüsyonuna (0, 25, 50, 75, 100 ve 125 ug/ml) maruz bırakılmıştır. Daha sonra hücreler, hücre proliferasyonunu

değerlendirmek için CCK-8 çözeltisi ile inkübe edilmiştir. Hep-G2 hücrelerinin canlılığının glisirizin konsantrasyonundaki artışla azaldığı ve glisirizin 100 µg/ml konsantrasyonundaki hücre canlılığı üzerindeki inhibitör etkisinin yaklaşık %50 olduğu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, sonraki deneylerde 100 ug/ml'de glisirizin konsantrasyonu kullanılmıştır ve CCK-8 sonuçları glisirizin tedavisinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Hep-G2 hücre proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir.

Zhang vd. [127] Glisirizinin iyi farklılaşmış Hep-G2 ve zayıf farklılaşmış MHCC97-H hücreleri dahil olmak üzere iki tip HCC hücre hattındaki sitotoksik etkisini CCK-8 tahlili ile test etmiştir. Glisirizin uygulanan hücrelerin canlılığı, doza (0, 1, 2 ve 4 mmol/L) ve zamana (24, 48 ve 72 saat) bağlı olarak önemli ölçüde azalmıştır. Büyüme inhibisyonu için IC₅₀ değeri, Glisirizin ile işlenmiş HCC hücrelerinde hesaplanmıştır. Glisirizin, 48 saatlik tedaviden sonra 1 mmol/L'de yaklaşık %50 inhibisyon uygulamıştır. Hücre morfolojisinin görüntüleri bizim çalışmamızı desteklemiştir ve glisirizinin Hep-G2 hücrelerini önemli ölçüde öldürdüğünü göstermiştir.

Çalışmada geleneksel bir şifalı bitki olan meyan kökünde bulunan Licochalcone A' nın Hep-G2 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesine bakılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (0,5–128 µg/mL) Licochalcone A' ya 24 saat ve 48 saat süreyle maruz bırakılan Hep-G2 hücresi MTT testi ile değerlendirilmiştir. IC₅₀ değeri 24 saat ve 48 saat için için sırasıyla 6.008 µg/mL ve 13.736 µg/mL olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Licochalcone A' nın Hep-G2 hücrelerini doza bağlı bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir [128].

Al-Radadi [129] tarafından 2021 yılında yapılan çalışmada, Meyan kökü ekstresi kullanılarak oluşturulan altın nanopartiküllerin (AuNp) Hep-G2 hücreleri üzerindeki sitotoksikite etkisi, MTT tahlili ile incelenmiştir. İnceleme farklı konsantrasyonlarda (500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.6, 7.8, 3.9, 2, 1, 0 µg/mL) yapıp normal kontrol ile karşılaştırılmıştır. IC₅₀'nin değeri 23 ug/ml, olarak tespit edilmiştir. Meyan kökü ekstraktı ile sentezlenen AuNp, Hep-G2 hücre hattı büyümesindeki artışı zaman ve doza bağımlı bir şekilde durdurmuştur. Hep-G2 hatlarının morfolojik gözlemi, apoptotik hücrelerin göstergesi olan morfolojide dikkate değer değişiklikler ve azalmış hücre yoğunluğunu göstermiştir.

9 farklı coğrafi kökenden toplanan *G. glabra* örneklerinin Hep-G2 hücresindeki sitotoksik aktivitesi bu çalışmada MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Hücreler, 24 saat

boyunca 250ug/mL *G. glabra* ektratına maruz bırakılmıştır. MTT sonuçları Hep-G2 hücrelerinin test özütlerine karşı duyarlılığının çok az olduğunu göstermiştir (dokuz özün sekizi). Coğrafi kökenler arasında ülkemizden Konya ilinden toplanan örnekler mevcuttur ve bu örnek sitotoksik aktivite göstermemiştir. Bizim çalışmamızın aksine çıkan sonucun nedeni maruziyetin az olmasından kaynaklı olabilir. 72 saat maruziyette sitotoksik aktivite göstermesi olasıdır [130].



6. SONUÇ

Çalışmamızda *G. glabra*'nın bileşenlerini tayin etmek için GC-MS Analizi yöntemi kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre *G. glabra*'nın en fazla %18,59 oranında 2,8-Dimethyl-7,8-dihydro-6H-cyclohepta[b]furan-6-one, %16.58 oranında Thiophene, %9.97 oranında 1,5 - anhydro – arabino-furanose bileşiklerini içerdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada *G. glabra*'nın bazı Gram negatif, Gram pozitif bakteriler ve mayaya karşı antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon testi ile belirlenmiştir ve aynı zamanda Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak antibakteriyal etki için gentamisin antifungal etki için ise ketokonazol antibiyotiği kullanılmıştır. Kuyu difüzyon sonuçları *G. glabra*'nın bakteriler ve mayalar üzerinde önemli bir antimikrobiyal etkisi oluşunu ve bu etkinin en fazla Gram pozitifler üzerinde olduğunu göstermiştir. Gram pozitiflerden özellikle *L. monocytogenes* ($20,66 \pm 1,15$), Gram negatiflerden ise *S. Enteritidis* ($16,66 \pm 0,57$) üzerinde en fazla antibakteriyal etki gösterirken *C. albicans*'a karşı orta derecede antifungal etki göstermiştir.

