

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ASTRAGALUS COMPACTUS SUBSP. COMPACTUS (GÜNİ) VE  
ENDEMİK VERBASCUM DİVERSİFOLIUM (NİZİP  
SIĞIRKUYRUĞU) TAKSONLARININ İN VİTRO BİYOAKTİF VE  
FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ebru Bahar ÇİÇEK**

Yüksek Lisans Tezi

KİMYA ANABİLİM DALI

Biyokimya Bilim Dalı

HAZİRAN 2022

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**ASTRAGALUS COMPACTUS SUBSP. COMPACTUS (GÜNİ) VE  
ENDEMİK VERBASCUM DİVERSİFOLIUM (NİZİP SIĞIRKUYRUĞU)  
TAKSONLARININ IN VİTRO BİYOAKTİF VE FİTOKİMYASAL  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Tez Yazarı  
**Ebru Bahar ÇİÇEK**

Danışman  
Doç. Dr. Serhat KESER

HAZİRAN 2022  
ELAZIĞ

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Başlığı: Astragalus compactus subsp. compactus (guni) ve Endemik Verbascum diversifolium (Nizip sığırkuyruğu) Taksonlarının In vitro Biyoaktif ve Fitokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Yazarı: Ebru Bahar ÇİÇEK

İlk Teslim Tarihi: 06.06.2022

Savunma Tarihi: 30.06.2022

**TEZ ONAYI**

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

*İmza*

Danışman: Doç. Dr. Serhat KESER  
Fırat Üniversitesi, Elazığ Organize Sanayi Bölgesi MYO

Onayladım

Başkan: Prof. Dr. Mustafa KARATEPE  
Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi

Onayladım

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Alpaslan KOÇAK  
Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

Onayladım

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ...../...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

*İmza*

Prof. Dr. Kürşat Esat ALYAMAÇ  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve Endemik *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) Taksonlarının In vitro Biyoaktif ve Fitokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi” Başlıklı Yüksek Lisans Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

30.06.2022

**Ebru Bahar ÇİÇEK**



# ÖNSÖZ

Bitkilerin gıda olarak tüketilmelerinin yanında doğrudan sağlığa faydalarının çeşitli *in vitro* yöntemlerle araştırılması, bilim dünyasında popülerliğini uzun yıllardır artarak korumaktadır. Bu amaçla özellikle endemik bitkilerin antiradikal, antioksidan, antikanser aktiviteleri ile içerdikleri fitokimyasal bileşiklerin belirlenmesi çalışmaları çok yoğun bir şekilde devam etmektedir. Bu tür çalışmalara katkı sağlayabilmek amacıyla, bu yüksek lisans tezinde Elazığ'da yetişen *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve endemik *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının *in vitro* antiradikal ve antikanser aktiviteleri ile fitokimyasal özellikleri saptanmıştır.

Bu tezin yürütülmesinde, çalışmalarımı yönlendiren, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen danışmanım sayın Doç. Dr. Serhat KESER'e, deneysel aşamaların gerçekleştirilmesinde katkıları olan Prof. Dr. Mustafa KARATEPE, Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ, Prof. Dr. Süleyman SANDAL, Doç. Dr. Suat TEKİN'e, ayrıca Kimya Bölüm Şefi Mehmet ORHAN ve Teknisyen Abdurrahman ÖKSÜZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından FF.19.34 protokol numaralı proje ile desteklenmiştir.

**Ebru Bahar ÇİÇEK**

ELAZIĞ, 2022

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

|                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ÖNSÖZ.....                                                                              | iv        |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                       | v         |
| ÖZET .....                                                                              | vii       |
| ABSTRACT .....                                                                          | viii      |
| TABLolar LİSTESİ .....                                                                  | ix        |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                           | x         |
| <b>1. GİRİŞ .....</b>                                                                   | <b>1</b>  |
| <b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>                                                          | <b>3</b>  |
| 2.1. Serbest Radikaller.....                                                            | 3         |
| 2.1.1. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları .....                                       | 4         |
| 2.2. Antioksidanlar .....                                                               | 4         |
| 2.3. Çalışılan Bitki Materyalleri .....                                                 | 5         |
| 2.3.1. <i>Astragalus compactus</i> subsp. <i>compactus</i> (Guni).....                  | 5         |
| 2.3.2. <i>Verbascum diversifolium</i> (Nizip Sığırkuyruğu) .....                        | 6         |
| 2.4. Tıbbi Öneme Sahip Bitkilerin Halk Arasında Kullanım Yolları .....                  | 6         |
| <b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>                                                       | <b>7</b>  |
| 3.1. Arazi Çalışmaları.....                                                             | 7         |
| 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Toplanma Detayları .....                         | 7         |
| 3.2. Ekstraksiyon Prosesi.....                                                          | 7         |
| 3.3. Antiradikal Aktivitenin Saptanması .....                                           | 7         |
| 3.3.1. ABTS Radikali .....                                                              | 8         |
| 3.3.2. DPPH Radikali .....                                                              | 8         |
| 3.3.3. OH Radikali .....                                                                | 8         |
| 3.4. Fitokimyasal İçeriklerin Saptanması .....                                          | 8         |
| 3.4.1. Total Flavonoit .....                                                            | 8         |
| 3.4.2. Total Fenolik .....                                                              | 9         |
| 3.4.3. Total Proantosiyanidin .....                                                     | 9         |
| 3.4.4. Bitkisel Sterol ve Vitaminler.....                                               | 9         |
| 3.4.5. Serbest Yağ Asitleri .....                                                       | 9         |
| 3.5. Antikanser Aktivitenin Saptanması .....                                            | 9         |
| 3.5.1. Hücre Türleri.....                                                               | 9         |
| 3.5.2. Hücre Beslenmesi.....                                                            | 10        |
| 3.5.3. Hücre Pasajlanması .....                                                         | 10        |
| 3.5.4. Bitki Örneklerinin Kültüre Eklenmesi.....                                        | 10        |
| 3.5.5. MTT Analizi.....                                                                 | 10        |
| 3.6. İstatistiksel Analizler .....                                                      | 10        |
| <b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>                                                    | <b>12</b> |
| 4.1. <i>Astragalus compactus</i> subsp. <i>compactus</i> (Guni)'a Ait Sonuçlar .....    | 12        |
| 4.1.1. <i>A. compactus</i> subsp. <i>compactus</i> Antiradikal Aktivite Sonuçları ..... | 12        |
| 4.1.2. <i>A. compactus</i> subsp. <i>compactus</i> Fitokimyasal Analiz Sonuçları.....   | 13        |
| 4.1.3. <i>A. compactus</i> subsp. <i>compactus</i> Antikanser Analiz Sonuçları .....    | 14        |
| 4.2. <i>Verbascum diversifolium</i> (Nizip Sığırkuyruğu)'a Ait Sonuçlar .....           | 16        |

|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.2.1. <i>V. diversifolium</i> Antiradikal Aktivite Sonuçları ..... | 16        |
| 4.2.2. <i>V. diversifolium</i> Fitokimyasal Analiz Sonuçları .....  | 17        |
| 4.2.3. <i>V. diversifolium</i> Antikanser Analiz Sonuçları .....    | 19        |
| <b>5. SONUÇLAR.....</b>                                             | <b>21</b> |
| ÖNERİLER .....                                                      | 22        |
| KAYNAKLAR.....                                                      | 23        |
| ÖZGEÇMİŞ                                                            |           |



## ÖZET

### Astragalus compactus subsp. compactus (guni) ve Endemik Verbascum diversifolium (Nizip sığırkuyruğu) Taksonlarının In vitro Biyoaktif ve Fitokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

**Ebru Bahar ÇİÇEK**

Yüksek Lisans Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Haziran 2022, Sayfa: x + 26

Bitkiler tarih boyunca insanoğlunun hem gıda olarak hem de şifa kaynağı olarak hayatının merkezinde yer almıştır. Teknoloji ve bilimdeki bütün gelişmelere rağmen bitkilerle tedaviye dünyanın birçok yerinde halen birincil tedavi yöntemi olarak başvurulmaktadır. Bu nedenle günümüzde bitkilerin içerdikleri fitokimyasal maddelerin tespiti, sahip oldukları potansiyel antiradikal, antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser özelliklerin tespiti bilimsel cazibesini arttırarak korumaya devam etmektedir.

Bu tür çalışmalara katkı sağlamak amacıyla hazırlanan yüksek lisans tezinde Elazığ ve çevresinde yetişen *Astragalus compactus* Lam., subsp. *compactus* (guni) ve endemik *Verbascum diversifolium* Hochst. (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının antiradikal, antikanser ve fitokimyasal bileşiklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bitkilerin antiradikal aktiviteleri ABTS, DPPH ve OH radikallerine karşı, antikanser aktiviteleri ise A2780 insan yumurtalık kanseri ve MCF-7 insan göğüs kanseri hücre serilerine karşı belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre, *V. diversifolium*'un bütün ekstraktları ABTS radikali yok etme testinde; *V. diversifolium* etanol ve metanol ekstraktları DPPH radikali yok etme testinde; *V. diversifolium* metanol ekstraktı OH radikali yok etme testinde standart antioksidan BHT'den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir. Her iki bitkinin de toplam fenolik, toplam flavonoid, toplam proantosiyanidin,  $\alpha$ -tokoferol, fitosteroller ve doymamış yağ asitleri bakımından zengin oldukları saptanmıştır. Antikanser analiz sonuçlarına göre ise her iki bitkinin de artan doza bağlı olarak yüksek antikanser aktiviteye sahip oldukları anlaşılmıştır.

Bu yüksek lisans tezinden elde edilen bütün sonuçlar ışığında Elazığ ve çevresinde yetişen *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve endemik *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin *in vitro* antiradikal ve antikanser aktiviteleri ile içerdikleri fitokimyasal bileşikler açıklığa kavuşturularak literatüre kazandırılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Astragalus compactus* subsp. *compactus*, *Verbascum diversifolium*, antiradikal, antikanser, fitokimyasal



## ABSTRACT

---

### Determination of In vitro Bioactive and Phytochemical Properties of *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) and *Verbascum* *diversifolium* (Nizip mullein) Taxa

Ebru Bahar ÇİÇEK

Master's Thesis

FIRAT UNIVERSITY  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

June 2022, Pages: x + 26

---

Throughout history, plants have been at the center of human life both as food and as a source of healing. Despite all the developments in technology and science, herbal treatment is still used as a primary treatment method in many parts of the world. For this reason, the determination of the phytochemical substances contained in plants and the detection of their potential antiradical, antioxidant, antimicrobial and anticancer properties continue to increase their scientific appeal.

In the master's thesis prepared to contribute to such studies, it was aimed to determine the antiradical, anticancer and phytochemical compounds of ethanol, methanol and water extracts of endemic *Astragalus compactus* Lam., subsp. *compactus* (guni) and endemic *Verbascum diversifolium* Hochst. (Nizip mullein) plants grown in and around Elazig. Antiradical activities of plants were determined against ABTS, DPPH and OH radicals, and anticancer activities were determined against A2780 human ovarian cancer and MCF-7 human breast cancer cell lines.