Antikanser etkisi olduğu bilinen meyan kökünün Hep-G2 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda *G. glabra* ekstratları (62,5, 125, 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/mL) 24, 48 ve 72 saat sürelerle maruz bırakılan hücrelerdeki canlılık oranı ölçülmüştür. 72 saatlik deney süresi sonunda artan dozla beraber *G. glabra* ekstraktının Hep-G2 kanser hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. IC₅₀ değeri 250 µg/mL olarak belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca saf olarak satın alınmış ve *G. glabra*'nın önemli bir biyoaktif bileşeni olan glisirizinin Hep-G2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri belirlenmiştir. DMSO içerisinde belirli konsantrasyonlarda (6,25, 12,5, 25, 50, 100, 250, 500 µM) hazırlanan glisirizine 24, 48 ve 72 saat sürelerle maruz bırakılan hücrelerde canlılık oranı sonuçları ölçülmüştür. IC₅₀ değeri 50 µM olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında yapılan antimikrobiyal ve sitotoksik testler, *G. glabra*'nın önemli biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Elde ettiğimiz sonuçların *İn vivo* çalışmalarla da desteklenmesi için gelecekte yapılması planlanan çalışmalara fayda sağlayacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Fakim, A.G. (2006). Medicinal Plants: Traditions of Yesterday and Drugs of Tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27,1-93.
2. Yağız, F. (2015). *Bazı Galium (Rubiaceae) Türlerinin Uçucu Yağ Analizleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri*, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
3. Saraç, N. (2005). *Muğla Yöresinde Doğal Olarak Yayılış Gösteren Bazı Lamiaceae Türlerinin Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
4. Çiftçi, A. and Aksoy, A. (2015). Antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 1(2), 1-10.
5. Topal, M., Şenel, G. U., Topal, E. I. A. ve Öbek, E. (2015). Antibiyotikler ve Kullanım Alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 31(3), 121-127.
6. Chandra, J. H. and Gunasekaran, H. (2017). Screening of Phytochemical, Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Glycyrrhiza glabra* Root Extract. *Journal of Environmental Biology*, 38(1), 161.
7. Gorlenko, C. L., Kiselev, H. Y., Budanova, E. V., Zamyatnin Jr, A. A. and Ikryannikova, L. N. (2020). Plant Secondary Metabolites in the Battle of Drugs and Drug-Resistant Bacteria: New Heroes or Worse Clones of Antibiotics? *Antibiotics*, 9(4), 170.
8. Özdere, B. (2019). *Ratlarda Yüksek Yağlı Diyet ile Obezite Oluşumu Üzerine Meyan Kökü (Glycyrrhiza glabra) Ekstraktı Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Van 100. Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
9. Hamad, G., Elaziz, A., Hassan, S., Shalaby, M. and Mohdaly, A. A. A. A. (2020). Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Activities of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) Root and its Application In Functional Yoghurt. *Journal of Food and Nutrition Research*, 8(12), 707-715.
10. Ahmad-Nejad, P., Häcker, H., Rutz, M., Bauer, S., Vabulas, R. M., and Wagner, H. (2002). Bacterial CpG-DNA And Lipopolysaccharides Activate Toll-Like Receptors At Distinct Cellular Compartments. *European Journal of Immunology*, 32(7), 1958-1968.
11. Davis, P. H. (1965). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, I-IX. *Edinburg University Press*. p, 355, 1978-1988.

12. Karahan, F. (2013). *Hatay'da Yayılış Gösteren Glycyrrhiza Türleri [G. glabra L., G. echinata L. ve G. flavescens Boiss.] Üzerine Moleküler ve Ekolojik Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
13. Karataş, F. (2013). *Glycyrrhiza glabra L. (Meyan) Bitkisinin Farmakope Analizi ve Fitoterapideki Kullanılışı*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
14. Kılınç, F., Demircan, F., Yıldırım, Y., Yılmaz, Z., Pekkolay, Z. ve Tuzcu, A. K. (2014). Meyan Kökü (likoris) Kullanımına Bağlı Hipertansiyon ve Hipokalemi ile Seyreden 5 Vakanın Değerlendirilmesi. *Sakarya Tıp Dergisi*, 4(4), 186-190.
15. Pastorino, G., Cornara, L., Soares, S., Rodrigues, F. and Oliveira, M. B. P. (2018). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A Phytochemical and Pharmacological Review. *Phytotherapy research*, 32(12), 2323-2339.
16. Şahin, H. (2007). Câmi'ü'l-fürs Örneğinde XVI. Yüzyıl Bitki İsimleri. *Türkoloji Araştırmaları Dergisi*, 2(2), 576- 577.
17. Uygun, S. (2015). Batılıların Gözdesi Meyan Kökü ve Üzerine Yaşanan Emperyalist Rekabet. *Otam Dergisi*, 37(1), 337-373.
18. Bone, K. and Mills, S. (2013). Principles and Practice of Phytotherapy. *Modern Herbal Medicine*, 2(1), 718-719.
19. Najmaldin, S. K. (2015). *Antimicrobial, Aantioxidant and Phytochemicals Analyses of Glycyrrhiza glabra Collected from Northern of Iraq and Turkey*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
20. Adal, U. (2019). *Meyan (Glycyrrhiza glabra L.) Bitkisinin Cilt Kanseri Hücrelerinde Apoptotik Yolaklar Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
21. Ahmet, M., Şahin C. B. ve Akçalı, C. T. (2016). Hatay Yöresinde Doğal Olarak Yayılış Gösteren Bazı Tıbbi Bitkilerin Ekonomik Önemleri ve Kullanımları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 59-61.
22. Kaur, R., Kaur, H. and Dhindsa, A.S. (2013). *Glycyrrhiza glabra: A Phytopharmacological Review*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(7), 2470-2477.
23. İskit, E. (2022). *Meyan Kökü (Glycyrrhiza glabra) Ekstrelerinin ve Bazı Aktif Bileşenlerinin Monoaminoksidaz A ve Monoaminoksidaz B Aktiviteleri Üzerine Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
24. Güneşkaya, O. (2017). *Meyan Kökü Lifi Takviyeli Termoplastik Esaslı Kompozit Malzemelerin Isı Geçirgenlik ve Ses Yutum Özelliklerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bartın.

25. Fiore, C., Eisenhut, M., Ragazzi, E., Zanchin, G. and Armanini, D. (2005). A History of the Therapeutic Use of Licorice in Europe. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 317-324.
26. Anagha, K., Manasi, D., Priya, L. and Meera, M. (2012). Comprehensive Review on Historical Aspect of Yashtimadhu-*Glycyrrhiza glabra* L. *Global Journal of Research on Medicinal Plants and Indigenous Medicine*, 1(12), 687.
27. Jung, J. C., Lee, Y. H., Kim, S. H., Kim, K. J., Kim, K. M., Oh, S. and Jung, Y. S. (2015). Hepatoprotective Effect of Licorice, the Root of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer, in Alcohol-Induced Fatty Liver Disease. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1-10.
28. Wahab, S., Annadurai, S., Abullais, S. S., Das, G., Ahmad, W., Ahmad, M. F., Kandasamy, G., Vasudevan, R., Ali, S. and Amir, M. (2021). *Glycyrrhiza glabra* (Licorice): A Comprehensive Review on Its Phytochemistry, Biological Activities, Clinical Evidence and Toxicology. *Plants*, 10(12), 2751.
29. El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., El-Mleeh, A., M. Abdel-Daim, M. and Prasad Devkota, H. (2020). Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, and Pharmacological and Toxicological Activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae). *Biomolecules*, 10(3), 352.
30. Damle, M. (2014). *Glycyrrhiza glabra* (Licorice) - A Potent Medicinal Herb. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(2), 132-136.
31. Yamamura, Y., Kawakami, J., Santa, T., Kotaki, H., Uchino, K., Sawada, Y., Tanaka, N. and Iga, T. (1992). Pharmacokinetic Profile of Glycyrrhizin in Healthy Volunteers by a New High-Performance Liquid Chromatographic Method. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(10), 1042-1046.
32. Adianti, M., Aoki, C., Komoto, M., Deng, L., Shoji, I., Wahyuni, T. S., Lusida, M. I., Soetjipto, M., Fuchino, H., Kawahara N. and Hotta, H. (2014). Anti-hepatitis C Virus Compounds Obtained from *Glycyrrhiza uralensis* and other *Glycyrrhiza* Species. *Microbiology and Immunology*, 58(3), 180-187
33. Asl, M. N. and Hosseinzadeh, H. (2008). Review of Pharmacological Effects of *Glycyrrhiza* sp. and its Bioactive Compounds. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(6), 709-724.
34. He, Y., Hu, Z., Li, A., Zhu, Z., Yang, N., Ying, Z., He, j., Wang, Ç., Yin, S. and Cheng, S. (2019). Recent Advances in Biotransformation of Saponins. *Molecules*, 24(13), 2365.
35. Wu, Z., Singh, S. K., Lyu, R., Pattanaik, S., Wang, Y., Li, Y., Yuan, L. and Liu, Y. (2022). Metabolic Engineering to Enhance the Accumulation of Bioactive Flavonoids Licochalcone A and Echinatin in *Glycyrrhiza inflata* (Licorice) Hairy Roots. *Frontiers in Plant Science*, 13, 932594.