According to the results of the study, all extracts of *V. diversifolium* were in the ABTS radical scavenging test; *V. diversifolium* ethanol and methanol extracts in the DPPH radical scavenging test; *V. diversifolium* methanol extract in the OH radical scavenging test showed higher antiradical activity than the standard antioxidant BHT. It was determined that both plants are rich in total phenolic, total flavonoid, total proanthocyanidin,  $\alpha$ -tocopherol, phytosterols and unsaturated fatty acids. According to the results of the anticancer analysis, it was understood that both plants had high anticancer activity depending on the increasing dose.

In the light of all the results obtained from this master's thesis, the *in vitro* antiradical and anticancer activities of the *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) and endemic *Verbascum diversifolium* (Nizip mullein) plants grown in and around Elazig and the phytochemical compounds they contain have been clarified and brought to the literature.

**Keywords:** *Astragalus compactus* subsp. *compactus*, *Verbascum diversifolium*, antiradical, anticancer, phytochemical

## TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 4.1.</b> <i>Astragalus compactus</i> subsp. <i>compactus</i> ekstraktlarının antiradikal aktiviteleri .....                                          | 12 |
| <b>Tablo 4.2.</b> <i>Astragalus compactus</i> subsp. <i>compactus</i> 'un toplam proantosiyanidin, toplam flavonoit ve toplam fenolik bileşik miktarları..... | 13 |
| <b>Tablo 4.3.</b> <i>Astragalus compactus</i> subsp. <i>compactus</i> 'un vitamin, bitkisel sterol ve serbest yağ asidi içerikleri .....                      | 13 |
| <b>Tablo 4.4.</b> <i>Astragalus compactus</i> subsp. <i>compactus</i> ekstraktlarının insan yumurtalık kanserine (A2780) karşı antikanser özellikleri .....   | 15 |
| <b>Tablo 4.5.</b> <i>Astragalus compactus</i> subsp. <i>compactus</i> ekstraktlarının insan göğüs kanserine (MCF-7) karşı antikanser özellikleri.....         | 15 |
| <b>Tablo 4.6.</b> <i>Verbascum diversifolium</i> ekstraktlarının antiradikal aktiviteleri.....                                                                | 16 |
| <b>Tablo 4.7.</b> <i>Verbascum diversifolium</i> 'un toplam proantosiyanidin, toplam flavonoit ve toplam fenolik bileşik miktarları.....                      | 17 |
| <b>Tablo 4.8.</b> <i>Verbascum diversifolium</i> 'un vitamin, bitkisel sterol ve serbest yağ asidi içerikleri.....                                            | 18 |
| <b>Tablo 4.9.</b> <i>Verbascum diversifolium</i> ekstraktlarının insan yumurtalık kanserine (A2780) karşı antikanser özellikleri.....                         | 19 |
| <b>Tablo 4.10.</b> <i>Verbascum diversifolium</i> ekstraktlarının insan göğüs kanserine (MCF-7) karşı antikanser özellikleri.....                             | 19 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

---

$A_0$  : Kontrol absorbansı  
 $A_1$  : Numune absorbansı

### Kısaltmalar

---

A2780 : İnsan yumurtalık kanseri hücre serisi  
ABTS : 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)  
ABTS<sup>+</sup> : 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikali  
ACE : *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) etanol ekstraktı  
ACM : *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) metanol ekstraktı  
ACS : *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) su ekstraktı  
BHA : Bütillenmiş hidroksianisol  
BHT : Bütillenmiş hidroksitoluen  
CE : Kateşin eşdeğeri  
DPPH : 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil  
DPPH<sup>•</sup> : 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali  
GAE : Gallik asit eşdeğeri  
GSH : Redükte glutatyon  
GSH-Px : Glutatyon peroksidaz enzimi  
GSSG : Okside glutatyon  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Hidrojen peroksit  
LPO : Lipid peroksidasyon  
MCF-7 : İnsan göğüs kanseri hücre serisi  
MDA : Malondialdehit  
O<sub>2</sub><sup>•-</sup> : Süperoksit radikali  
OH<sup>•</sup> : Hidroksil radikali  
PBS : Fosfat tamponu  
PG : Propil gallat  
QE : Kuersetin eşdeğeri  
RE : Rutin eşdeğeri  
SOD : Süperoksit dismutaz enzimi  
TBA : Tiyobarbitürik asit  
TBHQ : *t*-bütilhidrokinon  
TCA : Triklorasetik asit  
VDE : *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) etanol ekstraktı  
VDM : *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) metanol ekstraktı  
VDS : *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) su ekstraktı

# 1. GİRİŞ

Tarih boyunca insanları hem beslenme amaçlı hem de tedavi amaçlı olarak cezbeden bitkiler, şimdiki bilimsel birikimimiz ile kesinleştiği üzere fenolik asitler, fenoller, flavonoidler, tokoferoller, karotenler ve en önemlisi vitaminler bakımında oldukça zengindirler ve bu maddeler sayesinde çeşitli hastalıklara karşı önemli korumalar sağlarlar [1]. Yaşayan gelişmiş organizmalar gıda yoluyla aldıkları besinlerde bulunan  $\alpha$ - tokoferol,  $\beta$ -karoten ve askorbik asit gibi antioksidanlar ve hücrelerindeki antioksidan savunma sisteminde yer alan glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimlerle beraber işlev görüp, canlı hücreleri oksidatif hasarlara karşı korurlar [2,3]. Ayrıca antioksidan özellik gösteren maddelerin aynı zamanda antikanser, antiviral, antimikrobiyal, antibakteriyel, antiülser, antialerjik, antimitojenik, antiproliferatif, antitümör, antiülser ve antimetastaz gibi önemli biyoaktivitelere sahip oldukları yapılan birçok araştırma ile gösterilmiştir [4,5].

Doğal antioksidan özellik gösteren birçok bileşik ve/veya bileşik gruplarının bitkilerin meyve, yaprak, çiçek, gövde, kabuk, sürgün, tohum vb. kısımlarında bol miktarlarda bulunduğu ve bunların çok önemli potansiyel biyoaktif özellikler taşıdığı bilinmektedir [5,6-8]. Yapılan araştırmalar bol miktarda sebze ve meyve tüketen kişilerin kanser ve kalp-damar rahatsızlıkları gibi hastalıklara daha az yakalandıklarını, bu kişilerde adı geçen hastalıklar sebebiyle ölüm oranının düşük olduğunu, ayrıca bu hastalıklara yakalanma riski ile meyve-sebze tüketimi arasında ters bir orantı olduğunu ispatlamıştır. Bu durumun bitkilerin bol miktarda ihtiva ettiği biyoaktif bileşiklerden (fenolik asitler, flavonoidler, fenolik bileşikler, tokoferoller, karotenler, fitosteroller gibi) kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Geçtiğimiz son 20 yıllık süreçte bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen ürünlerin antikanser, antitümör, antimikrobiyal, antibakteriyel, antioksidan ve antiradikal özelliklerinin belirlenmesi, ayrıca bu özellikleri sağlayan bileşik ve/veya bileşik gruplarının izole edilip karakterize edilmesi çalışmaları çok büyük bir ilgi kazanmış ve günümüzde de aynı durum devam etmektedir. Bu tür çalışmaların merkezinde, halk arasında tedavi amacıyla ve/veya gıda olarak tüketilen bitkiler yer almaktadır [5,9-11].

Bitkilerin türlerinin devamını sağlamak ve/veya savunma amacıyla sürekli olarak çeşitli biyoaktif maddeler sentezlemektedirler. Bu biyoaktif maddeler sağlık açısından faydalı birçok aktiviteye de sahiptirler. Günümüz şartlarında, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) dünya nüfusunun %80'lik kısmının sağlık bakımı için şifalı bitkilerden faydalandığını belirtmekte; ayrıca gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerin nüfuslarının yarıdan fazlasının halen bitkilerden elde edilmekte olan geleneksel ilaçları kullandıklarına vurgu yapmaktadır. Şifalı bitkiler bütün bu faydalarının yanında birçok ülkenin ekonomik gelir kaynağının önemli bir kısmını da oluşturmaktadır. Doğal yollardan elde edilen bileşiklerin sentetik yollardan üretilenlere göre sahip oldukları düşük maliyet ve daha az yan etki gibi avantajlar bitkilerle alakalı çalışmaları daha da cazibeli hale

getirmektedir. Bu sebeplerle bilim insanları yeni ilaç arayışlarında her zaman halk arasında geleneksel kullanımı olan bitkileri ve bitkisel türevli maddeleri ön sıralara yerleştirmişlerdir. Gerçekten de bitkilerden ve bitkisel özlerden sağlanan doğal bileşiklerin kimyasal çeşitlilikleri oldukça fazla olduğundan yeni bir ilacın keşfedilmesi için birçok olanak sunabilirler [12-14].

Günümüz dünyasında kanser kaynaklı ölümlerin %20 civarında olduğu, dünyadaki nüfusun 1/3'lük kısmının da bu hastalıktan etkilendiği belirtilmektedir. Radyasyon, viral enfeksiyonlar, beslenme alışkanlıkları, sigara kullanımı, çevresel faktörler ve çeşitli kimyasallara maruz kalmak kansere sebep olan etmenler arasında en önemlileri olarak göze çarpmaktadır. Cerrahi müdahale, radyoterapi ve kemoterapi gibi tedavi yöntemleri ile kanser tedavi edilmeye çalışıldığı gibi, geleneksel halk tıbbi ile alternatif bir tedavi yöntemi de dünyanın birçok yerinde uygulanmaktadır. Bu alternatif tedavi yönteminde kullanılan maddelerin ilk sırasında bitkiler ve onlardan elde edilen maddeler yer almaktadır. Ayrıca bitkiler hem düşük maliyetli, hem de herkes tarafından kolaylıkla ulaşılabilir olmaları nedeniyle de bu tür tedavilerde tercih edilmektedirler. Bütün bu bilgiler ışığında bitkilerin taşıdığı potansiyel biyoaktivite özelliklerinin yanında, bitkinin içerdiği biyoaktif maddelerin de antikanser özellik taşıyıp taşımadığı birçok bilimsel araştırmanın odağını oluşturmaktadır [15-17].