36. Luo, H., Tang, Q. L., Shang, Y. X., Liang, S. B., Yang, M., Robinson, N. and Liu, J. P. (2020). Can Chinese Medicine Be Used for Prevention of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19)? A Review of Historical Classics, Research Evidence and Current Prevention Programs. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 26(4), 243-250.
37. İnternet: <https://en.wikipedia.org/wiki/Glycyrrhizin>. Son Erişim Tarihi: 02.11.2022.
38. Fan, X., Fan, Z., Yang, Z., Huang, T., Tong, Y., Yang, D., Mao, X. and Yang, M. (2022). Flavonoids; Natural Gifts to Promote Health and Longevity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2176.
39. Simmler, C., Pauli, G. F. and Chen, S. N. (2013). Phytochemistry and Biological Properties of Glabridin. *Fitoterapia*, 90, 160-184.
40. Wang, H. L., Li, Y. X., Niu, Y. T., Zheng, J., Wu, J., Shi, G. J., Niu, B., Güneş T. and Yu, J. Q. (2015). Observing Anti-Inflammatory and Anti-Nociceptive Activities of Glycyrrhizin Through Regulating COX-2 and Pro-Inflammatory Cytokines Expressions in Mice. *Inflammation*, 38(6), 2269-2278.
41. Matsumoto, Y., Matsuura, T., Aoyagi, H., Matsuda, M., Hmwe, S. S., Date, T., Watanabe, N., Watashi, K., Suzuki, R., Ichinose, S., Wake, K., Wake, K., Miyamura, T. W., Wakita, T. and Aizaki, H. (2013). Antiviral Activity of Glycyrrhizin Against Hepatitis C Virus In Vitro. *Plos One*, 8(7), e68992.
42. Huan, C., Xu, Y., Zhang, W., Guo, T., Pan, H. and Gao, S. (2021). Research Progress on the Antiviral Activity of Glycyrrhizin and Its Derivatives in Licorice. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 680674.
43. Diomede, L., Beeg, M., Gamba, A., Fumagalli, O., Gobbi, M. and Salmona, M. (2021). Can Antiviral Activity of Licorice Help Fight COVID-19 Infection? *Biomolecules*, 11(6), 855.
44. Chandra, J. H. ve Gunasekaran, H. (2017). Screening of Phytochemical, Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Glycyrrhiza glabra* Root Extract. *Journal of Environmental Biology*, 38(1), 161.
45. Motsei, M. L., Lindsey, K. V., Van Staden, J. and Jäger, A. K. (2003). Screening of Traditionally Used South African Plants for Antifungal Activity Against *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(2-3), 235-241.
46. Messier, C. and Grenier, D. (2011). Effect of Licorice Compounds Licochalcone A, Glabridin and Glycyrrhizic Acid on Growth and Virulence Properties of *Candida albicans*. *Mycoses*, 54(6), e801-e806.
47. Gordon, M. H. and An, J. (1995). Antioxidant Activity of Flavonoids Isolated from Licorice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1784-1788.