Bu çalışmada Elazığ ve çevresinde yetişen *Astragalus compactus* Lam., subsp. *compactus* (guni) ve endemik *Verbascum diversifolium* Hochst. (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının potansiyel antiradikal aktiviteleri (DPPH, OH ve ABTS radikalleri üzerinde), biyoaktif madde içerikleri (toplam flavonoid, toplam proantosiyanidin, toplam fenolik bileşik, serbest yağ asitleri, vitaminler ve fitosteroller) ve *in vitro* antikanser aktivitelerinin (A2780 insan yumurtalık kanseri ve MCF-7 insan göğüs kanseri hücreleri üzerinde) belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçların sadece kimya ve biyokimya alanına değil, aynı zamanda tıp, eczacılık, farmakoloji, onkoloji, botanik, biyoloji bilim alanlarına da büyük katkıları olacağı düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Bitkiler dünya üzerinde yaşamın devam etmesi için elzem olan oksijeni ve besini, fotosentez adı verilen olayla güneş ışığını kullanarak su ve karbondioksitten üretmektedir. Ancak bitkiler yaşama bu katkılarının yanında insanlar için öncelikle gıda olarak, daha sonraları ise tedavi amaçlı ilaç olarak kullanılmıştır. Bitkiler içerdikleri biyoaktif bileşiklerle sağlık üzerinde önemli etkilere sahip olduklarından, şifalı bitkilerle tedavi antik çağlardan günümüze kadar sürmüş ve sürekli geliştirilmiştir. Modern dünyada hareketsizlik, sağlıksız beslenme, ekolojik ve çevresel dengenin bozulması ve aşırı stres gibi etmenler hastalıklar üzerinde inanılmaz artışlara neden olmaktadır. Teknolojik ve bilimsel gelişmelerin insanlarda yaşam kalitesi üzerinde çok olumlu etkileri olmasına rağmen, insan ömrüne aynı şekilde olumlu etkileri olmadığı birçok bilim insanı tarafından kabul görmektedir. Örneğin tıp bilimindeki büyük gelişmelerin insan sağlığı üzerinde, dolayısıyla insan ömrü üzerinde aynı oranda olumlu etkiler doğurması beklenirken, modern dünya insanların yaşam kalitelerinin çok yüksek olmadığı ve mutsuz oldukları gözlenmektedir. Son zamanlardaki teknolojik ve bilimsel gelişmelerle beraber alternatif tedavi yöntemleri de geliştirilmiş ve birçok hastalığın tedavisinde doğrudan ya da dolaylı olarak bu yöntemlere başvurulup, etkili sonuçlar elde edilmiştir. Antik çağlardan beri, görülen her hastalığın tedavisinin doğada var olduğu ve insanların o tedaviyi keşfetmek için araştırmalar yapması gerektiğine inanılmaktadır. Fakat bir hastalığın tedavi edilmesi, hangi hastalığa hangi ilacın çare olduğu, bir ilacın nasıl işlemlerden geçtikten sonra hangi ölçüde kullanılması gerektiği insanların binlerce yıldır çözmeye çalıştığı problemlerdir. Bu nedenle insanoğlu hastalıkların tedavisi amacıyla binlerce yıldır doğal kaynaklara, özellikle bitkilere başvurmaktadır [5].

Türkiye’de yetişen tıbbi kullanıma sahip bitkilerin yaklaşık 650 adet olduğu ve bunların hepsinin doğal ortamlarda kendiliğinden yetişebildiği bilinmektedir. Bu bitkilerden kültüre alınanların sayısı çok az olup, onlar da çok kısıtlı alanlarda üretilmektedir [18]. Tıbbi ve aromatik bitkiler gıda ve meşrubat üretiminde, ilaç sanayinde, parfümeri ve kozmetik üretiminde kullanıldıkları için tüketimleri de hızlı bir şekilde artmıştır. İlaç sanayisi üzerinden bakıldığında, sentetik ilaçlara kıyasla daha az yan etkiye ve düşük maliyete sahip olmaları nedeniyle bitki kökenli ilaçlara yönelim önemli oranda artmıştır. Gerçekten de günümüz ilaç endüstrisi tarafından üretilen ve geliştirilen ilaçların en az 1/4’ünün etken maddesinin bitkisel kökenli olduğu belirtilmektedir [19].

### 2.1. Serbest Radikaller

Bir serbest radikal ortaklanmamış elektrona sahip molekül veya atomlardır. Bu tür molekül ve atomlar, boş olan orbitallerini doldurup kararlı hale geçmek istedikleri için aşırı reaktiftirler [20].

Serbest radikaller organizmadaki metabolik tepkimeler sonucunda oluşabildiği gibi bazı çevresel faktörler de bunların oluşumuna sebep olabilmektedir. Ömürleri çok kısa olmasına rağmen radikaller sahip oldukları aşırı reaktivite nedeniyle hücrelerdeki bütün bileşenleri etkilerler. Memelilerde serbest radikaller, oksijen metabolizmasının bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Oksijen, yaşayan birçok organizmanın yaşamının devamlılığı için elzem bir element olup, hücredeki bazı tepkimeler sonucunda suya dönüşmekte ve sonuç olarak hücre gerekli enerjisini üretmektedir. Fakat bu tür tepkimeler sonucunda oksijenin yaklaşık %1-3 kadarı suya dönüşmemekte ve hidroksil radikali ile süperoksit anyonu gibi radikalleri oluşturabilmektedir [21,22]. Serbest radikaller bütün bu olumsuz etkilerine karşın hücrelerde enerji üretim tepkimelerinde rol oynarlar ve vücudun normal metabolik tepkimeleri gibi yararlı biyokimyasal olaylara katkılar sağlarlar. Örneğin, bağışıklık sistemine antijenlerle mücadelede yardımcı olmaktadır. Ancak dış etmenler nedeniyle aşırı miktarlarda oluşan serbest radikaller hücre hasarına neden olurlar. Oksijen kaynaklı serbest radikaller hücrede aşırı oranda meydana gelince oluşan duruma oksidatif stres adı verilir ve hücrelerdeki lipitler, proteinler, karbohidratlar ve nükleik asitler gibi bütün biyomoleküller üzerinde hasarlar oluşturabilirler [23].

#### **2.1.1. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları**

Kimyasal yönden serbest radikallerin üç farklı oluşum mekanizması vardır:

**1. Bir Kovalent Bağda Homolitik Kırılma:** Kimyasal bağlar 500–600 °C gibi çok yüksek sıcaklıklara ya da yüksek enerjili elektromanyetik dalgalara maruz kaldıklarında kırılırlar. Kırılma sonucunda bağın yapısında yer alan 2 elektrondan her biri ayrı atomlarda kalırsa, bu kırılmaya homolitik kırılma denir ve serbest radikaller oluşur.

**2. Bir Molekülün Elektron Yitirmesi:** Radikal olmayan bir molekül elektron yitirdiğinde, dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kaldığında serbest radikal meydana gelir. Örneğin hücre içi antioksidanlar tokoferol, askorbik asit ve glutatyon gibi bileşikler, serbest radikallere 1 elektron transfer ederek onları indirgerler ve sonuç olarak kendilerinin radikalleri oluşur.

**3. Bir Molekülün Elektron Kazanması:** Radikal olmayan bir molekül tek elektron kazandığında ve dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluştuğunda, bu tür indirgenme sonucunda serbest radikal meydana gelebilmektedir. Örneğin, moleküler oksijen tek elektron alıp indirgendiği zaman süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) radikali meydana gelmektedir. Bu mekanizma sonucunda radikal oluşumu hücrelerdeki oksijenle ilgili biyokimyasal tepkimelerde devamlı meydana geldiğinden canlı organizmalar için çok önemlidir [24].

#### **2.2. Antioksidanlar**

Karbohidratlar, lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi canlı hücrelerdeki biyomolekülleri oksidasyona karşı koruyan maddelere antioksidan adı verilir. Antioksidanlar işlenmiş gıdaların bozulmasını önleyerek onların raf ömürlerini uzatırlar. Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), *t*-bütihidrokinon (TBHQ), propil gallat (PG) ve bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) en çok kullanılan sentetik antioksidanlar olarak bilinirler. Ancak sentetik antioksidanların ve oluşturdıkları bazı yan ürünlerin birçok kanser türüne sebep olduğuna dair güçlü kanıtların varlığı, bunların yerine doğal antioksidanların kullanımına yönelik bilimsel araştırma ve çalışmaların artmasına neden olmuştur. Örneğin tokoferoller (Vitamin E türevleri) ve askorbik asit (Vitamin C) bu tür amaçlar için yaygın olarak kullanılan doğal antioksidanlardır. Enzimatik antioksidanlar (SOD, CAT, GSH-Px), fenolik bileşikler, bazı aminoasitler, flavonoidler ve karotenoidler diğer önemli doğal antioksidanlardır. Antioksidanlar bakımından zengin meyvelerin ve sebzelerin tüketilmesi canlı hücreleri, serbest radikal kaynaklı doku ve hücre hasarlarından koruyarak bazı hastalıkların meydana gelmesine engel olabilmektedir. Antioksidan savunma sistemi, canlı bir organizmada oluşan serbest radikalleri ve sebep oldukları oksidatif stresi engellemek amacıyla devreye girmektedir. Hücredeki ilk savunma hattını antioksidanlar serbest radikallerin oluşmasını engelleyerek oluşturmaktadırlar. İkinci savunma hattını E ve C vitamini gibi antioksidanlar zincirleme oksidasyonun başlamasını ve yayılmasını engelleyerek oluştururlar. Üçüncü savunma hattını oluşan hasarı onararak eski haline getiren proteazlar, transferazlar, lipazlar ve DNA onaran enzimler gibi antioksidan enzimler oluşturmaktadır [25-30].

## 2.3. Çalışılan Bitki Materyalleri

### 2.3.1. *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (Guni)

*Astragalus* L. cinsi Fabaceae familyası içinde yer alan çok yıllık otsu bir bitki olup, Dünya üzerinde yaklaşık 3000 türle temsil edilmektedir. Türkiye’de bu cinse ait yaklaşık 445 tür yetişmektedir ve bunların 224’ü endemiktir. İran-Turan floristik bölgesinde yayılış gösteren *Astragalus* türlerinin gen merkezi Avrasya’dır ve özellikle Orta ve Batı Asya bu cinsin yayılış bölgeleridir [31-33]. Ülkemizde birçok *Astragalus* türü halk arasında karaciğer koruyucu, antioksidan, bağışıklık sistemi düzenleyici ve antiviral özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır. Bununla birlikte *Astragalus* türleri uzun yıllardan beri Avrupa ülkelerinde de popüler bir tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır [34]. Daha önceden yapılan çalışmalar incelendiğinde birçok *Astragalus* türünün antiradikal, antioksidan, antibakteriyel, antimikrobiyal, antitümör, antikanser, fitokimyasal özelliklerinin belirlendiği görülmektedir [35-38]. Bu tezde çalışılan *Astragalus compactus* subsp. *compactus* taksonunun ise sadece antiradikal ve fenolik içerik özelliklerinin saptandığı [39] antikanser ve geri kalan fitokimyasal içeriklerinin saptanmadığı belirlenmiştir.



### 2.3.2. *Verbascum diversifolium* (Nizip Sığırkuyruğu)

*Verbascum* L. cinsi Scrophulariaceae familyasında yer alan çok yıllık otsu bir bitkidir. Bu cinse ait türler Kuzey Yarımkürede ılıman bölgelerde yetişmekte ve 360 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye’de 185’i endemik yaklaşık 250 türle temsil edilen *Verbascum* L. cinsine halk arasında sığırkuyruğu da denmektedir [31]. *Verbascum* türlerinin yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan preparatlar halk arasında çay şeklinde tüketilmektedir. Bunun dışında göğüs yumuşatıcı, balgam söktürücü, hemoroit ve romatizma tedavisinde, yara iyileştirici olarak kullanıldığı bilinmektedir. Birçok *Verbascum* türünün antimalaryal, antiviral, antitümör, antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antimikrobiyal vb. özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [40,41].

### 2.4. Tıbbi Öneme Sahip Bitkilerin Halk Arasında Kullanım Yolları

- 1. Toz:** Bitkinin kullanılacak kısımlarının, bir havanda dövülmesi, öğütücünden veya değirmenden geçirilmesiyle elde edilen tozların su ile karıştırıldıktan sonra içilmesi ile gerçekleştirilir.
- 2. Hap:** Bitkinin toz haline getirilen kısımlarının bal, leblebi unu, şeker şurubu, nişasta vs. gibi tedavi edici etkisi olmayan yardımcı bir madde ile karıştırılarak hap haline getirilmesi ve bu hapların yutulması ile gerçekleştirilir.
- 3. İnfüzyon:** Bitkinin küçültülmüş parçalarının üzerine kaynar su döküldükten sonra ağzı kapalı bir kap içinde sık sık karıştırılır. Hafif ateş üzerinde 5 dakika ısıtılan bitki parçaları soğutulup süzildükten sonra içilerek tüketilir. Bu yöntemle hazırlanan örnekler her defasında taze olarak hazırlanmalıdır. Tatlandırıcı olarak bal veya şeker kullanılabilir.
- 4. Dekoksiyon:** Ufalanan bitki parçalarının üzerine soğuk su konarak hafif ateşte, sık sık karıştırmak suretiyle 30 dakika ısıtılır ve sıcakken süzülür.
- 5. Merhem:** Sıvı yağlar (zeytinyağı, ayçiçek yağı, mısırözü yağı vs.) içinde önceden toz haline getirilmiş bitki kısımları havan benzeri bir kapta azar azar ilave edilerek karıştırılır ve haricen kullanılır [32].

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Arazi Çalışmaları

Doğu Anadolu, Elazığ-Keban ve çevresinden toplanan *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve endemik *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin toplanma detayları aşağıda yer almaktadır.

##### 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Toplanma Detayları

1. *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni): **09.05.2020** Elazığ-Keban arası, Altinkörek Köyü Çevresi, Yamaçlar. Rakım: 1460 metre

2. *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu): **10.05.2020** Elazığ-Keban arası, Pul Köyü Çevresi, Yol Kenarı. Rakım: 1500 metre

Bitki örneklerinin teşhisinde “Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol: 3-6” [42,43] ve “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)” [44] adlı eserlerden faydalanılmıştır. Toplanmış bitki materyalleri laboratuvar ortamında, güneş görmeyen yerde ve ortam sıcaklığında kurutularak zaman kaybetmeden ekstraksiyon işlemlerine geçildi.

#### 3.2. Ekstraksiyon Prosesi

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) bitkisinin toprak üstü kısımları, *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkisinin ise çiçekleri ekstraksiyon işlemi için öncelikle bir blenderda parçalanarak toz haline getirildi. Her bir bitki örneğinden 20 gram tartılarak, 200 mL çözücü ile (etanol, metanol ve su) homojenize edilerek 5000 rpm’de santrifüjlendi. İşlem sonunda süpernatantlar alınarak uygun işlemlerle çözücülerini uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstraktlar derin dondurucuda -18 °C’de saklanarak, yapılacak analizler için µg/mL konsantrasyonunda çözülüp analiz işlemleri gerçekleştirildi.

#### 3.3. Antiradikal Aktivitenin Saptanması

Bitki örneği ekstraktlarının antiradikal aktiviteleri Shimadzu marka UV-1700 Spectrophotometer cihazı ile DPPH, ABTS ve OH radikallerine üzerinde spektrofotometrik yöntemle saptandı. Bitki ekstraktlarının antiradikal aktiviteleri aşağıdaki formül yardımıyla % cinsinden hesaplandı:

$$\% \text{ Radikal Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

$A_0$  = Kontrolün absorbans değeri

$A_1$  = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbans değeri

### 3.3.1. ABTS Radikali

ABTS<sup>•+</sup> radikali yok edici testi Yu vd. [45] metoduna göre bazı modifikasyonlarla gerçekleştirildi. Bu amaçla uygun şekilde çözeltileri hazırlanan ABTS ve potasyum persülfat (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) 1:1 hacimsel oranında karıştırılıp, ışık görmeyen bir yerde ve ortam sıcaklığında 14-18 saat süreyle inkübasyon işlemine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda meydana gelen ABTS<sup>•+</sup> radikali çözeltisinin absorbansı 734 nm’de etanol ile seyreltilmek suretiyle 1.800±0.02 değerine ayarlandı. Absorbansı ayarlanan bu çözelti kontrol olarak kabul edildi. Deney tüplerine radikal çözeltisinden 3 mL ilave edilerek üzerine 500 µg/mL bitki ekstraktı ilave edildi. Işık görmeyen bir yerde ve ortam sıcaklığında yaklaşık 2 saat inkübe edilen numunelerin absorbansları 734 nm’de UV spektrofotometresinde ölçülerek kayıt altına alındı.

### 3.3.2. DPPH Radikali

Shimada vd. [46] metodu esas alınarak gerçekleştirilen DPPH• radikali yok etme aktivitesi için 1 mM’lık DPPH• çözeltisi hazırlandı. 3 mL DPPH• radikal çözeltisi deney tüplerine alındı ve üzerine 500 µg/mL ekstraktı ilave edildi. Bütün numuneler ışık görmeyen yerde ve ortam sıcaklığında 30 dk inkübe edildikten sonra UV spektrofotometresi cihazında 517 nm’de absorbansları kayıt altına alındı.

### 3.3.3. OH Radikali

Halliwell vd. [47] metodu bazı modifikasyonlarla esas alınarak OH• radikali yok etme testi gerçekleştirildi. Bu amaçla bir deney tüpüne sırasıyla 500 µL bitki ekstraktından, 500 µL 3.6 mM deoksiriboz çözeltisinden, 200 µL 100 µM FeCl<sub>3</sub> çözeltisinden, 100 µL 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden ve son olarak 100 µL 1 mM askorbik asit çözeltisinden ilave edilip, karışım bir vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı. Ardından bir etüvde 37 °C’de 60 dk bekletilen numunelerin üzerine 1 mL %2.8 TCA ve 1 mL %1.0 TBA çözeltilerinden eklendi. Daha sonra 50 °C’deki su banyosunda 30 dk tutulan numunelerin üzerine 3 mL butanol eklenerek tepkime ortamı butanol fazına geçirilmiş oldu. Numunelerin UV spektrofotometresinde 532 nm’de absorbansları kayıt altına alındı.

## 3.4. Fitokimyasal İçeriklerin Saptanması

### 3.4.1. Total Flavonoit

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitki ekstraktlarının total flavonoit içeriği Kim vd. [48] metodu esas alınarak belirlendi. Bitkilerin içerdiği total flavonoit miktarı µg kateşin eşdeğeri /g ekstrakt (µg CE/g ekstrakt) olarak sunuldu.

### 3.4.2. Total Fenolik

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitki ekstraktlarının total fenolik bileşik miktarları tayini Slinkard ve Singleton [49] metodu esas alınarak belirlendi. Bitkilerin içerdiği total fenolik bileşik miktarları gallik asit eşdeğeri (mg GAE /g ekstrakt) olarak sunuldu.

### 3.4.3. Total Proantosiyanidin

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitki ekstraktlarının total proantosiyanidin miktarları Amaeze vd. [50] metodu esas alınarak belirlendi. Bitkilerin içerdiği total proantosiyanidin miktarları µg kateşin eşdeğeri / g ekstrakt (µg CE/g ekstrakt) olarak sunuldu.

### 3.4.4. Bitkisel Sterol ve Vitaminler

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin içerdiği yağda çözünen vitaminler ve bitkisel steroller Katsanidis ve Addis [51] metodu esas alınarak HPLC cihazında gerçekleştirildi. Bunun için bitki numuneleri 10 mL heksan/izopropil alkol (3/2, v/v) karışımında homojenize edilip santrifüjlendi. Uygun işlemlerden geçirildikten analize hazır hale gelen örnekler Shimadzu marka HPLC cihazında analiz edildi. Analiz UV dedektör ile gerçekleştirilirken, dedeksiyon dalga boyları bitki steroller için 202 nm, tokoferol türevleri ve vitamin D için 215 nm, retinol için 320 nm, vitamin K için ise 265 nm olarak alındı. Elde edilen sonuçlar µg/g ekstrakt olarak hesaplandı.

### 3.4.5. Serbest Yağ Asitleri

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin içerdiği serbest yağ asitleri miktarı Hara ve Radin [52] ile Christie [53] metotları esas alınarak bazı modifikasyonlarla Shimadzu marka gaz kromatografisi (GC) cihazıyla belirlendi. Bunun için bitki örnekleri 10 mL heksan/izopropil alkol (3/2, v/v) karışımında homojenize edilip santrifüjlendi. Uygun işlemlerden geçirilen örnekler metil esterine dönüştürüldükten sonra GC cihazında analize hazır hale getirildi. Elde edilen sonuçlar toplam yağ asitleri içindeki her bir yağ asidi için % cinsinden hesaplanıp sunuldu.

## 3.5. Antikanser Aktivitenin Saptanması

### 3.5.1. Hücre Türleri

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin antikanser aktiviteleri insan yumurtalık kanseri (A2780) ve insan göğüs kanseri (MCF-7) hücre serilerine karşı belirlendi. İlgili kanser hücre serileri American Type Culture Collection (ATCC)’den temin edilerek kullanıldı.

### 3.5.2. Hücre Beslenmesi

İlgili kanser hücrelerinin *in vitro* şartlarda yaşamaları ve çoğalmaları için besiyeri RPMI-1640 medyum içerisine %10 FBS, %1 pensilin-streptomisin ve %1 esansiyal olmayan aminoasit karışımı ilave edildi. Hücreler laminar hava akımlı biyolojik emniyet kabini içerisinde steril şartlarda tutulduktan sonra hücrelerin pasajlanma işlemleri gerçekleştirildi.

### 3.5.3. Hücre Pasajlanması

Hücrelerin flask yüzeyinden kaldırılması için 25 cm<sup>2</sup>’lik her bir flask için 2 mL tripsin kullanıldı. Tripsin kaynaklı zararları önlemek için medyum ile seyreltme işlemi yapıldı. Kanser hücrelerinin canlılık oranı %0.4 trifenil mavisi kullanılarak bir hemositometre yardımıyla saptandı. Hücrelerin canlılık oranı %90’ın üstünde olduğu belirlenince deneylere başlandı ve well plate üzerine hücre sayıları 15x10<sup>3</sup> olacak şekilde ekimleri yapıldı. Örnekler 37 °C’de, %5 CO<sub>2</sub>’li inkübatörde ve %95 nemli ortamda inkübe edildi.

### 3.5.4. Bitki Örneklerinin Kültüre Eklenmesi

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının 1, 10, 100 ve 1000 µg/mL’lik konsantrasyondaki çözeltileri (%0.1 DMSO’da çözülmüş) well platalere eklendi ve 24 saat süreyle inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda hücrelerin canlılık oranlarındaki % değişimler MTT yöntemiyle saptandı.