48. Esmaeili, H., Karami, A., Hadian, J., Saharkhiz, M. J. and Ebrahimi, S. N. (2019). Variation in the Phytochemical Contents and Antioxidant Activity of *Glycyrrhiza glabra* Populations Collected in Iran. *Industrial Crops and Products*, 137, 248-259.
49. Singh, V., Pal, A. and Darokar, M. P. (2015). A Polyphenolic Flavonoid Glabridin: Oxidative Stress Response in Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Free Radical Biology and Medicine*, 87, 48-57.
50. Chen, X., Liu, Z., Meng, R., Shi, C. and Guo, N. (2017). Antioxidative and Anticancer Properties of Licochalcone A from Licorice. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 331-337.
51. Siracusa, L., Saija, A., Cristani, M., Cimino, F., D'Arrigo, M., Trombetta, D., Rao, F. and Ruberto, G. (2011). Phytocomplexes from Liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) Leaves; Chemical Characterization and Evaluation of Their Antioxidant, Anti-Genotoxic and Anti-Inflammatory Activity. *Fitoterapia*, 82(4), 546-556.
52. Hu, H., Lei, Y., Zhang, W., Xiong, P., Song, L., Luo, X., Jia, B. and Zhang, F. (2022). Anti-inflammatory Activity and Safety of Compound Glycyrrhizin in Ulcerative Colitis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Functional Foods*, 91, 105004.
53. Račková, L., Jančinová, V., Petříková, M., Drábíková, K., Nosál, R., Štefek, M., Košťálová, D. Prónayová, N. and Kováčová, M. (2007). Mechanism of Anti-Inflammatory Action of Liquorice Extract and Glycyrrhizin. *Natural Product Research*, 21(14), 1234-1241.
54. Zhang, Z., Yang, L., Hou, J., Tian, S. and Liu, Y. (2021). Molecular Mechanisms Underlying the Anticancer Activities of Licorice Flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, 267, 113635.
55. Yang, R., Wang, L. Q., Yuan, B. C. and Liu, Y. (2015). The Pharmacological Activities of Licorice. *Planta Medica*, 81(18), 1654-1669.
56. Abdel-Misih, S. R. and Bloomston, M. (2010). Liver Anatomy. *Surgical Clinics*, 90(4), 643-653.
57. Yalçın, M., Banu, Kara, Öztürk, Na, Ölmez, Ş., Taşdoğan, Be, & Adnan, Taş. (2016). Üst Gastrointestinal Sistem Kanamalı Hastaların Epidemiyolojisi ve Endoskopik Bulguları. *Dicle Tıp Dergisi*, 43 (1), 73-76.
58. Sibulesky, L. (2013). Normal Liver Anatomy. *Clinical Liver Disease*, 2(S1), 1-3.
59. İnternet: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/liver-anatomy-and-functions#:~:text=The%20liver%20consists%20of%20,form%20the%20common%20hepatic%20duct>. Son Erişim Tarihi: 19.11.2022.

60. İnternet: <https://drahmetdobrucali.com/karaciger-kanseri>. Son Erişim Tarihi: 21.11.2022.
61. İnternet: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/4496/mod_resource/content/0/13.hafta.pdf#:~:text=Karaci%C4%9Ferin%20yakla%C5%9F%C4%B1k%20%67'sini%20,gibi%20h%C3%BCre%20tipleri%20de%20. Son Erişim Tarihi: 28.11.2022.
62. Trefts, E., Gannon M. and Wasserman, D. H. (2018). The Liver. *Current Biology*, 27(21), 1-7.
63. Mitra, V. and Metcalf, J. (2012). Metabolic Functions of The Liver. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 13(2), 54-55.
64. Reinke, H. and Asher, G. (2016). Circadian Clock Control of Liver Metabolic Functions. *Gastroenterology*, 150(3), 574-580.
65. İnternet: <https://doctorlib.info/medical/biochemistry/32.html>. Son Erişim Tarihi: 21.12.2022
66. Torre, L. A., Siegel, R. L., Ward, E. M. and Jemal, A. (2016). Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends an Update Global Cancer Rates and Trends an Update. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 25(1), 16-27.
67. İnternet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Son Erişim Tarihi: 20.10.2022
68. İnternet: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1. Son Erişim Tarihi: 22.10.2022
69. Roy, P. S. and Saikia, B. (2016). Cancer and Cure: A Critical Analysis. *Indian Journal of Cancer*, 53(3), 441.
70. İnternet: <https://www.tkad.org.tr/wp-content/uploads/2021/09/karaciger-kanseri.pdf>. Son Erişim Tarihi: 28.10.2022.
71. Mejia, J. C. and Pasko, J. (2020). Primary Liver Cancers: İntrahepatic Cholangiocarcinoma and Hepatocellular Carcinoma. *Surgical Clinics*, 100(3), 535-549.
72. Massarweh, N. N. and El-Serag, H. B. (2017). Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma and İntrahepatic Cholangiocarcinoma. *Cancer Control*, 24(3), 1073-2748.
73. Sayiner, M., Golabi, P. and Younossi, Z. M. (2019). Disease Burden of Hepatocellular Carcinoma: A Global Perspective. *Digestive Diseases and Sciences*, 64(4), 910-917.
74. Balogh, J., Victor III, D., Asham, E. H., Burroughs, S. G., Boktour, M., Saharia, A., Li, X., Ghobrial, R. M. and Monsour Jr, H. P. (2016). Hepatocellular Carcinoma: A Review. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*, 3, 41.