### 3.5.5. MTT Analizi

Bu yöntemde stok MTT çözeltisi PBS içinde hazırlandı ve bu çözeltiden 0.5 mg/mL konsantrasyonunda çalışma çözeltisi hazırlandı. Çalışma çözeltisi, bitki ekstraktları, çözücü ve kontrollerin bulunduğu kuyucuklara eklendi. 3 saat süreyle inkübe edilen hücrelerin optik dansiteleri Synergy marka UV spektrofotometre cihazında 550 nm dalga boyunda ölçülerek kaydedildi [54].

## 3.6. İstatistiksel Analizler

Analizlerden elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri SPSS Statistics 22.0 programı yardımıyla yapıldı. Antiradikal testlerin değerlendirilmesi ANOVA ve DMRT testleriyle gerçekleştirilirken,  $p<0.05$  değeri istatistiksel bakımdan önemli kabul edildi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde sunuldu. Antikanser analizlerin sonuçlarının değerlendirilmesinde KOLMOGOROV SMİRNOV testi kullanıldı. Grup karşılaştırılmaları tek yönlü varyans analizi ile, varyans homojenlikleri LEVENE testi ile yapılırken varyansların homojen olmadığı gözlemlendi. Bu yüzden TAMHANE T2 testi ile çoklu karşılaştırmalar yapılırken,  $p<0.05$  değeri istatistiksel bakımdan önemli kabul edildi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde sunuldu.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (Guni)'a Ait Sonuçlar

#### 4.1.1. *A. compactus* subsp. *compactus* Antiradikal Aktivite Sonuçları

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) toprak üstü kısımlarının su, metanol ve etanol ekstraktlarına ait antiradikal aktivite sonuçları Tablo 4.1'de sunulmuştur. Bu test sonuçlarına göre ABTS, DPPH ve OH radikali yok etme testlerinde standart antioksidan BHT, bütün ekstraktlardan daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir. ABTS radikali yok etme testi için radikal yok etme yüzdeleri BHT (%90.33) > *A. compactus* Metanol (ACM) (%78.87) > *A. compactus* Etanol (ACE) (%66.82) > *A. compactus* Su (ACS) (%65.96) şeklinde büyükten küçüğe doğru sıralanmaktadır. OH radikali yok etme testi için radikal yok etme yüzdeleri BHT (%89.28) > ACM (%84.12) > ACE (%71.96) > ACS (%59.23) şeklinde büyükten küçüğe doğru sıralanmaktadır. DPPH radikali yok etme testi için radikal yok etme yüzdeleri BHT (%89.98) > ACM (%66.99) > ACE (%57.42) > ACS (%37.48) şeklinde büyükten küçüğe doğru sıralanmaktadır.

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* taksonu ile alakalı antiradikal çalışmalar incelendiğinde; sadece Naghiloo vd. [39] *A. compactus* ekstraktlarının yüksek oranda DPPH radikali yok ettiğini saptarken; bunun dışında bu türün herhangi bir antiradikal çalışmaya konu olmadığı, ancak *Astragalus* cinsi ile ilgili çalışmaların mevcut olduğu anlaşılmıştır. Keskin [32] *A. diphtherites* gövde ve kök metanol ekstraktlarının sırasıyla %79.01 ve %58.40 oranında DPPH radikali, %81.26 ve %78.49 oranında OH radikali yok ettiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada *A. gymnaocepias* gövde ve kök metanol ekstraktlarının sırasıyla %86.83 ve %39.62 oranında DPPH radikali, %90.02 ve %84.47 oranında OH radikali yok ettiğini belirlemişlerdir [32]. Bu sonuçlar sunduğumuz tezdeki toprak üstü metanol ekstraktlarının DPPH ve OH radikali yok etme aktivitelerinden daha yüksek değerlere sahiptir. Bu durum ilgili bitkilerin farklı türler olmasından ve/veya farklı bitki kısımlarının çalışılmasından kaynaklanmış olabilir. Başka bir çalışmada Gharari vd. [35] *A. alopecurus* esansiyel yağlarının %67 oranına DPPH radikali yok ettiğini gözlemlemişlerdir.

**Tablo 4.1.** *Astragalus compactus* subsp. *compactus* ekstraktlarının antiradikal aktiviteleri

| Örnekler                   | ABTS <sup>••</sup> (%)<br>(500 µg/mL) | OH <sup>•</sup> (%)<br>(500 µg/mL) | DPPH <sup>•</sup> (%)<br>(500 µg/mL) |
|----------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>A. compactus</i> Su     | 65.96±0.24 <sup>c</sup>               | 59.23±0.51 <sup>d</sup>            | 37.48±0.85 <sup>d</sup>              |
| <i>A. compactus</i> Etanol | 66.82±0.17 <sup>c</sup>               | 71.96±0.39 <sup>c</sup>            | 57.42±0.93 <sup>c</sup>              |

|                             |                         |                         |                         |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>A. compactus</i> Metanol | 78.87±0.35 <sup>b</sup> | 84.12±0.47 <sup>b</sup> | 66.99±0.29 <sup>b</sup> |
| BHT                         | 90.33±0.32 <sup>a</sup> | 89.28±0.19 <sup>a</sup> | 89.98±0.67 <sup>a</sup> |

Aynı harfi taşıyan gruplar istatistiksel açıdan benzerdir; p<0.001

#### 4.1.2. *A. compactus* subsp. *compactus* Fitokimyasal Analiz Sonuçları

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* toprak üstü kısımlarının su, metanol ve etanol ekstraktlarının fenolik bileşik, flavonoit ve proantosiyanidin miktarları Tablo 4.2’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre ekstraktların toplam fenolik bileşik içerikleri ACM (63.80 mg GAE/g ekstrakt) > ACS (52.51 mg GAE/g ekstrakt) > ACE (49.08 mg GAE/g ekstrakt) şeklinde sıralanırken; toplam flavonoit içerikleri ACM (2821.33 µg CE/g ekstrakt) > ACE (2267.42 µg CE/g ekstrakt) > ACS (1895.64 µg CE/g ekstrakt) şeklinde; toplam proantosiyanidin içerikleri ise ACM (1221.89 µg CE/g ekstrakt) > ACE (1040.78 µg CE/g ekstrakt) > ACS (923.00 µg CE/g ekstrakt) şeklinde sıralanmaktadır.

**Tablo 4.2.** *Astragalus compactus* subsp. *compactus*’un toplam proantosiyanidin, toplam flavonoit ve toplam fenolik bileşik miktarları

| Örnekler                    | Total Flavonoit | Total Proantosiyanidin | Total Fenolik |
|-----------------------------|-----------------|------------------------|---------------|
| <i>A. compactus</i> Su      | 1895.64±3.87    | 923.00±2.00            | 52.51±1.02    |
| <i>A. compactus</i> Etanol  | 2267.42±3.03    | 1040.78±1.96           | 49.08±0.77    |
| <i>A. compactus</i> Metanol | 2821.33±2.29    | 1221.89±1.75           | 63.80±0.58    |

Flavonoit ve proantosiyanidin miktarları µg kateşin eşdeğeri/g ekstrakt, fenolik bileşik miktarı ise mg gallik asit eşdeğeri/g ekstrakt olarak sunulmuştur.

*Astragalus compactus* subsp. *compactus* toprak üstü kısımlarının yağda çözünen vitamin, bitkisel steroller ve serbest yağ asidi içerikleri Tablo 4.3’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre *A. compactus* ekstraktlarının 0.200 µg/g δ-tokoferol, 15.500 µg/g α-tokoferol, 0.133 µg/g vitamin D, 252.100 µg/g ergosterol, 2.467 µg/g stigmasterol, 20.533 µg/g β-sitosterol, %1.25 miristik asit (14:0), %23.69 palmitik asit (16:0), %7.62 palmitoleik asit (16:1), %12.87 stearik asit (18:0), %16.17 oleik asit (18:1), %10.37 linoleik asit (18:2), %28.03 linolenik asit (18:3), %37.81 doymuş, %62.19 doymamış yağ asitleri içerdiği saptanmıştır.

**Tablo 4.3.** *Astragalus compactus* subsp. *compactus*’un vitamin, bitkisel sterol ve serbest yağ asidi içerikleri

| Fitokimyasal İçerik (µg/g) | <i>A. compactus</i> subsp. <i>compactus</i> |
|----------------------------|---------------------------------------------|
| δ-tokoferol                | 0.200±0.06                                  |



|                         |                    |
|-------------------------|--------------------|
| $\alpha$ -tokoferol     | 15.500 $\pm$ 0.56  |
| Vitamin D               | 0.133 $\pm$ 0.05   |
| Ergosterol              | 252.100 $\pm$ 1.27 |
| Stigmasterol            | 2.467 $\pm$ 0.25   |
| $\beta$ -Sitosterol     | 20.533 $\pm$ 1.09  |
| <b>Yağ Asitleri (%)</b> |                    |
| 14:0                    | 1.25 $\pm$ 0.03    |
| 16:0                    | 23.69 $\pm$ 0.72   |
| 16:1                    | 7.62 $\pm$ 0.54    |
| 18:0                    | 12.87 $\pm$ 0.95   |
| 18:1                    | 16.17 $\pm$ 0.77   |
| 18:2                    | 10.37 $\pm$ 0.35   |
| 18:3                    | 28.03 $\pm$ 1.01   |
| Doymuş FA               | 37.81              |
| Doymamış FA             | 62.19              |

*A. compactus* subsp. *compactus* taksonu ile alakalı fitokimyasal çalışmalar incelendiğinde bu türün vitamin, sterol ve serbest yağ asitlerini inceleyen herhangi bir çalışmaya konu olmadığı; sadece Naghiloo vd. [39] *A. compactus* ekstraktlarının 5.18  $\mu$ g GAE/mg toplam fenolik bileşik içerdiğini belirledikleri anlaşılmıştır. *Astragalus* cinsi ile alakalı çalışmalarda ise Keskin [32] *A. diphtherites* gövde ve kök metanol ekstraktlarının sırasıyla 76.1 mg GAE/g ve 30.7 mg GAE/g toplam fenolik bileşik, 39.31 mg QE/g ve 2.31 mg QE/g toplam flavonoit içerdiklerini saptamışlardır. Aynı çalışmada *A. gymnalocepias* gövde ve kök metanol ekstraktlarının sırasıyla 54.66 mg GAE/g ve 17.66 mg GAE/g toplam fenolik bileşik, 36.81 mg QE/g ve 11.20 mg QE/g OH toplam flavonoit ihtiva ettiklerini belirlemişlerdir [32]. Diğer bir çalışmada ise, Gharari vd. [35] *A. alopecurus* esansiyal yağlarının 53.61 mg/g toplam fenolik bileşik, 115.64 mg/g toplam flavonoit içerdiğini saptamışlardır. Butkute vd. [55] *A. glycyphyllos* ve *A. cicer* bitkilerinin sırasıyla 17.1 mg GAE/g ve 18.9 mg GAE/g toplam fenolik bileşik, 12.8 mg RE/g ve 3.42 mg RE/g toplam flavonoit ihtiva ettiklerini belirlemişlerdir. Ghaffari vd. [56] ise *A. creticus* metanol ekstraktlarının 79.82 mg GAE/g toplam fenolik, 56.11 mg QE/g toplam flavonoit içerdiklerini saptamışlardır. Bütün bu araştırmalar ve bu çalışmanın sonuçları göstermiştir ki *Astragalus* cinsine ait bitkiler yüksek miktarda fenolik bileşik ve flavonoit içermektedirler.

#### 4.1.3. *A. compactus* subsp. *compactus* Antikanser Analiz Sonuçları

*A. compactus* subsp. *compactus* toprak üstü kısımlarının etanol, metanol ve su ekstraktlarının A2780 hücre serilerine karşı antikanser aktivite sonuçları Tablo 4.4’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre bu bitkinin antikanser aktivitesinin doza bağımlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ekstraktların en

yüksek doz olan 1000 µg/mL için kendi aralarındaki antikanser aktivite sıralaması ise şu şekildedir: ACM > ACS > ACE.

**Tablo 4.4.** *Astragalus compactus* subsp. *compactus* ekstraktlarının insan yumurtalık kanserine (A2780) karşı antikanser özellikleri

| Örnekler (n=10) | <i>A. compactus</i> Su | <i>A. compactus</i> Etanol | <i>A. compactus</i> Metanol |
|-----------------|------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Kontrol         | 100.00±10.11           | 100.00±10.11               | 100.00±10.11                |
| Çözücü          | 94.62±9.73             | 94.62±9.73                 | 94.62±9.73                  |
| 1 µg/mL         | 43.28±5.46*            | 55.18±7.99*                | 41.05±4.34*                 |
| 10 µg/mL        | 42.60±4.05*            | 47.79±5.95*                | 36.54±3.82*                 |
| 100 µg/mL       | 36.76±3.46*            | 14.73±3.20*                | 12.50±3.17*                 |
| 1000 µg/mL      | 22.71±2.17*            | 26.30±4.28*                | 13.45±3.23*                 |

(Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde sunulmuştur. \*p<0.05)

*A. compactus* subsp. *compactus* toprak üstü kısımlarının etanol, metanol ve su ekstraktlarının MCF-7 hücre serilerine karşı antikanser aktivite sonuçları Tablo 4.5’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre bu bitkinin antikanser aktivitesinin doza bağımlı olarak arttığı gözlenmiştir. Ekstraktların en yüksek doz olan 1000 µg/mL için kendi aralarındaki antikanser aktivite sıralaması ise şu şekildedir: ACM > ACE > ACS.

**Tablo 4.5.** *Astragalus compactus* subsp. *compactus* ekstraktlarının insan göğüs kanserine (MCF-7) karşı antikanser özellikleri

| Örnekler (n=10) | <i>A. compactus</i> Su | <i>A. compactus</i> Etanol | <i>A. compactus</i> Metanol |
|-----------------|------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Kontrol         | 100.00±7.17            | 100.00±7.17                | 100.00±7.17                 |
| Çözücü          | 98.77±8.41             | 98.77±8.41                 | 98.77±8.41                  |
| 1 µg/mL         | 66.50±7.38*            | 76.12±9.16                 | 73.95±9.77                  |
| 10 µg/mL        | 58.02±6.29*            | 75.88±9.79                 | 61.48±8.66*                 |
| 100 µg/mL       | 54.68±7.24*            | 45.00±5.69*                | 34.73±3.63*                 |
| 1000 µg/mL      | 52.97±5.12*            | 29.62±4.53*                | 21.61±3.20*                 |

(Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde sunulmuştur. \*p<0.05)

*A. compactus* subsp. *compactus* taksonu ile alakalı herhangi bir antikanser çalışma bulunamamakla birlikte, *Astragalus* cinsine ait bazı türlerin birçok antikanser çalışmaya konu oldukları belirlenmiştir. Örneğin, Ghaffari vd. [56] *A. creticus* metanol ekstraktlarının HeLa (insan servikal adenokarsinoma) ve 3T3 (fare fibroblast) hücre serilerine karşı düşük sitotoksik aktiviteye sahip olduklarını göstermiştir. Yağlıoğlu vd. [57] *A. leucothrix* sekonder metabolitlerinin HeLa ve C6 (sıçan glioma) hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiklerini

saptarken, Mihaylova vd. [58] *A. glycyphyllos* ekstraktlarından elde edilen saponin türevlerinin mesane kanserleri (T-24 ve CAL-29) ile lenfoma kanserleri (MJ ve HUT-78) üzerinde mükemmele yakın sitotoksik aktiviteye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada Sheik vd. [59] *A. membranaceus* bitkisinin meme, nazofarenks, gırtlak, akciğer, mide, karaciğer, kolon, prostat, yumurtalık, rahim, rahim ağzı kanserleri, lösemi ve jinekolojik maligniteler üzerinde antikanser aktiviteye sahip olduklarını söylemişlerdir. Bu çalışma sonuçları ve yukarıda anılan diğer çalışmalar *Astragalus* türlerinin antikanser özellik yönünden önemli aktiviteye sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

## 4.2. *Verbascum diversifolium* (Nizip Sığırkuyruğu)’a Ait Sonuçlar

### 4.2.1. *V. diversifolium* Antiradikal Aktivite Sonuçları

*Verbascum diversifolium* çiçeklerinin su, metanol ve etanol ekstraktlarına ait antiradikal aktivite sonuçları Tablo 4.6’da sunulmuştur. Bu test sonuçlarına göre ABTS radikali yok etme testinde bütün *V. diversifolium* ekstraktları; OH radikali yok etme testinde *V. diversifolium* metanol ekstraktı, DPPH radikali yok etme testinde ise *V. diversifolium* etanol ve *V. diversifolium* metanol ekstraktları standart antioksidan BHT’den daha yüksek antiradikal aktivite göstermişlerdir. ABTS radikali yok etme testi için radikal yok etme yüzdeleri *V. diversifolium* Metanol (VDM) (%98.55) > *V. diversifolium* Etanol (VDE) (%98.42) > *V. diversifolium* Su (VDS) (%90.98) > BHT (%90.33) şeklinde büyükten küçüğe doğru sıralanmaktadır. OH radikali yok etme testi için radikal yok etme yüzdeleri VDM (%90.42) > BHT (%89.28) > VDE (%87.97) > VDS (%84.89) şeklinde büyükten küçüğe doğru sıralanmaktadır. DPPH radikali yok etme testi için radikal yok etme yüzdeleri VDM (%91.45) > VDE (%90.88) > BHT (%89.98) > VDS (%82.11) şeklinde büyükten küçüğe doğru sıralanmaktadır.

**Tablo 4.6.** *Verbascum diversifolium* ekstraktlarının antiradikal aktiviteleri

| Örnekler                        | ABTS <sup>++</sup> (%)<br>(500 µg/mL) | OH <sup>•</sup> (%)<br>(500 µg/mL) | DPPH <sup>•</sup> (%)<br>(500 µg/mL) |
|---------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>V. diversifolium</i> Su      | 90.98±0.23 <sup>b</sup>               | 84.89±0.42 <sup>b</sup>            | 82.11±0.15 <sup>b</sup>              |
| <i>V. diversifolium</i> Etanol  | 98.42±0.44 <sup>a</sup>               | 87.97±0.35 <sup>a</sup>            | 90.88±0.73 <sup>a</sup>              |
| <i>V. diversifolium</i> Metanol | 98.55±0.27 <sup>a</sup>               | 90.42±0.11 <sup>a</sup>            | 91.45±0.24 <sup>a</sup>              |
| BHT                             | 90.33±0.32 <sup>b</sup>               | 89.28±0.19 <sup>a</sup>            | 89.98±0.67 <sup>a</sup>              |

Aynı harfi taşıyan gruplar istatistiksel açıdan benzerdir; p<0.001

*Verbascum diversifolium* taksonu ile alakalı herhangi bir antiradikal çalışma bulunamamıştır. Ancak *Verbascum* cinsi ile ilgili çalışmalar incelendiğinde Yılmaz [40] *V. antiochium* metanol ekstraktlarının %100 oranında DPPH radikali yok ettiklerini ileri sürmüştür. Başka bir çalışmada ise *V. caesareum*, *V. gaillardotii*, *V. galilaeum*, *V. pinetorum*, *V. sinuatum* ve *V. tripolitanum* ekstraktlarının DPPH radikali yok etme aktivitelerine sahip oldukları belirlenmiştir [60]. Marian vd. [61] *V. phlomoides* ekstraktının %86.36, Amin vd. [62] *V. calvum* çiçeklerinin %60-70, Gupta vd. [63] ise *V. thapsus* ekstraktının yüksek oranında DPPH radikali yok ettiklerini saptamışlardır. Çalışmamızdan elde edilen ve yukarıda bahsi geçen arştırmaların sonuçları *Verbascum* türüne ait bitkilerin antiradikal aktiviteye sahip olduklarını kanıtlamaktadır.

#### 4.2.2. *V. diversifolium* Fitokimyasal Analiz Sonuçları

*Verbascum diversifolium* çiçeklerinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının fenolik bileşik, flavonoit ve proantosiyanidin miktarları Tablo 4.7’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre ekstraktların toplam fenolik bileşik içerikleri VDS (69.03 mg GAE/g ekstrakt) > VDM (67.53 mg GAE/g ekstrakt) > VDE (67.40 mg GAE/g ekstrakt) şeklinde sıralanırken; toplam flavonoit içerikleri VDM (6897.43 µg CE/g ekstrakt) > VDE (6593.50 µg CE/g ekstrakt) > VDS (6405.41 µg CE/g ekstrakt) şeklinde; toplam proantosiyanidin içerikleri ise VDM (1719.67 µg CE/g ekstrakt) > VDE (1349.67 µg CE/g ekstrakt) > VDS (1208.56 µg CE/g ekstrakt) şeklinde sıralanmaktadır.

**Tablo 4.7.** *Verbascum diversifolium*’un toplam proantosiyanidin, toplam flavonoit ve toplam fenolik bileşik miktarları

| Örnekler                        | Total Flavonoit | Total Proantosiyanidin | Total Fenolik |
|---------------------------------|-----------------|------------------------|---------------|
| <i>V. diversifolium</i> Su      | 6405.41±4.27    | 1208.56±1.19           | 69.03±0.82    |
| <i>V. diversifolium</i> Etanol  | 6593.50±3.88    | 1349.67±2.10           | 67.40±0.36    |
| <i>V. diversifolium</i> Metanol | 6897.43±5.09    | 1719.67±1.99           | 67.53±0.55    |

Flavonoit ve proantosiyanidin miktarları µg kateşin eşdeğeri/g ekstrakt, fenolik bileşik miktarı ise mg gallik asit eşdeğeri/g ekstrakt olarak sunulmuştur.

*Verbascum diversifolium* çiçeklerinin yağda çözünen vitamin, bitkisel steroller ve serbest yağ asidi içerikleri Tablo 4.8’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre *V. diversifolium* ekstraktlarının 0.033 µg/g retinol, 1.067 µg/g δ-tokoferol, 126.133 µg/g α-tokoferol, 5.133 µg/g vitamin K, 0.333 µg/g vitamin D, 39.533 µg/g ergosterol, 25.233 µg/g stigmasterol, 243.967 µg/g β-sitosterol, %1.58 kaprilik asit (8:0), %0.71 miristik asit (14:0), %0.91 pentadekanoik asit (15:0), %30.00 palmitik asit (16:0), %7.09 palmitoleik asit (16:1), %8.95 stearik asit (18:0), %12.88 oleik asit (18:1), %11.59 linoleik asit (18:2), %22.93 linolenik asit (18:3), %2.66 araşidonik asit (20:4), %0.15

eikosapentaenoik asit (20:5), %0.55 lignoserik asit (24:0), %42.70 doymuş, %57.30 doymamış yağ asitleri içerdiği saptanmıştır.