75. Yang, J. D. and Roberts, L. R. (2010). Hepatocellular Carcinoma: A Global View. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 7(8), 448-458.
76. Birrer, R. B., Birrer, D. and Klavins, J. V. (2003). Hepatocellular Carcinoma and Hepatitis Virus. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 33(1), 39-54.
77. Di Bisceglie, A. M. (2009). Hepatitis B and Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*, 49(S5), S56-S60.
78. Chan, H. L. Y. and Sung, J. J. Y. (2006, May). Hepatocellular Carcinoma and Hepatitis B Virus. *In Seminars in Liver Disease*, 26(2): 153-161.
79. El-Serag, H. B. (2002). Hepatocellular Carcinoma and Hepatitis C in the United States. *Hepatology*, 36(5B), 74-83.
80. Wogan, G. N., Kensler, T. W. and Groopman, J. D. (2012). Present and Future Directions of Translational Research on Aflatoxin and Hepatocellular Carcinoma. A Review. *Food additives and contaminants: part A*, 29(2), 249-257.
81. Kew, M. C. (2013). Aflatoxins as a Cause of Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 22(3).
82. İnternet: <https://www.technologynetworks.com/cancer-research/articles/cancer-cells-vs-normal-cells-307366>. Son Erişim Tarihi: 05.11.2022.
83. İnternet: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer#:~:text=Cancer%20is%20a%20disease%20caused,sections%20of%20DNA%20called%20genes>. Son Erişim Tarihi: 08.11.2022.
84. İnternet: <https://www.verywellhealth.com/what-are-cancer-cells-2248795>. Son Erişim Tarihi: 10.11.2022.
85. Suski, J. M., Braun, M., Strmiska, V. and Sicinski, P. (2021). Targeting Cell-Cycle Machinery in Cancer. *Cancer Cell*, 39(6), 759-778.
86. Baba, A. I. and Cătoi, C. (2007). *Tumor Cell Morphology. In Comparative Oncology*. The Publishing House of the Romanian Academy.
87. İnternet: https://zona.fmed.uniba.sk/fileadmin/lf/sucasti/Teoreticke_ustavy/Ustav_patologickej_fyziologie/PATHOPHYSIOLOGY/cancer3.pdf. Son Erişim Tarihi: 10.10.2022.
88. İnternet: https://zona.fmed.uniba.sk/fileadmin/lf/sucasti/Teoreticke_ustavy/Ustav_patologickej_fyziologie/PATHOPHYSIOLOGY/cancer3.pdf. Son Erişim Tarihi: 10.10.2022.
89. Floor, S. L., Dumont, J. E., Maenhaut, C. and Raspe, E. (2012). Hallmarks of Cancer: of All Cancer Cells, All The Time? *Trends in Molecular Medicine*, 18(9), 509-515.

90. Dağdeviren, T. (2021). Programlı Hücre Ölümü; Apoptoz. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13 (3), 120-135.
91. Celepli, S., Bigat, İ., Celepli, P. ve Karagin, PH (2020). Apoptoz ve Apoptotik Yolların Gözden Geçirilmesi. *Güncel Gastroenteroloji*, 24(3), 103-111.
92. Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R. and Berneman, Z. N. (2005). Apoptosis: Mechanisms and Relevance in Cancer. *Annals of Hematology*, 84(10), 627-639.
93. Kashyap, D., Garg, V. K., and Goel, N. (2021). Intrinsic and Extrinsic Pathways of Apoptosis: Role in Cancer Development and Prognosis. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 125, 73-120.
94. Singh, P. and Lim, B. (2022). Targeting Apoptosis in Cancer. *Current oncology reports*, 1-12.
95. Xu, X., Lai, Y. and Hua, Z. C. (2019). Apoptosis and Apoptotic Body: Disease Message and Therapeutic Target Potentials. *Bioscience Reports*, 39(1), 1-17.
96. Kim, C. and Kim, B. (2018). Anti-Cancer Natural Products and Their Bioactive Compounds Inducing ER Stress-Mediated Apoptosis: A Review. *Nutrients*, 10(8), 1021.
97. Matthews, G. M., Newbold, A. and Johnstone, R. W. (2012). Intrinsic and Extrinsic Apoptotic Pathway Signaling as Determinants of Histone Deacetylase Inhibitor Antitumor Activity. *Advances in Cancer Research*, 116, 165-197.
98. Zahedifard, M., Lafta Faraj, F., Paydar, M., Yeng Looi, C., Hajrezaei, M., Hasanpourghadi, M., Kemalidehghan, B., Abdul Majid, N. A., Mohd Ali, H. And Ameen Abdulla, M. (2015). Synthesis, Characterization and Apoptotic Activity of Quinazolinone Schiff Base Derivatives Toward MCF-7 Cells Via Intrinsic and Extrinsic Apoptosis Pathways. *Scientific Reports*, 5(1), 1-17.
99. Carneiro, B. A. and El-Deiry, W. S. (2020). Targeting Apoptosis in Cancer Therapy. *Nature Reviews Clinical oncology*, 17(7), 395-417.
100. Green, D. R. and Llamby, F. (2015). Cell Death Signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(12), a006080.
101. Canpolat, F. (2016). Hücre Siklusu ve Apoptoz. *Güncel Dermatoloji Dergisi*, 1(1), 11-17.
102. Wong, R. S. (2011). Apoptosis in Cancer: From Pathogenesis to Treatment. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 30(1), 1-14.
103. Bertheloot, D., Latz, E. and Franklin, B. S. (2021). Necroptosis, Pyroptosis and Apoptosis: An Intricate Game of Cell Death. *Cellular and Molecular Immunology*, 18(5), 1106-1121.