**Tablo 4.8.** *Verbascum diversifolium*'un vitamin, bitkisel sterol ve serbest yağ asidi içerikleri

| Fitokimyasal İçerik (µg/g) | <i>Verbascum diversifolium</i> |
|----------------------------|--------------------------------|
| Retinol                    | 0.033±0.02                     |
| δ-tokoferol                | 1.067±0.13                     |
| α-tokoferol                | 126.133±1.35                   |
| Vitamin K                  | 5.033±0.29                     |
| Vitamin D                  | 0.333±0.15                     |
| Ergosterol                 | 39.533±1.29                    |
| Stigmasterol               | 25.233±1.54                    |
| β-Sitosterol               | 243.967±2.03                   |
| <b>Yağ Asitleri (%)</b>    |                                |
| 8:0                        | 1.58±0.03                      |
| 14:0                       | 0.71±0.02                      |
| 15:0                       | 0.91±0.01                      |
| 16:0                       | 30.00±0.72                     |
| 16:1                       | 7.09±0.24                      |
| 18:0                       | 8.95±0.71                      |
| 18:1                       | 12.88±0.31                     |
| 18:2                       | 11.59±0.85                     |
| 18:3                       | 22.93±0.63                     |
| 20:4                       | 2.66±0.26                      |
| 20:5                       | 0.15±0.02                      |
| 24:0                       | 0.55±0.08                      |
| Doymuş FA                  | 42.70                          |
| Doymamış FA                | 57.30                          |

*V. diversifolium* taksonu ile alakalı fitokimyasal çalışmalar incelendiğinde bu türün toplam fenolik, flavonoid, proantosiyantin, vitamin, sterol ve serbest yağ asitlerini inceleyen herhangi bir çalışmaya konu olmadığı; ancak *Verbascum* cinsinin diğer birçok türünün fenolik bileşik ve flavonoid miktarlarının belirlenmeye çalışıldığı anlaşılmıştır. Örneğin Danahaliloğlu [60] *V. caesareum*, *V. gaillardotii*, *V. galilaeum*, *V. pinetorum*, *V. sinuatum* ve *V. tripolitanum* ekstraktlarının 120.5 ile 316.3 mg GAE/g ekstrakt aralığında toplam fenolik bileşik içerdiklerini saptamışlardır. Amin vd. [62] *V. calvum* çiçeklerinin 74.91 ile 79.56 mg GAE/g toplam fenolik, Marian vd. [61] *V. phlomoides*'in 471.33 mg GAE toplam fenolik ve 5.36 mg QE toplam

flavonoit içerdiklerini belirlemişlerdir. Bu tezden elde edilen sonuçlar ile yukarıda bahsi geçen araştırmaların sonuçları, *Verbascum* cinsine ait türlerin fitokimyasal içerik bakımından zengin olduklarını göstermektedir.

#### 4.2.3. *V. diversifolium* Antikanser Analiz Sonuçları

*V. diversifolium* çiçeklerinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının A2780 hücre serilerine karşı antikanser aktivite sonuçları Tablo 4.9’da sunulmuştur. Bu sonuçlara göre bu bitkinin antikanser aktivitesinin doza bağımlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ekstraktların en yüksek doz olan 1000 µg/mL için kendi aralarındaki antikanser aktivite sıralaması ise şu şekildedir: VDE > VDS > VDM.

**Tablo 4.9.** *Verbascum diversifolium* ekstraktlarının insan yumurtalık kanserine (A2780) karşı antikanser özellikleri

| Örnekler (n=10) | <i>V. diversifolium</i> Su | <i>V. diversifolium</i> Etanol | <i>V. diversifolium</i> Metanol |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Kontrol         | 100.00±10.11               | 100.00±10.11                   | 100.00±10.11                    |
| Çözücü          | 94.62±9.73                 | 94.62±9.73                     | 94.62±9.73                      |
| 1 µg/mL         | 57.51±6.15*                | 52.33±6.21*                    | 47.74±4.97*                     |
| 10 µg/mL        | 51.58±5.71*                | 39.28±5.35*                    | 47.35±7.55*                     |
| 100 µg/mL       | 48.56±6.09*                | 24.88±3.22*                    | 39.89±3.28*                     |
| 1000 µg/mL      | 33.60±4.43*                | 28.85±5.03*                    | 42.41±4.24*                     |

(Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde sunulmuştur. \*p<0.05)

*V. diversifolium* çiçeklerinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının MCF-7 hücre serilerine karşı antikanser aktivite sonuçları Tablo 4.10’da sunulmuştur. Bu sonuçlara göre bu bitkinin antikanser aktivitesinin doza bağımlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ekstraktların en yüksek doz olan 1000 µg/mL için kendi aralarındaki antikanser aktivite sıralaması ise şu şekildedir: VDM > VDS > VDE.

**Tablo 4.10.** *Verbascum diversifolium* ekstraktlarının insan göğüs kanserine (MCF-7) karşı antikanser özellikleri

| Örnekler (n=10) | <i>V. diversifolium</i> Su | <i>V. diversifolium</i> Etanol | <i>V. diversifolium</i> Metanol |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Kontrol         | 100.00±7.17                | 100.00±7.17                    | 100.00±7.17                     |
| Çözücü          | 98.77±8.41                 | 98.77±8.41                     | 98.77±8.41                      |
| 1 µg/mL         | 75.03±9.81                 | 85.01±9.49                     | 60.47±6.73*                     |
| 10 µg/mL        | 75.74±9.79                 | 77.06±8.39                     | 66.88±8.49*                     |
| 100 µg/mL       | 65.59±7.13*                | 46.34±5.78*                    | 32.63±5.05*                     |

|            |             |             |             |
|------------|-------------|-------------|-------------|
| 1000 µg/mL | 36.01±4.12* | 49.43±4.64* | 31.95±4.39* |
|------------|-------------|-------------|-------------|

(Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde sunulmuştur. \*p<0.05)

*V. diversifolium* türü ile ilgili herhangi bir antikanser çalışmaya rastlanmamakla birlikte, *Verbascum* cinsine ait bazı türlerin antikanser araştırmaların konusu oldukları belirlenmiştir. Örneğin, Marian vd. [61] *V. phlomoides*'in B16-F10 melanoma hücre serilerine karşı, Amin vd. [62] *V. calvum* çiçeklerinin MCF-7 insan göğüs kanseri ve A549 insan akciğer kanseri hücrelerine karşı, Gupta vd. [63] *V. thapsus* bitkisinin karaciğer ve akciğer kanseri hücrelerine yüksek antikanser aktiviteye sahip olduklarını saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise Dinani vd. [64] *V. alceoides* ekstraktlarının HeLa (insan servikal karsinoma) ve HUVEC (insan göbek damarı endotel hücre) serilerine karşı sitotoksik aktivitelerini incelemişler ve çalışma sonunda bu bitkinin HeLa hücrelerine karşı yüksek sitotoksositeye, HUVEC hücrelerine karşı ise düşük sitotoksositeye sahip olduklarını ileri sürmüşlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlar ile yukarıda bahsi geçen *Verbascum* ile alakalı antikanser çalışmalar göstermiştir ki bu bitki cinsine ait türler antikanser aktiviteye sahiptirler.

## 5. SONUÇLAR

Bu yüksek lisans tez çalışmasında Elazığ ve çevresinde yetişmekte olan *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) toprak üstü kısımlarının ve endemik *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) çiçeklerinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının ABTS, OH ve DPPH radikalleri üzerinde antiradikal özellikleri, insan göğüs kanseri (MCF-7) ve insan over kanseri (A2780) hücre serileri üzerinde antikanser özellikleri saptanmaya çalışılmıştır. Ayrıca bu iki bitki türünün içerdiği fitokimyasal bileşikler (toplam proantosiyanidin, toplam flavonoit, toplam fenolik, serbest yağ asitleri, bitki steroller ve yağda çözünen vitaminler) de saptanmıştır.

Antiradikal analiz sonuçlarına göre *A. compactus* subsp. *compactus* etanol, metanol ve su ekstraktlarının ABTS, DPPH ve OH radikali yok etme testlerinde, standart antioksidan BHT'den daha düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Öte yandan *V. diversifolium*'un bütün ekstraktları ABTS radikali yok etme testinde; *V. diversifolium* etanol ve metanol ekstraktları DPPH radikali yok etme testinde; *V. diversifolium* metanol ekstraktı OH radikali yok etme testinde standart antioksidan BHT'den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir. Fitokimyasal içerik analizlerine göre, *A. compactus* subsp. *compactus* metanol ekstraktının diğer ekstraktlara kıyasla daha yüksek miktarda toplam flavonoit, toplam fenolik ve toplam proantosiyanidin içerdiği gözlenmiştir. *V. diversifolium* su ekstraktı toplam fenolik bakımından, *V. diversifolium* metanol ekstraktı ise toplam proantosiyanidin ve toplam flavonoit bakımından diğer ekstraktlardan daha zengin bulunmuştur. Her iki bitkinin de  $\alpha$ -tokoferol, fitosteroller ve doymamış yağ asitleri bakımından zengin oldukları saptanmıştır. Antikanser analiz sonuçlarına göre ise *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve endemik *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) bitkilerinin artan doza bağlı olarak insan göğüs kanseri (MCF-7) ve insan over kanseri (A2780) hücre serilerine karşı antikanser aktiviteye sahip oldukları anlaşılmıştır.



## ÖNERİLER

Sunulan yüksek lisans tezinden elde edilen bütün sonuçlar ışığında Elazığ ve çevresinde yetişen *Astragalus compactus* subsp. *compactus* (guni) ve endemik *Verbascum diversifolium* (Nizip sığırkuyruğu) taksonlarının *in vitro* antiradikal ve antikanser aktiviteleri ile içerdikleri fitokimyasal bileşikler açıklığa kavuşturularak literatüre kazandırılmıştır. Bu tezden elde edilen sonuçların, bu iki bitkinin içerdiği etken maddelerin izole edilip saflaştırılması çalışmalarına öncü çalışma olarak katkı sağlayabileceği ve *in vitro* antikanser ve antiradikal özelliklerinin de ileride yapılabilecek *in vivo* çalışmaların başlangıç noktasını teşkil edebileceği düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] Abushita, A.A., Hebshi, E.A., Daood, H.G., Biacs, P.A. (1997). Determination of antioxidation vitamins in tomatoes, *Food Chemistry*, 60, pp. 207-212.
- [2] Meyer, A.S., Heinonen, M., Frankel, E.N. (1998). Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation, *Food Chemistry*, 61, pp. 71-75.
- [3] Nakagawa, K., Ninomiya, M., Okubo, T., Aoi, N., Nuneja, L.R., Kim, M., Yamanaka, K., Miyazawa, T. (1999). Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipid, hydroperoxidation in plasma in human, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, pp. 3967-3973.
- [4] Miyake, Y., Murakami, A., Sugiyama, Y., Isobe, M., Koshimizu, K., Ohigashi, H. (1999). Identification of coumarin from lemon fruit (*Citrus limon*) as inhibitors of *in vitro* tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, pp. 3151-3157.
- [5] Keser, F. (2018). *Bazı Yenilebilir Bitkilerin Antiradikal, Antibakteriyel ve Antikanser Özellikleri ile İçerdikleri Fitokimyasal Bileşiklerin Saptanması*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [6] Larson, R.A. (1988). The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry*, 27, pp. 969-978.
- [7] Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M., Kawakishi, S. (1988). Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, pp. 732-737.
- [8] Pratt, D.E., Hudson, B.J.F. (1990). *Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants*, Hudson B.J.F. Ed.; Elsevier; Amsterdam, pp. 171-192.
- [9] Ames, B.M., Shigena, M.K., Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing, *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 90, pp. 7915-7922.
- [10] Dragsted, L.O., Strube, M., Larsen, J.C. (1993). Cancer-protective factors in fruits and vegetables: Biochemical and biological background, *Pharmacological Toxicology*, 72, pp. 116-135.
- [11] Gülçin, İ. (2002). *Isırgan Otunun (Urtica dioica) Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, Oksidatif Enzimlerin Karakterizasyonu ve Bazı İn Vivo Etkilerinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [12] Essawii, T., Srouf, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 46, pp. 343-349.
- [13] Schinor, E.C., Salvador, M.J., Ito, I.Y., Dias, D.A. (2007). Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents from *Chresta scapigera*, *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, pp. 145-149.
- [14] Modi, C., Mody, S., Patel, H., Dudhatra, G., Kumar, A., Awale, M. (2012). Herbal antibacterials: a review, *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 1, pp. 52-61.
- [15] Lemkebthomas, L., Williams, D.A., Roche, V.F., William, Z.S. (2008). *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, 6th edition.
- [16] Prema, R., Sekar, S.D., Sekhar K.B.C. (2011). Review on: Herbs as anticancer agents, *International Journal of Pharmacy & Industrial Research*, 1, pp. 105-108.
- [17] Hilal, Z., Michael, S., Ben, A.E., Bashar, S. (2012). Greco-Arab and Islamic herbal-derived anticancer modalities: from tradition to molecular mechanisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, Article ID 349040, 13 pages.

- [18] Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkilerle Tedavi*, 2. Baskı, Nobel Tıp Yayınevi, İstanbul, Türkiye.
- [19] Çöllü, Z. (2007). *Urtica pilulifera L. Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [20] Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, pp. 275-295.
- [21] Nakazawa, H., Genka, C., Fujishima, M. (1996). Pathological aspects of active oxygens/free radicals, *The Japanese Journal of Physiology*, 46, pp. 15-32.
- [22] Uysal, M. (1998). Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar, *Klinik Gelişim*, 11, pp. 336-341.
- [23] Nelson, D.L., Cox, M.M. (2004). *Lehninger Principles of Biochemistry*, Fourth edition. W.H. Freeman and Company, New York.
- [24] Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya.
- [25] Fridovich, I. (1975). Superoxide dismutases, *Annual Review of Biochemistry*, 44, pp. 147-159.
- [26] Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T. (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, pp. 92-95.
- [27] Reische, D.W., Lillard, D.A., Eitenmiller, R.R., Akoh, C.C., Min, D.B. (2002). *Food Lipids Chemistry: Nutrition and Biotechnology*, New York, Marcel Dekker Inc, pp. 489-516.
- [28] Rang, R.Y., Tsou, S.C.S., Lee, T.C., Wu, W.J., Hanson, P.M., Kuo, G., Engle, L.M., Lai, P.Y. (2006). Distribution of 127 edible plant species for antioxidant activities by two assays, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, pp. 2395-2403.
- [29] Öztürk, M., Öztürk, F.A., Duru, M.E., Topçu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant, *Food Chemistry*, 103, pp. 623-630.
- [30] Tepe, B., Eminagaoglu, O., Akpulat, H.A., Aydın, E. (2007). Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm., *Food Chemistry*, 100, pp. 985-989.
- [31] Davis, P.H. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Vol. 10), Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [32] Keskin, C. (2009). *Astragalus diphtherites Fenzl var. diphtherites ve Astragalus gymnaocepias Rech (Fabaceae) Taksonlarının Farklı Polariteye Sahip Çözücüler ile Hazırlanan Özütlerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [33] Sevgi, S. (2016). *Astragalus compactus Lam Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [34] Bülbül, K. (2014). *Astragalus cariensis Boiss. Türü Üzerinde Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [35] Ghahari, S., Alinezhad, H., Nematzadeh, G.A., Tajbakhsh, M., Baharfar, R. (2018). Phytochemical, antioxidant and biological activities of the essential oil of *Astragalus alopecurus* Pall. fruits from Northern Iran, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21, pp. 103-115.
- [36] Keskin, C., Ozen, H.C., Toker, Z., Kizil, G., Kizil, M. (2018). Determination of *in vitro* antioxidant and antimicrobial properties of shoot and root extracts of *Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites* and *Astragalus gymnaocepias* Rech. Fil. obtained by different solvents, *Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal of Natural Sciences*, 21, pp. 157-166.

- [37] Albayrak, S., Kaya, O. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of four *Astragalus* species growing wild in Turkey, *Turkish Journal of Biochemistry*, 43, pp. 425-434.
- [38] Krasteva, I., Momekov, G., Zdraveva, P., Konstantinov, S., Nikolov, S. (2008). Antiproliferative effects of a flavonoid and saponins from *Astragalus hamosus* against human tumor cell lines, *Pharmacognosy Magazine*, 4, pp. 269-272.
- [39] Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S., Dadpour, M.R. (2012). Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* Lam. (Fabaceae), *EXCLI Journal*, 11, pp. 436-443.
- [40] Yilmaz, M. (2009). *Verbascum antiochium* Boiss. (Scrophulariaceae) Bitki Ekstraktının Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [41] Civelek, E.D. (2018). *Verbascum pyramidatum* Bieb. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [42] Davis, P.H. (1969). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 3, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- [43] Davis, P.H. (1978). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 6, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- [44] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- [45] Yu, L.L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Qian, M. (2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, pp. 1619-1624.
- [46] Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. (1992). Antioxidant properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, pp. 945-948.
- [47] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Aruoma, O. (1987). The deoxyribose method: a simple “test tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals, *Analytical Biochemistry*, 165, pp. 215-219.
- [48] Kim, D.O., Chun, O.K., Kim, Y.J., Moon, H.Y., Lee, C.Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51, pp. 6509-6515.
- [49] Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis-automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, pp. 49-55.
- [50] Amaeze, O.U., Ayoola, G.A., Sofidiya, M.O., Adepoju-Bello, A.A., Adegoke, A.O., Coker, H.A.B. (2011). Evaluation of antioxidant activity of *Tetracarpidium conophorum* (Müll. Arg) Hutch & Dalziel leaves, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, Article ID 976701, 7 pages.
- [51] Katsanidis, E., Addis, P.B. (1999). Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue, *Free Radical Biology and Medicine*, 27, pp. 1137-1140.
- [52] Hara A., Radin, N.S. (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Analytical Biochemistry*, 90, pp. 420-426.
- [53] Christie, W.W. (1992). *Gas Chromatography and Lipids*, The Oil Press, Glasgow.
- [54] Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of Immunological Methods*, 65, pp. 55-63.

- [55] Butkute, B., Benetis, R., Padarauskas, A., Ceseviciene, J., Dagilyte, A., Taujenis, L., Rodovicius, H., Lemeziene, N. (2017). Young herbaceous legumes- a natural reserve of bioactive compounds and antioxidants for healthy food and supplements, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90, pp. 346-353.
- [56] Ghaffari, M.A., Chaudry, B.A., Uzair, M., Imran, M., Ashfaq, K. (2021). Total phenolic and flavonoid contents, cytotoxic, immuno-modulatory and anti-inflammatory potential of whole plant *Astragalus creticus* (Fabaceae), *Tropical Journal of Pharnaceutical Research*, 20, pp. 2109-2115.
- [57] Yağlıoğlu, A.Ş., Gürbüz, D.G., Dölarslan, M., Demirtaş, İ. (2022). First deternination of anticancer, cytotoxic, and *in silico* ADME evaluation of secondary metabolites of endemic *Astragalus leucothrix* Freyn&Bornm., *Turkish Journal of Chemistry*, 46, pp. 169-183.
- [58] Mihaylova, R., Shkondrov, A., Aluani, D., Ionkova, I., Tzankova, V., Krasteva, I. (2021). *In vitro* antitumour and immunomodulating activity of saponins from *Astragalus glycyphyllos*, *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 35, pp. 1948-1955.
- [59] Sheik, A., Kim, K., Varaprasad, G.L., Lee, H., Kim, S., Kim, E., Shin, J.Y., Oh, S.Y., Huh, Y.S. (2021). The anticancerous activity of adaptogenic herb *Astragalus membranaceus*, *Phytomedicine*, 91, 153698.
- [60] Danahaliloğlu, H. (2014). *Hatay Bölgesinde Yetişen Çeşitli Verbascum Türlerinin Bazı Kimyasal ve Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [61] Marian, E., Vicas, L.G., Jurca, T., Muresan, M., Pallag, A., Stan, R.L., Sevastre, B., Diaconeasa, Z., Ionescu, C.M.L., Hangan, A.C. (2018). *Salvia officinalis* L. and *Verbascum phlomoides* L. chemical, antimicrobial, antioxidant and antitumor investigations, *Revista de Chimie*, 69, pp. 365-370.
- [62] Amin, H.I.M., Hussain, F.H.S., Gilardoni, G., Thu, Z.M., Clericuzio, M., Vidari, G. (2020). Phytochemistry of *Verbascum* species growing in Iraqi Kurdistan and bioactive iridoids from the flowers of *Verbascum calvum*, *Plants*, 9, 1066.
- [63] Gupta, A., Atkinson, A.N., Pandey, A.K., Bishayee, A. (2022). Health-promoting and diseases-mitigating potential of *Verbascum thapsus* L. (common mullein): A review, *Phytotherapy Research*, 36, pp. 1507-1522.
- [64] Dinani, M.S., Malakooti, S., Akbari, V. (2020). *In vitro* cytotoxic activity of *Verbascum alceoides* against cervix carcinoma cells, *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 9, pp. 19-24.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ebru Bahar ÇİÇEK**

\_\_\_\_\_

| Category   | 2019 | 2020 |
|------------|------|------|
| Category 1 | 100  | 100  |
| Category 2 | 100  | 100  |
| Category 3 | 100  | 100  |
| Category 4 | 100  | 100  |
| Category 5 | 100  | 100  |
| Category 6 | 100  | 100  |
| Category 7 | 100  | 100  |

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

[REDACTED]  
[REDACTED]

\_\_\_\_\_

© 2006 The Authors

[REDACTED] [REDACTED]

\_\_\_\_\_

██████████

██████████

██████████