104. Sales, A. J. and Bolouri, P. (2018). Evaluation of the Antimicrobial Effects of *Glycyrrhiza glabra* L. on Some Gram Positive and Gram Negative Pathogenic Bacteria in Laboratory Conditions. *Jorjani Biomedicine Journal*, 6(4), 78-84.
105. Chouitah, O., Meddah, B., Aoues, A. and Sonnet, P. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from *Glycyrrhiza glabra* Leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14(3), 284-288.
106. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2016). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement*. United States: Wayne Press.
107. Sedighinia, F., Afshar, A. S., Asili, J. and Ghazvini, K. (2012). Antibacterial Activity of *Glycyrrhiza glabra* Against Oral Pathogens: An In Vitro Study. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 2(3), 118
108. Chakotiya, A. S., Tanwar, A., Narula, A. and Sharma, R. K. (2016). Alternative to Antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*: Effects of *Glycyrrhiza glabra* on Membrane Permeability and Inhibition of Efflux Activity and Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa* and Its In vitro Time-Kill Activity. *Microbial Pathogenesis*, 98(1), 98-105.
109. Mosmann, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay. *Journal of Immunological Methods*, 65(1), 55-63.
110. Hejazi, I.I., Khanam, R., Mehdi, S.H., Bhat, A.M., Rizvi, M.M.A., Islam, A., Thakur, S.C. and Athar, F. (2017). New Insights into the Antioxidant and Apoptotic Potential of *Glycyrrhiza glabra* L. During Hydrogen Peroxide Mediated Oxidative Stress: An In Vitro and In Silico Evaluation. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 94, 265-279.
111. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Öztürk, A., Süzen, Y., Hökelek, T., Açık, L., Çelik, Z. B., Koç, L. Y., Yola, M. L. and Üstündağ, Z. (2013). Phosphorus-Nitrogen Compounds: Part 25. Syntheses, Spectroscopic, Structural and Electrochemical Investigations, Antimicrobial Activities, and DNA Interactions of Ferrocenyl di amino cyclotri phosphazenes. *Journal Phosphorus*, 12(1), 1723-1742.
112. Mabkhot, Y. N., Alatibi, F., El-Sayed, N. N. E., Al-Showiman, S., Kheder, N. A., Wadood, A., Bawazeer, S., Rauf, A., Hadda, T. B. (2016). Antimicrobial Activity of Some Novel Armed Thiophene Derivatives and Petra/Osiris/Molinspiration (POM) Analyses. *Molecules*, 21(2), 222.
113. Chandra, J. H. and Gunasekaran, H. (2017). Screening of Phytochemical, Antimicrobial And Antioxidant Activity of *Glycyrrhiz Glabra* Root Extract. *Journal of Environmental Biology*, 38(1), 161.
114. Süleymanoğlu, N., Demir, E. E., Direkel, Ş. and Ünver, Y. (2020). Theoretical Study and Antimicrobial Activities of New Schiff Base Derivatives with Thiophene. *Journal of Molecular Structure*, 1218, 128522.

115. Sultana, S., Haque, A., Hamid, K., Urmi, K. F. and Roy, S. (2010). Antimicrobial, Cytotoxic and Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Glycyrrhiza glabra*. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5), 957-60.
116. Rodino, S., Butu, A., Butu, M. and Cornea, P. C. (2015). Comparative Studies on Antibacterial Activity of Licorice, Elderberry and Dandelion. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 10(3), 947-955.
117. Yahia, A. (2013). Effect of Flavonoid Extract of the Medicinal Plant (*Glycyrrhiza glabra L.*) in the Region of Djamaa (south of Algeria) on the Growth of Some Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4), 58-62.
118. de Oliveira, J. R., de Castro, V. C., Vilela, P. D. G. F., Camargo, S. E. A., Carvalho, C. A. T., Jorge, A. O. C. and de Oliveira, L. D. (2013). Cytotoxicity of Brazilian Plant Extracts Against Oral Microorganisms of Interest to Dentistry. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 1-7.
119. Sedighinia, F., Afshar, A. S., Asili, J. and Ghazvini, K. (2012). Antibacterial Activity of *Glycyrrhiza glabra* Against Oral Pathogens: An in Vitro Study. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 2(3), 118.
120. Nikolova, I., Paunova-Krasteva, T., Petrova, Z., Grozdanov, P., Nikolova, N., Tsonev, G., Triantafyllidis, A., Andreev, S., Trepchova, M., Milkova, V. and Vilhelmova-Ilieva, N. (2022). Bulgarian Medicinal Extracts as Natural Inhibitors with Antiviral and Antibacterial Activity. *Plants*, 11(13), 1666.
121. Sharma, H., Yunus, G. Y., Agrawal, R., Kalra, M., Verma, S. and Bhattar, S. (2016). Antifungal Efficacy of Three Medicinal Plants *Glycyrrhiza glabra*, *Ficus Religiosa*, and *Plantago Major* Against Oral *Candida albicans*: A Comparative Analysis. *Indian Journal of Dental Research*, 27(4), 433.
122. Fukui, H., Goto, K., and Tabata, M. (1988). Two Antimicrobial Flavanones from the Leaves of *Glycyrrhiza glabra*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36(10), 4174-4176.
123. van Dinteren, S., Meijerink, J., Witkamp, R., van Ieperen, B., Vincken, J. P. and Araya-Cloutier, C. (2022). Valorisation of Licorice (*Glycyrrhiza*) Roots: Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Prenylated (iso) Flavonoids and Chalcones from Licorice Spent (*G. glabra*, *G. inflata*, and *G. uralensis*). *Food and Function*, 13, 12105–12120.
124. Nitalikar, M. M., Munde, K. C., Dhore, B. V. and Shikalgar, S. N. (2010). Studies of Antibacterial Activities of *Glycyrrhiza glabra* Root Extract. *International Journal of PharmTech Research*, 2(1), 899-901.
125. Popovich, D. G., Yeo, S. Y. and Zhang, W. (2011). Ginseng (*Panax quinquefolius*) and Licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) Root Extract Combinations Increase

Hepatocarcinoma Cell (Hep-G2) Viability. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.

126. Sun, Z., Tan, Z., Peng, C. and Yi, W. (2021). HK2 Is Associated With the Warburg Effect and Proliferation in Liver Cancer: Targets for Effective Therapy with Glycyrrhizin. *Molecular Medicine Reports*, 24(1), 1-1.
127. Zhang, X., Yang, H., Yue, S., He, G., Qu, S., Zhang, Z., Ma, B., Ding, R., Peng, W., Zhang, H., Yang, Z., Dou, K., Tao, K. and Li, X. (2017). The mtor Inhibition in Concurrence with ERK1/2 Activation is Involved in Excessive Autophagy Induced by Glycyrrhizin in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Medicine*, 6(8), 1941-1951.
128. Chen, X., Liu, Z., Meng, R., Shi, C. and Guo, N. (2017). Antioxidative and Anticancer Properties of Licochalcone A from Licorice. *Journal of ethnopharmacology*, 198, 331-337.
129. Al-Radadi, N. S. (2021). Facile One-Step Green Synthesis of Gold Nanoparticles (Aunp) Using Licorice Root Extract: Antimicrobial and Anticancer Study Against Hep G2 Cell Line. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(2), 102956.
130. Basar, N., Oridupa, O. A., Ritchie, K. J., Nahar, L., Osman, N. M. M., Stafford, A., Kushiev, H., Kan, A. and Sarker, S. D. (2015). Comparative Cytotoxicity of Glycyrrhiza glabra Roots from Different Geographical Origins Against Immortal Human Keratinocyte (Hacat), Lung Adenocarcinoma (A549) and Liver Carcinoma (Hep G2) Cells. *Phytotherapy Research*, 29(6), 944-948.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Rümeysa OLGUN

Doğum Yeri:

Doğum Tarihi:

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Beslenme ve Diyetetik / Nuh Naci Yazgan Üniversitesi

Yüksek Lisans Öğrenimi: Moleküler Tıp / Amasya Üniversitesi

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Uluslararası Bildiri

Cytotoxic activity of glycyrrhizin, the bioactive component of *Glycyrrhiza glabra* on human hepatocellular carcinoma cells (Hep-G2) ISPEC 3. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi (Sözlü bildiri-Aralık 2021).

Proje

Amasya Üniversitesi (FMB-BAP 21-0501) BAP, 'Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) ve Bileşeni Olan Glisirizin'in Antimikrobiyal Etkisinin ve İnsan Hepatoselüler Karsinoma Hücreleri (Hep-G2) Üzerindeki Antikanser Aktivitelerinin Araştırılması, 2021.

İLETİŞİM

E-posta Adresi: