

BÜŞRA KULAKSIZ PİŞKİN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2022

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

***COLCHICUM VARIEGATUM L. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR***

BÜŞRA KULAKSIZ PİŞKİN

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. ÇAĞLAYAN GÜRER**

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

TEZ ONAYI



BEYAN



İTHAF

Daima yanımda olan
canım aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Bu tezin yapılması için bana yol gösteren, çalışmalarımı dikkatle yönlendiren; tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerini paylaşarak ilgi ve desteğini benden esirgemeyen danışmanım, saygıdeğer hocam Doç. Dr. Çağlayan Gürer'e saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitemde bulunan değerli hocalarım Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Aynur Sarı ile tez bitkimin tür teşhisi ve botanik açıdan incelenmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Şükran Kültür'e; çalışmalarım esnasında güler yüzü ve yardımlarını daima hissettiğim diğer Farmakognozi Anabilim Dalı mensubu saygıdeğer öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine içten teşekkürlerimi sunduğumu belirtirim.

Laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında güleryüzü ile samimi destek ve yardımlarını esirgemeyen, değerli arkadaşım Arş. Gör. Fatma Göç'e teşekkürü borç bilirim. Tez çalışmamda yer alan YBSK çalışmalarımı yürütmeme yardımcı olan ve akademik hayatta desteğini hep hissettiğim Arş. Gör. Ayşe Esra Karadağ'a; sitotoksik aktivite çalışmalarımı yürütmeme olanak sağlayan Arş. Gör. Sevede Nur Biltekin Kaleli'ye emekleri için çok teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında daima yanımda olan ve bu güne gelmemi sağlayan sevgili aileme koşulsuz destekleri için en içten şükran ve saygılarımı sunarım.

Arazi çalışmalarım boyunca tez bitkimi bularak toplamama yardımcı olan; böylece en zorlu aşamayı kolayca atlatmamı sağlayan ve doktora tez deneylerimi yaptığım sürede desteğini, sevgisini hep hissettirerek yanımda olan sevgili eşim Yunus Emre Pişkin'e en içten teşekkürlerimi sunarım.



Colchicum variegatum L.
(Fotoğraflar: Büşra Kulaksız Pişkin)

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	Xİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	XİV
SEMBOLLER / KISALTMA LİSTESİ	XVİİ
ÖZET	XİX
ABSTRACT.....	XX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bölüm.....	3
2.1.1. Liliaceae Familyası	3
2.1.2. <i>Colchicum</i> L.....	3
2.1.3. <i>Colchicum variegatum</i> L.....	4
2.2. Kimyasal Bölüm	7
2.2.1. <i>Colchicum</i> Alkaloitleri.....	7
2.2.2. <i>Colchicum</i> Alkaloitlerinin Sınıflandırılması.....	8
2.2.3. <i>Colchicum</i> Türlerinden Elde Edilen Alkaloit Bileşikleri.....	9
2.2.3.1. Tropon Halkası Taşıyan <i>Colchicum</i> Alkaloitleri	9
2.2.3.2. Tropon Halkası Taşımayan <i>Colchicum</i> Alkaloitleri	18
2.2.3.3. Diğer Türevler.....	20
2.2.4. <i>Colchicum</i> Alkaloitlerinin Teşhis Edilmesi	24
2.2.5. Ülkemizde Yetişen <i>Colchicum</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal ve Biyoaktivite Çalışmaları	25
2.2.6. <i>Colchicum</i> Alkaloitlerinin Biyosentezi.....	31
2.2.7. <i>Colchicum</i> Alkaloitleri ve Yapı-Aktivite İlişkileri	33
2.3. Farmakolojik Bölüm	36
2.3.1. Farmakokinetik	36

2.3.1.1. Emilim ve Dağılım	36
2.3.1.2. Metabolizma ve Atılım	37
2.3.2. Farmakodinamik	38
2.3.2.1. Etki Mekanizması.....	38
2.3.3. Diğer Farmakolojik Özellikler	39
2.3.3.1. Kullanılış Şekli.....	39
2.3.3.2. Gebelik ve Laktasyon Döneminde Kullanım	39
2.3.3.3. Kontrendikasyonları ve İlaç etkileşimleri	40
2.3.3.4. Advers Etkiler ve Toksisite	41
2.3.4. Kolşisinin Tedavideki Etki ve Kullanılışı	42
2.3.4.1. Gut Hastalığı	43
2.3.4.2. Ailevi Akdeniz Ateşi ve Amiloidoz	45
2.3.4.3. Behçet Hastalığı	46
2.3.5. Kolşisinin Diğer Hastalıklar Üzerindeki Etki ve Kullanılışı	47
2.3.5.1. Kardiyovasküler Hastalıklar.....	47
2.3.5.2. Diyabet	49
2.3.5.3. Covid-19.....	49
2.3.5.4. Cilt Hastalıkları	50
2.3.5.5. Alzheimer Hastalığı	52
2.4. Kanser	52
2.4.1. Kanser Tedavisinde Yer Alan Bitkisel Kökenli İlaçların Etki Mekanizmaları 53	
2.4.1.1. Tübülün ile İlişkili Olmayan Antikanser Etki Mekanizması	54
2.4.1.2. Tübülün ile İlişkili Antikanser Etki Mekanizması	54
2.4.2. Kanser Tedavisinde Yer Alan Bitkisel Kökenli Maddeler	55
2.4.2.1. Kolşisin	55
2.4.2.2. Paklitaksel	56
2.4.2.3. Vinca alkaloidleri	56
2.4.2.4. Kamptotesin	57
2.4.2.5. Podofilotoksin	58
2.4.2.6. Kombretastatinler	59
3. GEREÇ VE YÖNTEM	60
3.1. Materyal	60
3.2. Kimyasal Metotlar	60

3.2.1. Fitokimyasal Ön Deneyler	60
3.2.1.1. Alkaloid.....	60
3.2.1.2. Flavonoidler	61
3.2.1.3. Tanen.....	61
3.2.1.4. Antrasen Türevleri	61
3.2.1.5. Saponin.....	62
3.2.2. Alkaloidlerin Tüketilmesi	62
3.2.2.1. Metanol Ekstrelerinin Hazırlanması	62
3.2.2.2. Alkaloid Tüketilmesi.....	62
3.3. Miktar Tayini Yöntemleri	63
3.3.1. Drogadaki Su Miktarının Tayini	63
3.3.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Kolşisin Miktar Tayini.....	63
3.3.2.1. Analizde Kullanılan Ekstrelerin ve Çözeltilerin Hazırlanması	64
3.3.2.2. Kolşisin Standart Çözeltilerinin Hazırlanması	65
3.3.2.3. YBSK Kolşisin Ölçü Eğrisi	65
3.3.3. Spektrofotometrik Total Alkaloid Miktar Tayini	65
3.3.3.1. Ekstrelerin Hazırlanması	65
3.3.3.2. Standart Kolşisin Çözeltilerinin ve Kolşisin Eğrisinin Hazırlanması	66
3.3.3.3. Total Alkaloid Miktar Tayininde Kullanılan İstatistiksel Bilgiler.....	66
3.4. Kromatografik Metotlar	66
3.4.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	66
3.4.1.2. Preparatif İTK	68
3.4.1.3. Sütun (Kolon) Kromatografisi	68
3.5. Spektral Metotlar	69
3.5.1.1. UV-Vis Spektrofotometre	69
3.5.1.2. Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR)	69
3.5.1.3. Kütle Spektrometresi (MS)	70
3.5.1.4. Sıvı Kromatografisi/Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi (LC-HRMS)	70
3.5.2. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	71
3.5.2.1. Kolorimetrik MTT Yöntemi	71
3.5.2.2. MTT Metodu ile Hücre Serileri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Tayini.....	72
3.5.2.3. Hücre Hatları Kültürleme İşlemleri	72

3.5.2.4. Hücrelerin Alt Kültürlerinin Yapılması	72
3.5.2.5. Kolorimetrik MTT Yönteminin Uygulanması	73
4. BULGULAR.....	74
4.1. <i>C. variegatum</i> L. Fitokimyasal Ön Deney Bulguları.....	74
4.2. Miktar Tayini Bulguları	74
4.2.1. Su Miktar Tayini Bulguları	74
4.2.2. YBSK ile Kolşisin Miktar Tayini Bulguları	75
4.2.2.1. Kolşisinin Farklı Konsantrasyonlardaki YBSK Kromatogram Sonuçları ...	75
4.2.2.2. <i>C. variegatum</i> L. Toprak üstü Metanol Ekstresinde Miktar Tayini Sonuçları	77
4.2.2.3. <i>C. variegatum</i> L. Toprak Altı Metanol Ekstresinde Miktar Tayini Sonuçları	78
4.2.2.4. Kolşisin Standart Ölçü Eğrisi.....	78
4.2.2.5. Ekstre ve Droglardaki Kolşisin Yüzdeleri	79
4.2.3. Spektroskopik Total Alkaloid Miktar Tayini Bulguları.....	79
4.3. Fenolik Bileşiklerin LC-HRMS Analiz Bulguları	82
4.3.1. LC-HRMS ile Saptanan Fenolik Bileşikler	83
4.3.2. <i>C. variegatum</i> L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı...89	
4.3.3. <i>C. variegatum</i> L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı 92	
4.4. <i>C. variegatum</i> L. Alkaloidlerinin Ayrılması, Saflaştırılması ve Elde Edilen Alkaloidlerin Yapılarının Aydınlatılması	95
4.4.1. <i>C. variegatum</i> L. A ve B ekstrelerinin İTK ile Çözücü Sistemlerinde Karşılaştırılmaları.....	95
4.4.2. Alkaloidlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması.....	97
4.4.2.1. Tü-A Ekstresi	97
4.4.2.2. Ta-A Ekstresi	98
4.4.3. Yapısı Aydınlatılan Alkaloidlerin Rf Değerleri.....	101
4.4.4. Renk Reaksiyonları	102
4.4.5. Elde Edilen Alkaloidlerin Yapılarının Aydınlatılması	102
4.4.5.1. Kolşisin (BKP-TA ₁ ve BKP-H ₁ Kodlu Alkaloidler).....	102
4.4.5.2. 2-Demetilkolşisin (BKP-TA ₆₄ Alkaloidi)	107
4.4.5.3. Kolşifolin (BKP-TA ₂ ve BKP-H ₂ Kodlu Alkaloidler).....	112
4.5. Sitotoksik Aktivite Bulguları	117

4.5.1. MTT Yöntemi ile Hücre Serileri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Sonuçları	117
4.5.1.1. PC3 Hücreleri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Bulguları.....	118
4.5.1.2. HEK293 Hücreleri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Bulguları	118
4.5.1.3. MCF7 Hücreleri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Bulguları	119
5. TARTIŞMA	120
KAYNAKLAR	123
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	145
ÖZGEÇMİŞ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Ülkemizde Yetişen <i>Colchicum</i> Türleri ve Çiçeklenme Zamanları	6
Tablo 2-2: Nötral ve Fenolik Tropolon Alkaloitlerinin Molekül Şekilleri	10
Tablo 2-3: Bazik ve Fenolik Tropolon Alkaloitlerinin Molekül Şekilleri.....	15
Tablo 2-4: Ülkemizde Yetişen <i>Colchicum</i> Türleri ve İzole Edilen <i>Colchicum</i> Alkaloitleri	25
Tablo 2-5: Ülkemizde Yetişen <i>Colchicum</i> Türleri Üzerinde Yapılan Aktivite Çalışmaları	29
Tablo 2-6: Kolşisin Kullanımı için Önerilen ve Onaylanmış Endikasyonlar	43
Tablo 3-1: <i>Colchicum variegatum</i> L. için YBSK Gradient Yöntem	64
Tablo 3-2: Tropolon Alkaloitleri için İTK’da Kullanılan Çözücü Sistemleri	67
Tablo 3-3: Sütun Kromatografisinde Kullanılan Çözücü Sistemi ve Oranları	69
Tablo 3-4: Sıvı Kromatografisi/Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi Sistem Şartları.....	70
Tablo 3-5: Kütle Spektrometresi Sistem Şartları	71
Tablo 4-1: <i>Colchicum variegatum</i> L. Türüne ait Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları..	74
Tablo 4-2: <i>Colchicum variegatum</i> L. Türünde Yapılan Su Miktar Tayini Sonuçları.....	74
Tablo 4-3: <i>C. variegatum</i> L. Ekstreleri ve Droglarına ait Kolşisin Yüzdeleri.....	79
Tablo 4-4: Kolşisin Standardının Belirli Konsantrasyonlarda Alınan Absorbans Ortalamaları	80
Tablo 4-5: <i>C. variegatum</i> L. Metanol Ekstrelerine ait Absorbans Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri	81
Tablo 4-6: <i>C. variegatum</i> L. Ekstrelerinin Absorbans Değerlerine Karşılık Gelen Konsantrasyon ve Ortalama Değerleri.....	81
Tablo 4-7: <i>C. variegatum</i> L. Metanol Ekstrelerine ait İstatistik Verileri	81
Tablo 4-8: LC-HRMS ile Saptanan Fenolik Bileşikler ve Miktarları	82
Tablo 4-9: <i>C. variegatum</i> L. Drog, Ekstre Miktarları ve Verimleri	95
Tablo 4-10: Kullanılan Çözücü Sistemi, Oranları ve Benzer Fraksiyonların Birleştirilmesi ile Elde Edilen Bakiye Miktarları	99
Tablo 4-11: <i>C. variegatum</i> L. Türünden İzole Edilen Alkaloitlerin Rf Değerleri.....	101
Tablo 4-12: BKP-TA ₁ Alkaloitine ait ¹ H NMR Değerleri	103

Tablo 4-13: BKP-TA ₆₄ Alkaloitine ait ¹ H NMR Değerleri	108
Tablo 4-14: BKP-TA ₂ Alkaloitine ait ¹ H NMR Değerleri	113
Tablo 4-15: BKP-TA ₂ , BKP-TA ₆₄ Alkaloitleri, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının MCF7, PC3 ve Sağlıklı HEK293 Hücreleri Üzerindeki IC50 Değerleri	117



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Tropolon Halkası Taşıyan <i>Colchicum</i> Alkaloidlerinin Ana Yapısı	9
Şekil 2-2: (S)-Autumnalin	18
Şekil 2-3: Kesselridin.....	18
Şekil 2-4: Regelin	19
Şekil 2-5: Szovitsamin	19
Şekil 2-6: Kolşisin'in Lumi Türevleri	20
Şekil 2-7: (aR, 7S) Allokolşisin.....	21
Şekil 2-8: Kolşisin	22
Şekil 2-9: İzokolşisin	22
Şekil 2-10: 3-demetiltiyokolşisin.....	23
Şekil 2-11: Tiyokolşikozit	23
Şekil 2-12: Oberlin-Zeisel Reaksiyonu.....	24
Şekil 2-13: <i>Colchicum</i> Alkaloidlerinin Biyosentezi	32
Şekil 4-1: Kolşisin (0,1 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.83)	75
Şekil 4-2: Kolşisin (0,2 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.81)	75
Şekil 4-3: Kolşisin (0,3 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.80)	76
Şekil 4-4: Kolşisin (0,4 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.78)	76
Şekil 4-5: Kolşisin (0,5 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.79)	77
Şekil 4-6: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi YBSK Kromatogramı	77
Şekil 4-7: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Altı Metanol Ekstresi YBSK Kromatogramı	78
Şekil 4-8: Kolşisin Ölçü Eğrisi	78
Şekil 4-9: Kolşisin Standart Eğrisi.....	79
Şekil 4-10: Askorbik Asit	83
Şekil 4-11: Fumarik Asit.....	83
Şekil 4-12: Klorojenik Asit.....	83
Şekil 4-13: Kafeik Asit	83
Şekil 4-14: (+)- <i>trans</i> -Taksifolin.....	84
Şekil 4-15: Luteolin-7-rutinozit	84
Şekil 4-16: Vanilik Asit	84
Şekil 4-17: Luteolin-7-glikozit	84

Şekil 4-18: Naringin.....	85
Şekil 4-19: p-Kumarik Asit.....	85
Şekil 4-20: Apigenin-7-glikozit.....	85
Şekil 4-21: Salisilik Asit.....	86
Şekil 4-22: Kersetin.....	86
Şekil 4-23: Kemferol.....	86
Şekil 4-24: Apigenin.....	86
Şekil 4-25: Hispidulin.....	87
Şekil 4-26: Krisin.....	87
Şekil 4-27: 3,4-Dihidroksibenzaldehit.....	87
Şekil 4-28: Pirokateşol.....	87
Şekil 4-29: 2,5-Dihidroksibenzoik Asit.....	88
Şekil 4-30: Hispidulin-7-glikozit.....	88
Şekil 4-31: Krisoeriol.....	88
Şekil 4-32: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-1.....	89
Şekil 4-33: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-2.....	90
Şekil 4-34: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-3.....	91
Şekil 4-35: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-1.....	92
Şekil 4-36: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-2.....	93
Şekil 4-37: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-3.....	94
Şekil 4-38: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Üstü A ve B Ekstrelerinin İTK karşılaştırılması ..	96
Şekil 4-39: <i>C. variegatum</i> L. Toprak Altı A ve B Ekstrelerinin İTK Karşılaştırılması..	96
Şekil 4-40: Tü-A Ekstresinden Preparatif İTK ile Ayrılan Bantlar ..	98
Şekil 4-41: Birleştirilen Fr ₄₀₋₄₇ ve Fr ₄₈₋₅₀ 'nin Preparatif İnce Tabaka Kromatogramı ..	100
Şekil 4-42: Birleştirilen Fr ₅₆₋₆₃ ve Fr ₆₄₋₆₇ Preparatif İnce Tabaka Kromatogramı.....	100
Şekil 4-43: Fr ₆₈₋₁₀₅ Preparatif İnce Tabaka Kromatogramı ..	101
Şekil 4-44: Kolşisin (BKP-TA ₁ ve BKP-H ₁ Kodlu Alkaloidler).....	102

Şekil 4-45: BKP-TA ₁ UV Spektrumu.....	103
Şekil 4-46: BKP-TA ₁ ¹ H NMR Spektrumu	105
Şekil 4-47: BKP-TA ₁ Kütle Spektrumu.....	106
Şekil 4-48: 2-demetilkolşisin (BKP-TA ₆₄ Alkaloidi)	107
Şekil 4-49: BKP-TA ₆₄ UV Spektrumu	108
Şekil 4-50: BKP-TA ₆₄ ¹ H NMR Spektrumu.....	110
Şekil 4-51: BKP-TA ₆₄ Kütle Spektrumu	111
Şekil 4-52: Kolşifolin (BKP-TA ₂ ve BKP-H ₂ Alkaloidleri).....	112
Şekil 4-53: BKP-TA ₂ UV Spektrumu.....	113
Şekil 4-54: BKP-TA ₂ ¹ H NMR Spektrumu	115
Şekil 4-55: BKP-TA ₂ Alkaloidine ait Kütle Spektrumu.....	116
Şekil 4-56: BKP-TA ₂ , BKP-TA ₆₄ Alkaloidleri, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının 24 Saatlik Uygulamasının PC3 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi ...	118
Şekil 4-57: BKP-TA ₂ , BKP-TA ₆₄ Alkaloidi, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının 24 Saatlik Uygulamasının HEK293 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi	118
Şekil 4-58: BKP-TA ₂ , BKP-TA ₆₄ Alkaloidleri, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının 24 Saatlik Uygulamasının MCF7 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi	119

SEMBOLLER / KISALTMA LİSTESİ

A: Absorbans

ACE₂: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim 2

AChE: Asetilkolinesteraz

A_{ort}: Ortalama Absorbans

ATCC: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu

BChE: Bütilkolinesteraz

C: Konsantrasyon

DNA: Deoksiribonükleik Asit

D- PBS: Dulbecco's Phosphate Buffered Saline

ESI: Elektrosprey İyonizasyonu

FBS: Fetal Sığır Serum

FDA: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)

FMF: Ailesel Akdeniz Ateşi

Fr: Fraksiyon

Hz: Hertz

IL: İnterlökin

ISTE: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu

IUPAC: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği

İTK: İnce Tabaka Kromatografisi

J: Etkileşme Sabiti

L: Linnaeus

LC-HRMS: Sıvı kromatografisi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi

MS: Kütle Spektrometrisi

MTT: 3-[4,5-dimetiltiazol-2 il]-2,5-difeniltetrazolyum tuzu

N: Deney Sayısı

NET: Nötrofil Hücre Dışı Tuzakları

NF- κ B: Nükleer Faktör Kappa B

NLRP-3: Nod Benzeri Reseptör Protein-3

NMR: Nükleer Magnetik Rezonans

P-pg: P-Glikoprotein

R.T: Retansiyon Zamanı

RNA: Ribonükleik Asit

S: Standart Sapma

Sars-CoV-2: Sars Koronavirüs

S_R: Relatif Standart Sapma

S_x: Standart Hata

t : % 95 Güven Düzeyi İçin Verilen Sabite

Ta-A: Toprak Altı Nötral-Fenolik Ekstresi

Ta-M: Toprak Altı Metanol Ekstresi

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör Alfa

Tü-A: Toprak üstü Nötral-Fenolik Ekstresi

Tü-M: Toprak Üstü Metanol Ekstresi

UV: Ultraviyole

X: Ortalama Değer

YBSK: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

δ : Kimyasal Kayma

ÖZET

Kulaksız Pişkin B. (2022). *Colchicum variegatum* L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Colchicum türleri içerdikleri tropolon alkaloidlerinden dolayı çalışma konusu olmaya devam etmektedir. *Colchicum* alkaloidi olan kolşisin günümüzde halen *Colchicum autumnale* L. türünden izole edilmektedir. Ülkemizde 50'den fazla *Colchicum* türü olmasına rağmen *C. autumnale* L. yetişmediğinden diğer türlerin kolşisin açısından kaynak olup olamayacağı araştırılmıştır. Bu nedenle tez konusu olarak daha önce üzerinde çalışma yapılmayan bir tür olan *Colchicum variegatum* L. seçilmiştir. Çalışmada *C. variegatum* L. türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen nötral-fenolik ekstraktlarından alkaloid izolasyonu, total alkaloid miktarı, kolşisin miktarı ve sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiştir. Alkaloidlerin izolasyonunda sütun kromatografisi ve preparatif İTK yöntemleri kullanılmıştır. İzole edilen saf maddelerin yapıları İTK, UV, NMR ve MS yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Yapıları aydınlatılan alkaloidler, toprak üstü nötral-fenolik ekstraktan kolşisin, kolşifolin; toprak altı nötral-fenolik ekstraktan kolşisin, 2-demetilkolşisin, kolşifolin olarak tespit edilmiştir. LC-HRMS analiz yöntemiyle *C. variegatum* L. türünde bilinen 8 fenolik asit ve 14 flavonoid bileşiğinin varlığı tespit edilmiştir. Sitotoksik aktivite sonuçlarına göre BKP-TA₆₄ ve BKP-TA₂/BKP-H₂ alkaloidleri PC3 ve HEK293 hücre hattında kolşisine göre daha düşük; MCF7 hücre hattında kolşisine göre yüksek aktivite göstermiştir. Toprak altı A ekstresinde ise tüm hücre hatlarında en düşük aktivite saptanmıştır. Total alkaloid miktarı toprak üstü metanol ekstresinde % 3,224; toprak altı metanol ekstresinde % 4,916 olarak belirlenmiştir. YBSK yöntemi ile yapılan kolşisin miktar tayini sonucunda ise toprak üstü metanol ekstresindeki kolşisin miktarı kantitatif olarak (a/a) % 0,02; toprak altı metanol ekstresindeki kolşisin miktarı ise % 0,83 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Colchicum variegatum* L., Kolşisin, Tropolon alkaloidleri, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi, Sitotoksik aktivite.

ABSTRACT

Kulaksiz Piskin B. (2022). Pharmacognostical Investigations on *Colchicum variegatum* L. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacognosy. PhD Thesis. Istanbul.

Colchicum species, continue to be the subject of study due to the tropolone alkaloids they contain. Colchicine which is *Colchicum* alkaloid is still isolated from the species *Colchicum autumnale* L. does not grow. For this reason, the species *Colchicum variegatum* L. has not been studied yet was chosen as the subject of the thesis. In the study, alkaloid isolation from neutral-phenolic extracts obtained from herba and tubers of *C. variegatum* L., total alkaloid amount, colchicine amount and cytotoxic activity were evaluated. The alkaloids whose structures were elucidated, colchicine and colchifoline, from the neutral-phenolic extract of herba; colchicine, 2-demethylcolchicine, colchifoline were determined from the neutral-phenolic extract of the tuber. The presence of 8 phenolic acids and 14 flavonoid compounds previously known were determined in the *C. variegatum* L. LC-HRMS. BKP-TA₆₄ and BKP-TA₂/BKP-H₂ alkaloids showed lower cytotoxic activity in PC3 and HEK293 cell lines than colchicine, and showed higher activity in MCF7 cell line than colchicine. The lowest cytotoxic activity was detected in the A extract of the tuber in all cell lines. Total alkaloid amount has determined as 3.224 % in the methanol extract of herba and 4.916 % in the methanol extract of tuber. As a result of the colchicine amount determination made by HPLC, the amount of colchicine in the methanol extract of the herba was quantitatively (w/w) 0.02 %, and the amount of colchicine in the methanol extract of tuber was determined as 0.83 %.

Key Words: *Colchicum variegatum* L., Colchicine, Tropolone Alkaloids, High Performance Liquid Chromatography, Cytotoxic Activity

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Liliaceae familyasındaki *Colchicum* cinsine ait bitkilerin tedavi edici etkileri yüzyıllar öncesine dayanmakta olup Dioscorides, Galen ve Tralesli İskender gibi birçok Yunan hekiminin tedavide kullandıkları kaydedilmiştir (Suhail ve ark. 2017).

Colchicum autumnale L. ismini Karadeniz'in doğu ucundaki Colchis bölgesinden almaktadır. "Colchicon" olarak bilinen bitkinin ilk ayrıntılı tanımlamaları ve çizimleri, MS. 1. yüzyılda Dioscorides tarafından belgelenmiştir (Malkinson 1982; Winter ve ark. 2011).

Colchicum autumnale L. türünün zehirli etkisi Dioscorides tarafından bilinmesine rağmen, bitkinin müstahzarları ilk olarak 6. yüzyılda Tralesli İskender tarafından eklem kaynaklı ağrılar için önerilmiştir. *Colchicum*, Bizans doktorları tarafından "hermodactyl" (Hermes'in parmağı) ve "articulorum" (eklemlerin ruhu) olarak isimlendirilmiştir. *Colchicum*, 1763'te Baron Anton Von Storck tarafından akut gut tedavisi için tanıtılmıştır. Kendisi gut hastası olan Benjamin Franklin'in ABD'de *Colchicum* tedavisini başlattığı bilinmektedir (Ebadi 2006).

Antik çağlardan beri bilinen biyolojik aktif bileşenlerden biri olan kolşisin *Colchicum autumnale* L. ve *Gloriosa superba* L. türlerinde doğal olarak bulunmaktadır (Ebadi 2006). Kolşisin ilk kez 1820'de *Colchicum autumnale* L. türünden Pelletier ve Caventou tarafından izole edilmiştir (Pandey ve Banik 2012; Kavita 2021). Saf kristalize formu Fransız eczacı Alfred Houde tarafından elde edilmiştir (Karamanou ve ark. 2018; Toader ve ark. 2021). Alman eczacı ve kimyager Philipp Lorenz Geiger ise 1833'te saf bileşiğin kristalleştirilmesinden sonra 'kolşisin' ismini kullanan ilk kişi olmuştur. Kolşisin bileşiğinin yapısı, 1952'de King ve çalışma arkadaşlarının X-ışını kristalografisi araştırmasına kadar aydınlatılmamıştır. Bu araştırmanın Dewar tarafından iki 7 üyeli halka içerdiği varsayımını desteklenmesiyle birlikte kolşisinin yapısı tam olarak ortaya konmuştur (Larsson ve ark. 2014).

Kolşisin, bitki ve hayvanlarda hücre bölünmesi üzerine güçlü inhibitör etki göstermektedir. Metafaz evresinin durdurulmasıyla hücre bölünmesi tamamlanamamakta ve antikanser etki ortaya çıkmaktadır (Akhtar ve ark. 2018; Molkova ve ark. 2022)

Kolşisin'in antimitotik ve antiinflamatuvar aktivite göstermesinden dolayı, kolşisin terapötik olarak gut artriti, ailevi Akdeniz ateşi, Behçet hastalığı, osteoartrit, çeşitli kardiyovasküler hastalıklar ve farklı kanser türlerinde kullanılmaktadır Türkiye'de preparatları olarak kolşisin ve türevlerinden hazırlanan Colchicum-Dispert®, Kolsin®, MuscoRil®, Muscoflex®, Adeleks®, Thiospa® bulunmaktadır (Kayaalp 2002; Kavalalı 2014; Ergül ve Bakar-Ateş 2021).

Kolşisin'in yüksek toksisitesinden dolayı izolasyon çalışmaları ve sentez kimya çalışmaları kolşisinle aynı sitotoksik aktiviteye sahip ancak daha az toksik olan türevler üzerinde yoğunlaşmıştır. Oldukça fazla olan araştırma sayısına rağmen halen kolşisin bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir (Cifuentes 2006). *Colchicum autumnale* L. en yüksek kolşisin içeren tür olarak bilinmektedir. *Colchicum* alkaloidlerinin miktarlarının değerlendirildiği bir çalışmada ülkemizin Kuzeydoğu bölgesinde yetişen *C. speciosum* Steven türünün tohumlarının da *C. autumnale* L. kadar zengin olduğu belirlenmiştir (Sütlüoğlu 1983).

Farmakognozi Anabilim Dalı'mızda *Colchicum* türleri üzerine olan araştırmalar Prof. Dr. Turhan Baytop ve Günay (Özcöbek) Sarıyar tarafından başlatılarak Prof. Dr. Nurhayat Sütlüoğlu tarafından devam ettirilmiştir (Baytop ve Özcöbek 1970; Sütlüoğlu 1983; 1985; 1988; 1998). Bu araştırmaların devamı niteliğinde olan tez çalışmamızda *Colchicum variegatum* L. türü seçilerek, toprak altı ve toprak üstü kısımlarındaki alkaloid bileşenlerinin izole edilmesi, izole edilen maddelerin yapılarının aydınlatılması, LC-HRMS analizi ile bitkinin fenolik asitleri ve flavonoidlerinin saptanmasının yanısıra elde edilen yeterli miktardaki alkaloidlerin MCF7, PC3 ve sağlıklı HEK293 hücre hatları üzerinde sitotoksik aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bölüm

2.1.1. Liliaceae Familyası

Liliaceae familyasına ait olan bitkiler çok yıllık veya nadiren tek yıllık, çoğunlukla rizomlu, kormuslu, soğanlı ya da tuberli; nadiren de dikenli tırmanıcı özelliktedir. Yapraklar tabanda ya da gövdede (nadiren sapsız, iki sıralı, karşılıklı ve tabanlarıyla birbirini örter vaziyette, sık dizilişli), bazen de ovat ya da linear yaprağa benzer şekillerdeki gövdelerde (kladotlar) pullara indirgenmiş durumda bulunur. Çiçek durumu birleşik salkım (panikula), salkım (rasem), şemsiye (umbella) veya yalancı şemsiye (korimbus) şeklinde veya çiçekler tektir. Periant iki sıralı; nadiren iç sıranın ortadan kalkması ile tek sıralı; segmentler (4 -) 6 (- 8) adet ve serbest ya da birleşik durumda ve genellikle petalimsidir. Stamenler (4 -) 6 (- 10). Nektaryumlar sepallerde, tabanda ya da periant üzerindedir. Ovaryum daima üst durumlu, 3 gözlü; stiluslar 1-3, nadiren 5, basit veya lopludur. Tohumlar yuvarlak, 3 yüzlü ya da tabla şeklinde; meyva ise bir bakka ya da kapsuladır (Davis 1984).

2.1.2. *Colchicum* L.

Colchicum cinsine ait bitkiler çok yıllıktır. Toprak altı gövdesi tunikalı bir kormustur; bazen uzamış, yatay rizoma benzer stolonlu çıkıntıları olan sürünücü gövdeler şeklindedir. Tunikalar zarımsı veya derimsi, genellikle tüpsü, kalıcı bir “boyun” şeklinde uzar. Gelişen yapraklar ve çiçek durumu zarımsı bir kının içinde bulunur. Yapraklar tabanda, kısmen çiçek açma aşamasında veya çiçeklenme evresinden sonra ve bazen de çiçekler solduğunda gelişir. Çiçekler küçük brakteye sahip ve çok kısa saplıdır; tek veya demet halinde bulunur. Çiçek sapı kapsüller olgunlaştığında uzar. Periant morumsu kırmızı, pembe veya beyaz ve bazen damalı olup çan veya huni, rotat veya stellat şeklindedir.

Periant segmentleri 6 adet; 2 sıralı ve tabanda tüp şeklinde birleşmiştir. Stamenler 1 veya 2 sıralı, periant parçalarının tabanı ile birleşmiş; filamentler ince ve bazen tabanda kalındır (Davis 1984). Anterler filamentlerin tepesine sırtından bağlı, (Türkiye'deki türlerde oynak) ve iç yüzünden açılmaktadır. Stiluslar serbest, 3 adet; stigmalar nokta şeklinde veya stilus boyunca tek taraflı aşağıya doğru uzanır, ovaryum toprak altında bulunur. Tohumlar yuvarlak, çok sayıda; meyve ise 3 gözlü septisit kapsüldür (Davis 1984).

2.1.3. *Colchicum variegatum* L.

Kormus 2-6 cm (-8) x 2-4,5 (-5), ovat küremsi, dıştaki tunika koyu kahverengi-siyahımsı derimsi, iç tunika açık kahverengi, kıvılcık-kahverengi, zarımsı ve derimsi; boyun (2-) 3-15 x 0,5-1,5 (-1,8) cm. Katafil neredeyse boyun uzunluğunda krem veya sarımsı-beyaz. Yapraklar histerantus (çiçeklenme döneminden sonra yaprak veren), 3-4 adet; ilk oluştuğunda dik, olgunlukta 6-13 (-15) x 0,7-2 (-2,5) cm linear-lanseolat; yaprak tepesi obtus veya akut; yaprak kenarı belirgin şekilde dalgalı, tüysüz. Çiçekler 1-2 (-3) adet, rotat; katafili 2-10 cm aşan periant tüpü, beyaz veya sarımsı-beyaz, segmentler 2-5,5 (-7) x 0,5-2,5 cm, lanseolat-eliptik, her bir segment 10-21 damarlı, açık veya koyu mor, belirgin mozaik şeklinde, tepesi obtus veya akut, tabanda kulakçısız, filament kanalları tüysüz. Stamenler periantın ½'si kadar veya daha uzun; filamentler 1,5-3,5 (-4) cm, beyaz, krem veya sarımsı-beyaz, tüysüz; anterler 4-10 x 0,5-1,2 mm mor, mor-siyah veya morumsu-kahverengi, zarsız. Stilus düz veya kavisli, apekte şişkin, krem, sarımsı-beyaz, açık mor-pembe veya mor; stigma dekurent, 0,5-2 mm. Kapsül, 1-4 x 0,8-1,5 (-2) cm, eliptik-oblong, ovoid; kurutulduğunda açık veya koyu kahverengi, tüysüz; tohumlar 1,5-4 mm çapında, ovoid-küremsi, bazen yatay yassı, açık veya koyu kahverengi. Çiçeklenme zamanı Eylül-Kasım, yapraklar ve meyve verme zamanı Şubat-Mayıs (Davis 1984).

Habitat: Taşlı yamaçlar ve kireçtaşı kayalar arasında, *Quercus coccifera*, *Erica* ve *Juniperus* çalılıklarının açıklıkları, *Pinus* ve *Abies* ormanı ve maki açıklıkları.

Rakım: 150-1700 m.

Sinonim: *C. parkinsonii* Hooker / *C. variegatum* L. var. *desii* Pamp / *C. agrippinum*

Türkiye’deki Dağılışı: Güney, Batı ve Orta Anadolu. B1 İzmir: Tahtalı Da., Bornm. 1906: 10038 (leaf)! C1 Aydın: Dilek yarımadası, A. Baytop (ISTE 26818, fl.)! C2 Muğla: Muğla to Kale, 1000 m, T. Baytop et al. (ISTE 33913, fl.)! Antalya:Elmalı to Kaş, 1400 m, T. Baytop & Leep (ISTE 36228, fl.)» C3 Antalya:Yarpuz Da., 1200 m, D. 25780! Burdur: Burdur to Bucak, 5 km to Çeltikçi, T. Baytop et al. (ISTE 33889, fl.)! Konya: 72 km from Beyşehir to Akseki, 1350 m, A. Baytop (ISTE 26887, fl.)! Isparta: d. Eğridir, 2 km S. of Kapiz De. towards Yaka köyü, 1250-1400 m, Peşmen & Güner 2316 (fl.)! C4 Antalya: Gündoğmuş, 1370 m, Allison et al 77-8 (fl.)! Is: Lesvos, Kastelii above Ayassos, Edmondson & McChntock 2688 (fl.)! Khios, 1939-40, Platt (fl.)! Santos, between Mytiini and Wurliot, Fors.-Maj.; Leros, 1960, Taylor (fl.)! Kos, mt Dikaios, Brenan (fl.)! Rodhos, W. coast nr int. Attavros, 1200 m, cult. Brickell 6 xi 1972 (fl.)! ibid., Rix 1262! (Davis 1984).

Dünyada dağılışı: Yunanistan

Fitocoğrafik durum: Doğu Akdeniz elementi.

Colchicum cinsi son yayınlarda *Colchicaceae* familyasına dahil edilmektedir. Kısa bir Fransızca betimle yürürlüğe girdiği belirtilmiştir (Essasi 1804; Güner ve ark. 2012). *Colchicum* türleri günümüze kadar ilkbahar ve sonbaharda çiçek açanlar olmak üzere iki sınıfta gruplandırılmaktadır; ancak literatüre yeni eklenen türlerle birlikte çiçeklenme zamanı yaz ve kış döneminde olanlar da bulunmaktadır. Türkiye’de yetişen *Colchicum* türleri ve çiçeklenme zamanları Tablo 2-1’de verilmiştir (Şahin ve ark. 2021).

Colchicum türleri Osmanlı dönemi kitaplarında “mahrut” ve “sürincan” isimleriyle bilinmektedir. “Güz çiğdemi, öksüzali, göçkovan, öksüzoğlan, vargit, kalkgit” isimleri ise sonbaharda açan türlere halk arasında verilen isimlerdendir. Ayrıca “Cambirt, galeden, ligoser, acı çiğdem, itboğan, ayı çiğdemi, zumak, it sarımsağı, likofor, tarhana çiçeği, avu, göç çiçeği ve koyun dölü” isimleri de *Colchicum* türlerinin bilinen isimleri arasında bulunmaktadır (Baytop 1994; Düşen ve ark. 2007; Güner 2012).

Tablo 2-1: Ülkemizde Yetişen *Colchicum* Türleri ve Çiçeklenme Zamanları

<i>Colchicum</i> Türleri	Çiçeklenme zamanları
<i>C. antepense</i> K. Perss.	Kış
<i>C. atticum</i> (Spruner) Boiss & Spruner	Kış
<i>C. balansae</i> Planchon	Sonbahar
<i>C. baytopiorum</i> C.D. Brickell	Sonbahar
<i>C. bivonae</i> Guss.	Sonbahar
<i>C. biossieri</i> Orph.	Sonbahar
<i>C. burtii</i> Meikle	Kış
<i>C. chalcedonicum</i> Azn. ssp. <i>punctatum</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. chalcedonicum</i> Azn. ssp. <i>chalcedonicum</i>	Sonbahar
<i>C. chlorobasis</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. cilicicum</i> (Boiss.) Dammer	Sonbahar
<i>C. crocifolium</i> Boiss.	Kış
<i>C. davisii</i> C.D. Brickell	Sonbahar
<i>C. decaisnei</i> Boiss.	Sonbahar
<i>C. dolichantherum</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. erdalii</i> N. Ozhatay	Kış
<i>C. figlalii</i> (Ö. Varol) Parolly & Eren	İlkbahar
<i>C. heldreichii</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. hirsutum</i> K. Perss.	Kış
<i>C. ignescens</i> K. Perss.	İlkbahar
<i>C. imperatoris-frederici</i> Siehe ex K. Perss.	Sonbahar
<i>C. inundatum</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. kotschyi</i> Bornm.	Yaz
<i>C. kurdicum</i> (Bornm.) Stef.	İlkbahar
<i>C. lagotum</i> K. Perss.	İlkbahar
<i>C. leptanthum</i> K. Perss.	Kış
<i>C. lingulatum</i> Boi.& Spr. ssp. <i>rigescens</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. macrophyllum</i> B.L. Burt	Sonbahar
<i>C. manissadijani</i> (Azn) K. Perss.	İlkbahar
<i>C. maraschicum</i> Kaya & N.Ozhatay	Yaz
<i>C. micaceum</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. micranthum</i> Boiss.	Sonbahar
<i>C. minutum</i> K. Perss.	Kış

<i>C. munzurense</i> K. Perss.	İlkbahar
<i>C. osmaniyensis</i> N.Ozhatay & E.Kaya	Sonbahar
<i>C. paschei</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. persicum</i> Baker	Sonbahar
<i>C. polyphyllum</i> Boiss. & Heldr.	Sonbahar
<i>C. raddeanum</i> K. Perss.	İlkbahar
<i>C. sanguicolle</i> K. Perss.	Sonbahar
<i>C. serpentinum</i> Woron. ex Misch.	Kış
<i>C. sieheanum</i> Hausskn. ex Setf.	Sonbahar
<i>C. soboliferum</i> C.A.Meyer apud Fisch.&Mey.	İlkbahar
<i>C. speciosum</i> Steven	Sonbahar
<i>C. stevenii</i> Kunth	Sonbahar
<i>C. szovitsii</i> Fisch. et Mey. ssp. <i>branchyphyllum</i> (Boiss. et Hausskn.) K. Perss.	Kış
<i>C. szovitsii</i> Fisch. Et Mey. ssp. <i>szovitsii</i>	İlkbahar
<i>C. trigynum</i> (Steven ex Adam) Stapf.	Kış
<i>C. triphyllum</i> G. Kuntze	Kış
<i>C. turcicum</i> Janka	Sonbahar
<i>C. umbrosum</i> Steven	Sonbahar
<i>C. variegatum</i> Linnaeus	Sonbahar

2.2. Kimyasal Bölüm

2.2.1. *Colchicum* Alkaloidleri

Alkaloid, insan ve hayvanlarda fizyolojik etki gösteren azotlu bileşikler için kullanılan bir terimdir. Bazı karakterde olmalarından dolayı alkaliye benzer anlamında, “alkaloid” ismi verilmiştir. Ancak kolşisin gibi bazı özellik taşımayan alkaloidler de bulunduğu için, “canlılar aleminde sınırlı sayıda bulunan, azot taşıyan halkalı organik bileşikler” tanımı alkaloidler için daha doğru bulunmuştur (Başer ve Kırimer 2022 s.267).

Alkaloitler biyosentezin aminoasitlerden başlama durumuna ve azotu halka içinde/dışında taşıma durumuna göre 3 sınıfa ayrılmaktadır. Aminoasitlerden sentezlenen azotu heterosiklik halkada taşıyanlar gerçek alkaloitler; aminoasitlerden biyosentezlenen, azotu heterosiklik halka dışında taşıyanlar protoalkaloitler ve biyosentezleri aminoasitlerden başlamayan alkaloitler psödoalkaloitler olarak isimlendirilmektedir (Polya 2003).

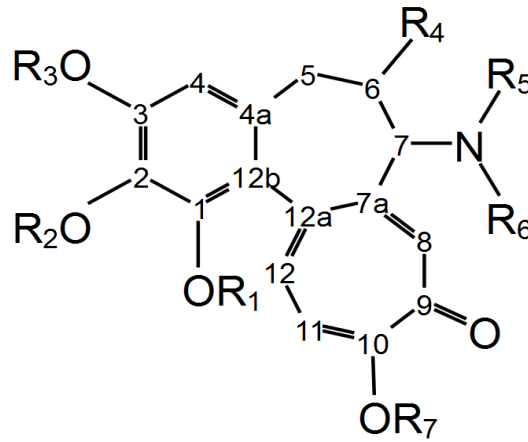
Colchicum alkaloitleri, Colchicaceae familyasına ait olan *Colchicum* L., *Gloriosa* L., *Hexacyrtis* Dinter, *Burchardia* R.Br.,, *Uvularia* L., *Kuntheria* Conran & Clifford, *Schelhamera* R.Br., *Disporum* Salisb, *Tripladenia* D.Don, *Iphigeniopsis* Buxb., *Camptorrhiza* E. Phillips, *Iphigenia* Kunth, *Sandersonia* Hook., *Baeometra* Salisb. ex Endl., *Wurmbea* Thunb., *Ornithoglossum* Salisb. cinslerinde bulunmaktadır (Larsson ve ark. 2014). Yapılan çalışmalarda *Colchicum* türlerinde protoalkaloit olan tropolon alkaloitlerinin yanında flavonoitler (luteolin, apigenin), fenolik asitler (kafeik asit, vanilik asit, kumarik asit, ferulik asit), yağ asitleri ve tanen bileşiklerinin de bulunduğu belirtilmektedir (Toplan 2016).

2.2.2. *Colchicum* Alkaloitlerinin Sınıflandırılması

Colchicum alkaloitleri, fenetilizokinolin tipi, homoproaporfin tipi, homoaporfin tipi, androsimbin tipi, kolşisin tipi, allokolşisin tipi, lumikolşisin tipi, homoeritrinan tipi gibi farklı gruplar altında gruplandırılabilir. Tropolon halkası taşıyanlar, A ekstresindeki nötral-fenolik alkaloitler, B ekstresindeki bazik-fenolik alkaloitler ve C ekstresindeki glikozidik alkaloitler olarak; tropolon halkası taşımayanlar ise, aporfin, feniltetrahidroizokinolin, homoproaporfin, homoaporfin ve homopromorfinan alkalotleri olarak sınıflandırılmaktadır.

2.2.3. *Colchicum* Türlerinden Elde Edilen Alkaloit Bileşikleri

2.2.3.1. Tropolon Halkası Taşıyan *Colchicum* Alkaloitleri

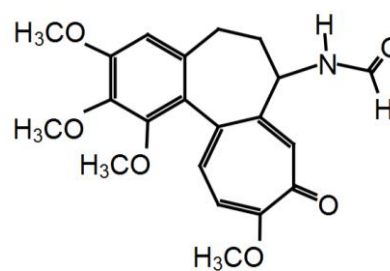


Şekil 2-1: Tropolon Halkası Taşıyan *Colchicum* Alkaloitlerinin Ana Yapısı

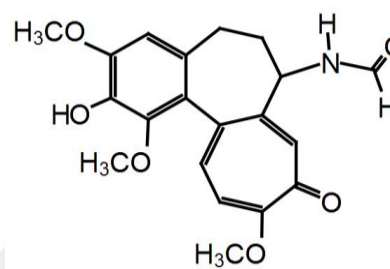
▪ A Ekstresinde Bulunan Nötral ve Nötral-Fenolik Tropolon Alkaloitleri

Yapılan diğer çalışmalarda nötral-fenolik ekstresinden izole edilen alkaloitler Tablo 2-2’de verilmiştir (Alali ve ark. 2008; 2010; Al-Tel ve ark., Al-Mahmoud ve ark. 2006; Baytop ve ark. 1980; Greenaway ve ark. 1994; Husek ve ark. 1990, Ondra, Vicar, Simanek, Tojo ve ark. 1990, Pırıldar 2006; Rocchetti ve ark. 2019, Sütlüpınar ve ark. 1988; 2015; Senizza ve ark. 2020; Toplan 2016).

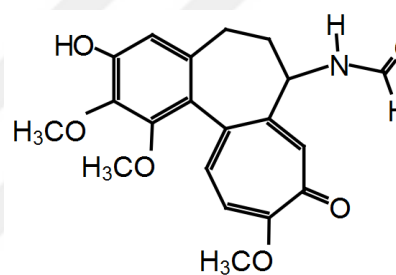
**N-Deasetil-N-formil
kolşisin**



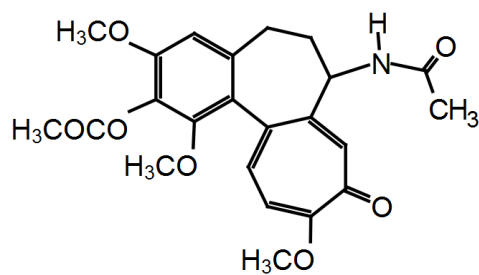
**2-demetil-N-formil-N-
deasetilkolşisin**



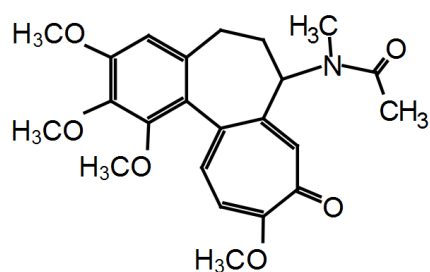
**3-demetil-N-formil-N-
deasetilkolşisin**

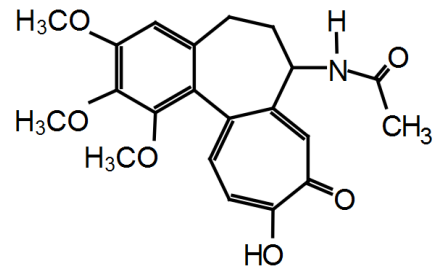
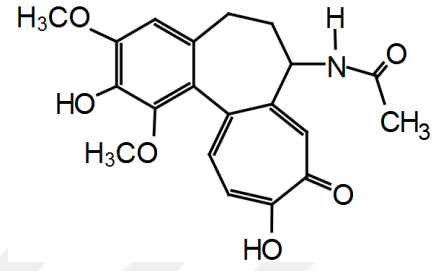
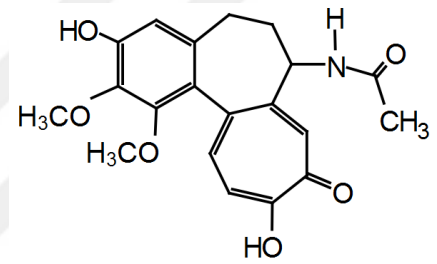
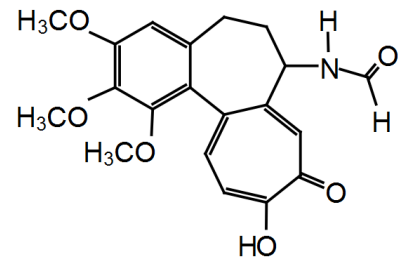


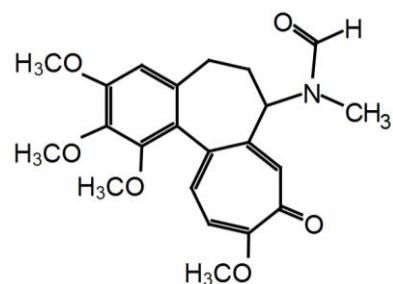
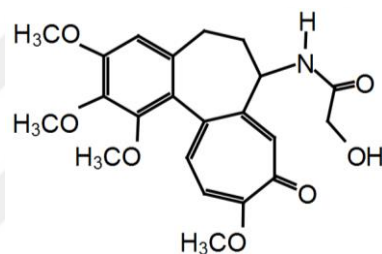
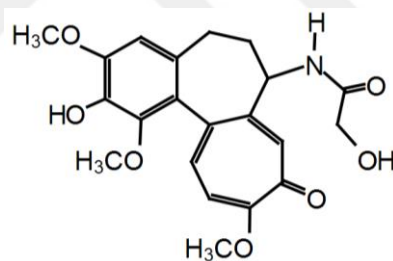
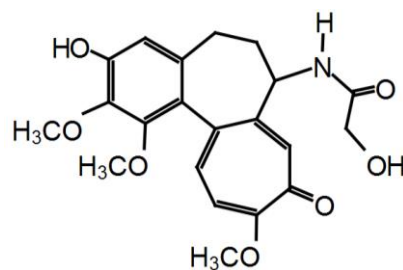
**2-asetil-2-demetil
kolşisin**

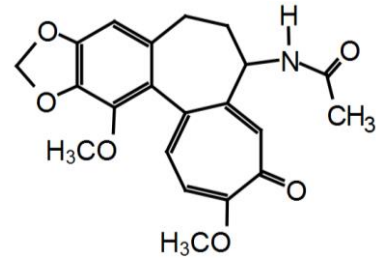
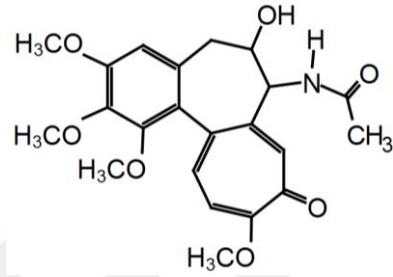
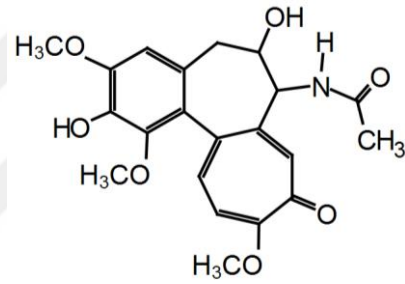


N-metilkolşisin



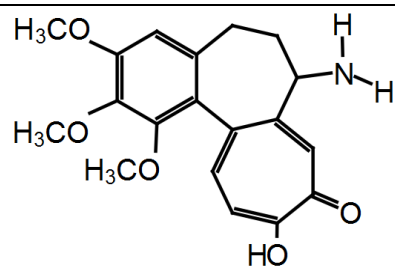
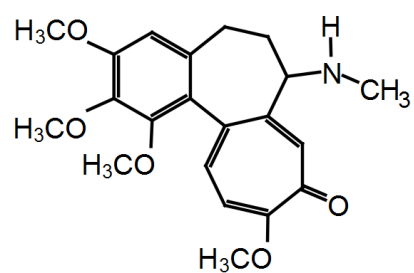
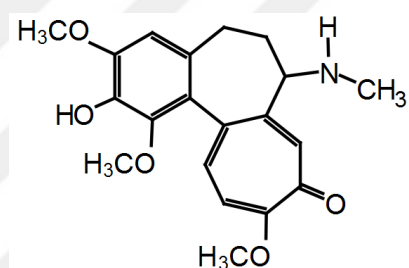
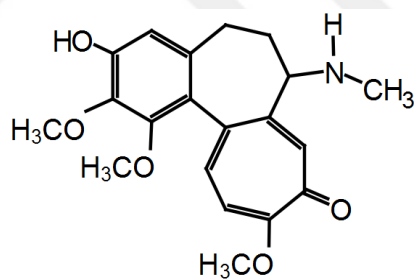
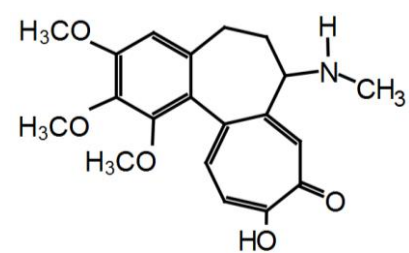
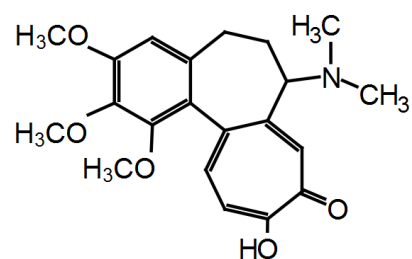
Kolşisein**2-demetilkolşisein****3-demetilkolşisein****N-deasetil-N-formil
kolşisein**

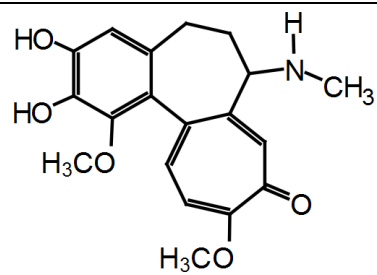
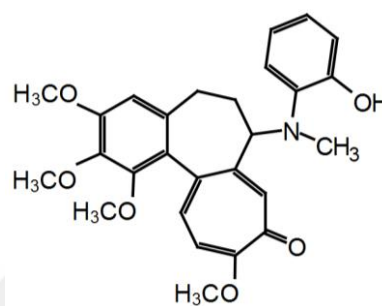
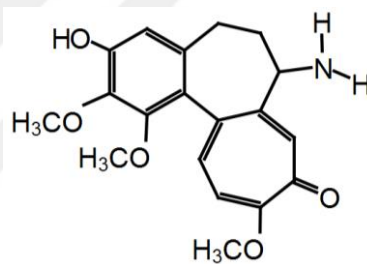
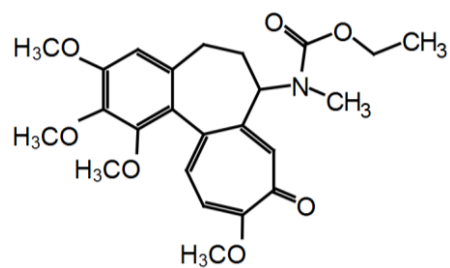
N-formildemekolsin**Kolşifolin****2-demetilkolşifolin****3-demetilkolşifolin**

Kornigerin**Kolşisilin****2-demetilkolşisilin**

▪ **B Ekstresindeki Bazik ve Bazik-Fenolik Tropolon Alkaloidleri:**

Yapılan diğer araştırmalarda bazik-fenolik ekstrelerden izole edilen alkaloidler Tablo 2-3'te gösterilmiştir (Alaliv ark. 2008: 2010; Al-Tel ve ark. 2006; Baytop ve ark. 1980, Greenaway ve ark. 1994: Husek ve ark. 1990, Ondra, Vicar, Simanek, Tojo ve ark. 1990, Pırıldar 2006, Rocchetti ve ark. 2019, Sütülpınar ve ark. 1988; 1985; 1995; 2015; Senizza ve ark. 2020).

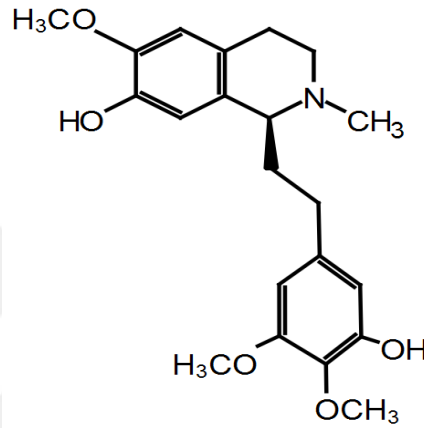
N-deasetilkolşisein**Demekolsin****2-demetildemekolsin****3-demetildemekolsin****Demekolseın****N-metildemekolseın**

2,3-didemetil demekolsin**Spesiosin****3-demetil-N-deasetilkolşisin****N-etoksikarbonildemekolsin**

2.2.3.2. Tropolon Halkası Taşımayan *Colchicum* Alkaloitleri

▪ Fenetilizokinolin Alkaloitleri:

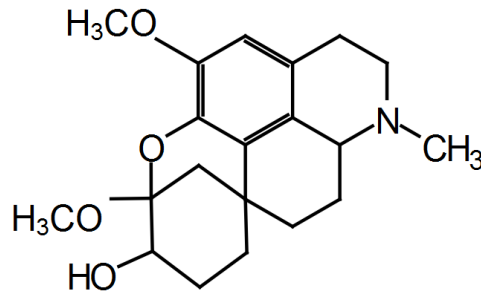
Tropolon alkaloitlerinin biyosentez basamaklarında önemli bir yapıtaşı olan autumnalin alkaloidi fenetilizokinolin yapısında olup *Colchicum cornigerum* türünden izole edilmiştir (Battersby ve ark. 1971).



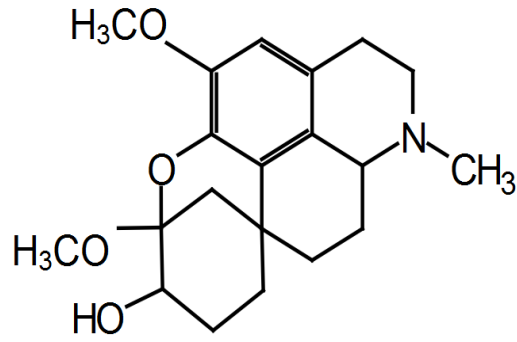
Şekil 2-2: (S)-Autumnalin

▪ Homoproaporfin Alkaloitleri:

Homoproaporfin alkaloitlerinden kesselridin, regelamin, kesselringin, regelin, isoregelinon ve jolantimin alkaloitleri *Colchicum kesselringii* Rgl. türünden; luteidin ve luteisin alkaloitleri ise *Colchicum luteum* türünden izole edilmiştir (Kametani ve ark. 1990).



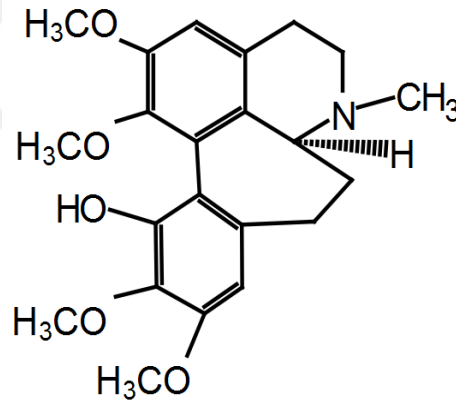
Şekil 2-3: Kesselridin



Şekil 2-4: Regelin

▪ **Homoaporphin Alkaloitleri:**

Colchicum szovitsii türü üzerinde yapılan izolasyon çalışmalarında O-metilkreysigin, szovitsamin ve merenderin alkaloitlerinin izole edildiği kaydedilmiştir (Kametani ve ark. 1990).



Şekil 2-5: Szovitsamin

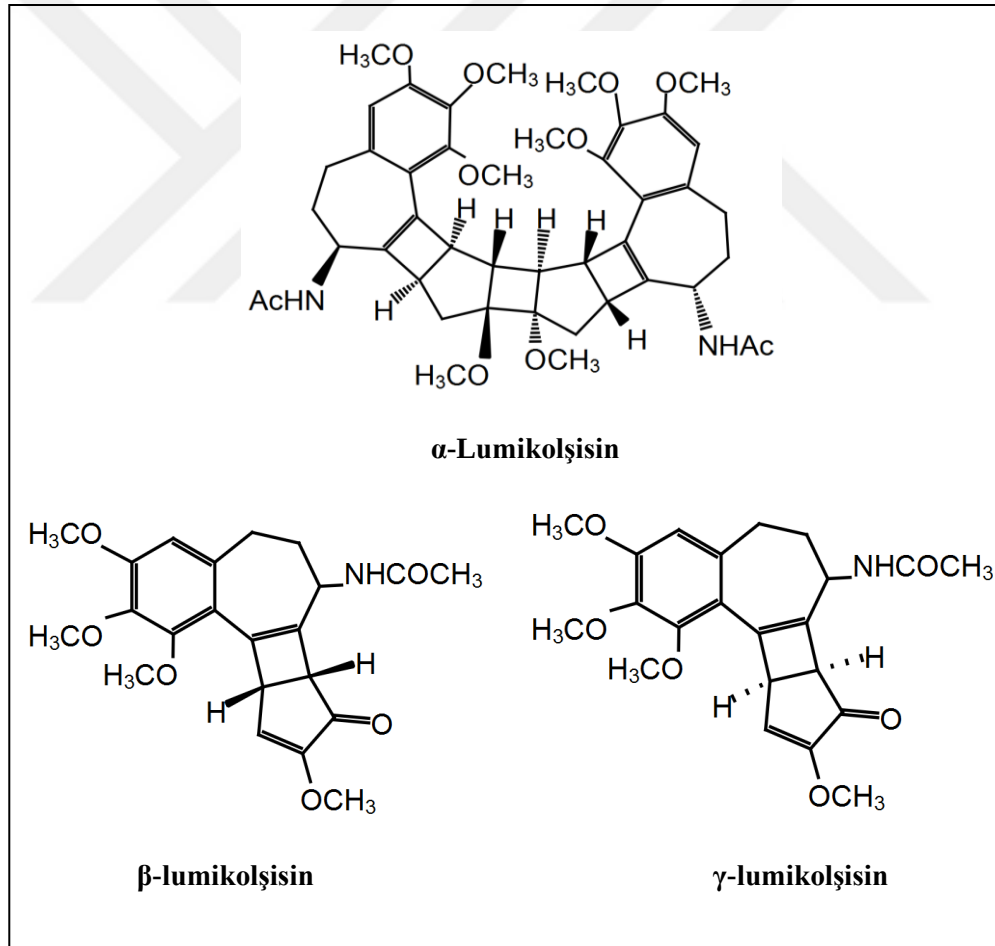
▪ **Homomorfinan Alkaloitleri:**

Yapılan çalışmalarda *Colchicum cornigerum* ve *Colchicum luteum* türlerinden kollutin alkaloidi; *Colchicum ritchii* türünden kolşiritsin alkaloidi; *Colchicum szovitsii* türünden szovitsidin alkaloidinin izole edildiği kaydedilmiştir (Yusupov ve ark. 1975; Kametani ve ark. 1990).

2.2.3.3. Diğer Türevler

▪ Lumi Türevler:

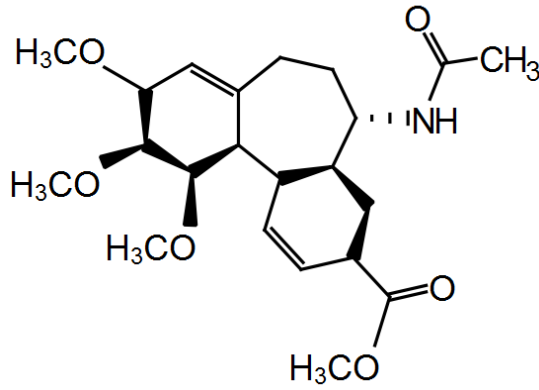
Tropolon alkaloidleri gün ışığından önemli ölçüde etkilenmektedir. Işığın etkisiyle bozulan alkaloidler α -, β - ve γ -lumi türevlerini içeren bir karışıma dönüşmekte ve fotoizomer olarak isimlendirilmektedir. Kolşisin UV ışığa maruz kaldığında, α -lumikolşisin, β -lumikolşisin, γ -lumikolşisin ve 3-O-demetil türevleri oluşmaktadır. Lumikolşisinlerin tubuline bağlanma afinitesi olmadığından antimitotik etki göstermemektedirler (Alkadi ve ark. 2018; Afsahul ve Anjum 2020; Czerwonka ve ark. 2020).



Şekil 2-6: Kolşisin'in Lumi Türevleri

▪ Allo Türevler:

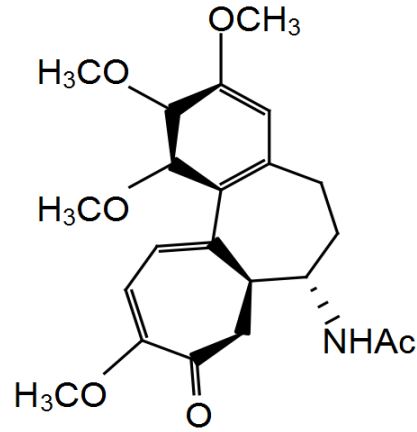
Allo türevlerinin tubulin polimerizasyonunu inhibe edici etkileri yüksek olup, kolşisine göre toksisitesi daha düşüktür. Yapılan bir çalışmada, dibenzo[c,e]oksepin sübstütüsyonu ile oluşan 6-oksa-allokolşisinoidlerin güçlü biyolojik aktiviteler gösterdiği kaydedilmiştir. Aksiyal aR, 7S izomeri olarak mevcut olan kolşisinden farklı olarak, allokolşisinoidler, aR ve aS izomerlerinin karışımları halindedir (Edwards ve ark. 2011; Fedorov ve ark. 2018).



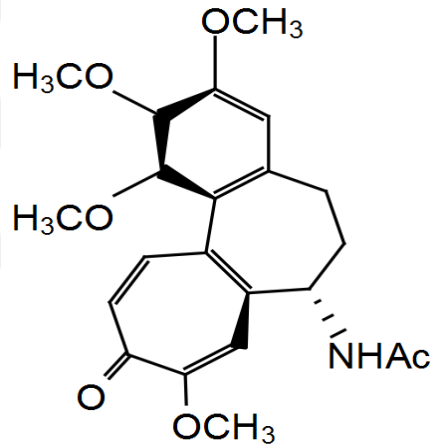
Şekil 2-7: (aR, 7S) Allokolşisin

▪ İzokolşisinler:

1978 yılında Lessinger ve Margulis isimli araştırmacılar, kolşisin ve izomer izokolşisinin aynı yapılara sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Kolşisinin tropolon halkasındaki 9. ve 10. karbon atomlarına bağlı okzo ve metoksi gruplarının yer değiştirmesiyle izokolşisinler olarak isimlendirilen bileşikler sentezlenmektedir. İzokolşisin, yapısal bir kolşisin izomeridir. Yapıdaki keto/metoksi değişimi ve sterik engel nedeniyle bağlanma bölgeleri açısından kolşisinden farklıdır. İzokolşisin bileşiğinin tübüline bağlanma afinitesinin oldukça düşük olması, mitozun engelleyememesi ve gut hastalığında etkisiz olduğunun ortaya çıkmasıyla biyolojik olarak inaktif kabul edilmiştir (Lessinger ve Margulis 1978; Bayrak ve ark. 2019).



Şekil 2-8: Kolşisin

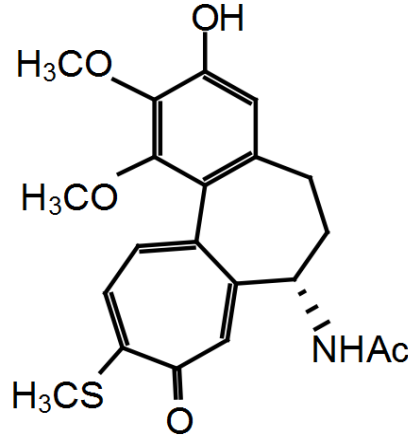


Şekil 2-9: İzokolşisin

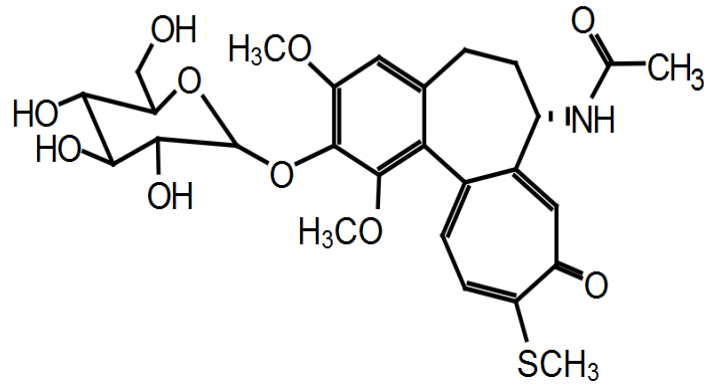
▪ Tiyo Türevler:

Tiyokolşisin, sentetik bir kolşisin türevidir. Kolşisin ve analogları kullanılarak L1210 ve P388 lösemi ile enfekte olmuş farelerin tedavisine ilişkin yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, tropolon halkasındaki 10. karbon atomunda $-OCH_3$ yerine $-SCH_3$ grubunun yer aldığı (-)-tiyokolşisin gibi (-)-kolşisin analoglarının tübüline güçlü bir şekilde bağlanabildiği belirtilmiştir. Ancak 9. karbon atomunda bir $-SCH_3$ grubuna sahip olan (-)-pesudotiyokolşisin ve 11. karbon atomunda bir $-SCH_3$ grubuna sahip olan (-)-izotiyokolşisin bileşiklerinin tübüline bağlanma afinitesinin olmadığı kaydedilmiştir.

3-demetiltiyokolşisin'in glikoziti olan tiyokolşikozit kas gevşetici, antiinflamatuvar ve analjezik etkilerinden dolayı klinik olarak kas ağrılarında ve gut hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (Annapurna 2018; Ghawanmeh ve ark. 2019).



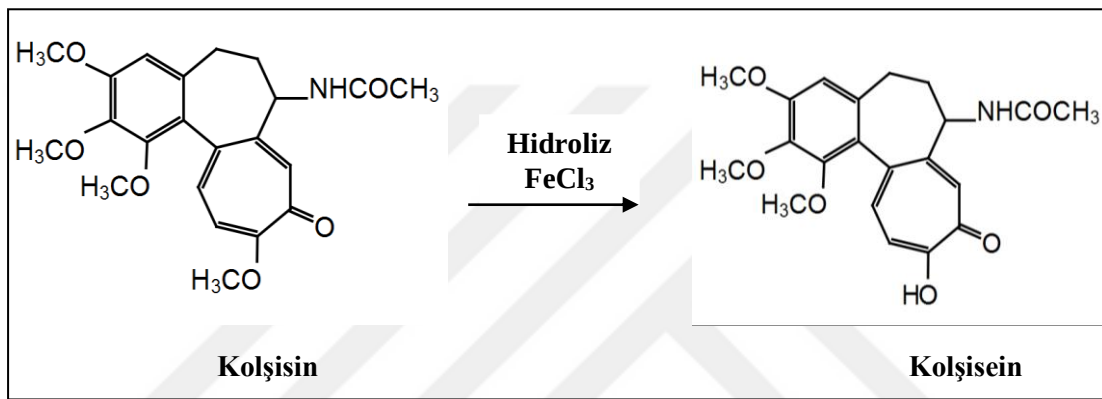
Şekil 2-10: 3-demetiltiyokolşisin



Şekil 2-11: Tiyokolşikozit

2.2.4. *Colchicum* Alkaloitlerinin Teşhis Edilmesi

Tropolon halkasına sahip alkaloidler için Oberlin-Zeisel reaksiyonu pozitif sonuç vermektedir. Reaksiyon seyreltik asit veya alkali varlığında, tropolon halkasındaki metoksil grubunun hidroliz olması ve hidroksil grubuna dönüşmesi ile gerçekleşir. Tropolon alkaloidleri hidroliz sonucu kolşisein türevi bileşikler vermekte; bu bileşiklerin % 5'lik FeCl_3 ile muamelesi sonucu zeytin yeşili renk ortaya çıkmaktadır. Lumi türevler bu reaksiyonu vermemektedir (Hashimoto ve ark. 1988).



Şekil 2-12: Oberlin-Zeisel Reaksiyonu

Tropolon alkaloidleri 254 nm dalga boyundaki UV ışık altında koyu menekşe; 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında ise kolşisin alkaloidleri bej, demekolsin alkaloidleri kahverengi renk vermektedir. Teşhislerinde Dragendroff ve Carr Price belirteçleri de kullanılmakta; turuncu ve sarı renk oluşmaktadır. Fenolik yapı içeren tropolon alkaloidleri kristal haldeyken koyu sarı-turuncu renklidir. 2. ve 3. C atomunda serbest fenolik grup taşıyan tropolon alkaloidleri gün ışığı altında silikajel plakta sarı renge dönüşmektedir (Malichová ve ark. 1979). Tropolon alkaloidleri ışığa karşı dayanıksızdır. Işık tropolon halkasını parçalayıp molekül yapısını bozarak rengin esmerleşmesine neden olmaktadır. Kolşisin, derişik sülfürik asitte çözülürse koyu sarı bir renk meydana gelmektedir. Bu çözeltiye nitrik asit damlatıldığında ise mavi bir renk oluşmaktadır (Tanker M ve Tanker N 1990).

2.2.5. Ülkemizde Yetişen *Colchicum* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal ve Biyoaktivite Çalışmaları

Ülkemizde yetişen *Colchicum* türlerinden elde edilen alkaloidler ve bu türler üzerinde yapılan aktivite çalışmaları sırasıyla Tablo 2-4'te ve Tablo 2-5'te gösterilmiştir.

Tablo 2-4: Ülkemizde Yetişen *Colchicum* Türleri ve İzole Edilen *Colchicum* Alkaloidleri

Tür	İzole edilen <i>Colchicum</i> alkaloidleri	
<i>C. baytopiorum</i> C.D. Brickell	Kolşisin	(Pırıldar 2006)
	2-demetilkolşisin	
	3-demetil-N-formil-N-deasetilkolşisin	
	Demekolsin	
	3-demetilkolşisin	
	Kolşifolin	
	2-demetilkolşifolin	
	2-demetildemekolsin	
<i>C. bivonae</i> Guss.	Kolşisin	(Sütlüpınar 2002; Yeşiltepe 2006)
	Demekolsin	
	2-demetildemekolsin	
	β -lumikolşisin	
	3-demetilkolşisin	
	N-deasetilkolşisin	
	N-deasetil-N-formilkolşisin	
	2-demetilkolşisin	
	2,3-didemetilkolşisin	
	Kolşisilin	
	γ -lumikolşisin	
	O-metilkreysigin	
<i>C. micranthum</i> Boiss.	Kolşifolin	(Toplan 2016)
	Kolşisin	
	N-deasetil-N-formilkolşisin	
	2-Demetilkolşisin	

C. chalcedonicum Azn.	Kolşisin	(Toplan 2016)
	Demekolsin	
	Kolşifolin	
	4-hidroksikolşisin	
	N-deasetil-N-formilkolşisin	
	2-demetilkolşisin	
C. cilicicum (Boiss.) Dammer	Kolşisin	(Sütlüpinar ve ark. 1988)
	2-demetilkolşisin	
	3-demetilkolşisincolchicine	
	Demekolsin	
	2-demetildemekolsin	
	3-demetildemekolsin	
	Kornigerin	
	N-formil-N-deasetilkolşisin	
	N-metil-demekolsin	
	γ ve β -lumikolşisin	
	γ ve β -lumidemekolsin	
	N-etoksikarbonildemekolsin	
C. crocifolium Boiss.	Kolşisin	(Alali ve ark. 2008; 2010)
	Demekolsin	
	N-metildemekolsin	
	3-demetil-N-metildemekolsin	
	3-demetil- β -lumikolşisin	
	N,N-dimetil-N-deasetilkornigerin	
	2-demetilkolşisin	
	N-deasetilkolşisin	
	Kolşisilin	
	β -lumidemekolsin	
	3-demetilkolşisin	
	2-demetil- β -lumikolşisin	
	N,N-dimetil-N-deasetil- β -lumikornigerin	
	İzoandrosimbin	
	Autumnalin	
C. decaisnei Boiss.	3-O-demetil-N-deasetil-N-formil- β - lumikolşisin	(Al-Tel ve ark. 1991)

C. <i>stevenii</i> Kunth	Kolşisin	(Al-Mahmoud ve ark. 2006)
	Kornigerin	
	β -lumikolşisin	
	2-demetilkolşisin	
	İzoandrosimbin	
	O-metilandrosimbin	
C. <i>turcicum</i> Janka	Kolşisin	(Baytop ve ark. 1980; Husek ve ark. 1990)
	Kolşifolin	
	3-demetilkolşisin	
	N-deasetil-N-formilkolşisin	
	2-demetildemekolsin	
	Kornigerin	
	Demekolsin	
	3-demetildemekolsin	
C. <i>kotschy</i> Bornm.	β -Lumikolşisin	(Ondra, Vicar, Simanek, Greenaway ve ark. 1994)
	Kolşisin	
	2-demetilkolşisin	
	Kolşifolin	
	3-demetilkolşisin	
	Demekolsin	
	3-demetildemekolsin	
C. <i>macrophyllum</i> B.L. Burtt.	2-demetildemekolsin	(Ondra, Vicar, Simanek, Indrak ve ark. 1994)
	Demekolsin	
	Kolşisin	
	2-demetilkolşisin	
	Kolşifolin	
	N-formil-Ndeasetilkolşisin	
	3-demetilkolşisin	
	2-demetildemekolsin	
C. <i>szovitsii</i> Fisch. et Mey	3-demetildemekolsin	(Tojo ve ark. 1990)
	Kolşietanamin	
	Autumnalin	
	Kolşietin	
	İzoautumnalin	

<i>C. speciosum</i> Steven	Kolşisin Demekolsin	(Ebrahimi ve ark. 2017)
<i>C. szovitsii</i> Fisch et <i>Mey ssp. szovitsii</i>	Kolşisin 2-demetilkolşisin	(Rocchetti ve ark. 2019)
<i>C. umbrosum</i> Steven	Kolşisin Kolşifolin Kolşisilin Demekolsin 3-demetilkolşisin Kolşikozit N-formil-N-deasetilkolşisin 4-hidroksikolşisin	(Sütlüpinar ve ark. 2015)
<i>C. kurdicum</i> (Bornm.) Stef.	Kolşisin Kolşikozit 2-demetilkolşikozit 2-demetilkolşisin Kolşifolin Demekolsin N-deasetil-N-formilkolşisin 3-demetilkolşisin Kornigerin	(Azadbakht, Davoodi, Hosseinimehr, Keighobadi ve ark. 2020a) (Azadbakht, Davoodi, Hosseinimehr, Emami ve ark. 2020b)
<i>C. triphyllum</i> G. Kuntze	Kolşisin Lumikolşisin 3-demetilkolşisin 3-demetildemekolsin Kornigerin Kolşifolin 2-demetilkolşisin N-formil-N-deasetilkolşisin Demekolsin 2-demetildemekolsin	(Sütlüpinar 2002; Alali ve ark. 2007; Senizza ve ark. 2020)

Tablo 2-5: Ülkemizde Yetişen *Colchicum* Türleri Üzerinde Yapılan Aktivite Çalışmaları

Tür	Aktivite	
<i>C. balansae</i> Planchon	Antioksidan Aktivite	(Demir Uysal ve Görk 2007)
<i>C. umbrosum</i> Steven <i>C. baytopiorum</i> C.D. Brickell	Antitümöral Aktivite	(Dağdeviren 2010; Pırıldar ve ark. 2010)
<i>C. micranthum</i> Boiss. <i>C. chalcedonicum</i> Azn.	Sitotoksik Aktivite	(Toplan 2016)
<i>C. turcicum</i> Janka	Antioksidan Aktivite Antimikrobiyal Aktivite	(Kılıç ve ark. 2014; Özcan 2020)
<i>C. kotschy</i> Bornm.	Antioksidan Aktivite	(Radjabian ve ark. 2015)
<i>C. szovitsii</i> Fisch. et Mey ssp. <i>szovitsii</i>	Antioksidan Aktivite Enzim İnhibitör Aktivite	(Rocchetti ve ark. 2019)
<i>C. szovitsii</i> Fisch. et Mey	Analjezik Aktivite Antimikrobiyal Aktivite Sitotoksik Aktivite	(Heidari ve ark. 2005; Türker ve Usta 2008)
<i>C. umbrosum</i> Steven	Antitümöral Aktivite Antiproliferatif Aktivite	(Dağdeviren 2010; Özsöylemez ve ark. 2018)
<i>C. kurdicum</i> (Bornm.) Stef.	Antileishmanial Aktivite Antiinflamatuvar Aktivite Antioksidan Aktivite Sitotoksik aktivite Hemolitik Aktivite	(Azadbakht, Davoodi, Hosseinimehr, Keighobadi ve ark. 2020a) (Azadbakht, Davoodi, Hosseinimehr, Emami ve ark. 2020b)

C. antepense
C. chlorobasis
C. burtii
C. chalcedonicum
ssp. punctatum
C. baytopiorum
C. dolichantherum
C. micaceum
C. cilicicum
C. crocifolium
C. davisii
C. atticum
C. decaisnei
C. figlalii
C. variegatum
C. heldreichii
C. hirsutum
C. bivonae
C. ignescens
C. inundatum
C. kotschy
C. speciosum
C. lagotum
C. boissieri
C. leptanthum
C. imperatoris-friderici
C. minutum
C. lingulatum
C. szovitsii ssp. szovitsii
C. macrophyllum
C. balansae
C. manissadjanii
C. persicum
C. munzurensense
C. polyphyllum
C. raddeanum
C. sanguicolle
C. umbrosum
C. siehanum
C. turcicum
C. soboliferum
C. paschei
C. serpentinum
C. triphyllum
C. stevenii
C. trigynum

DPPH ile Serbest Radikal
Süpürücü Aktivite

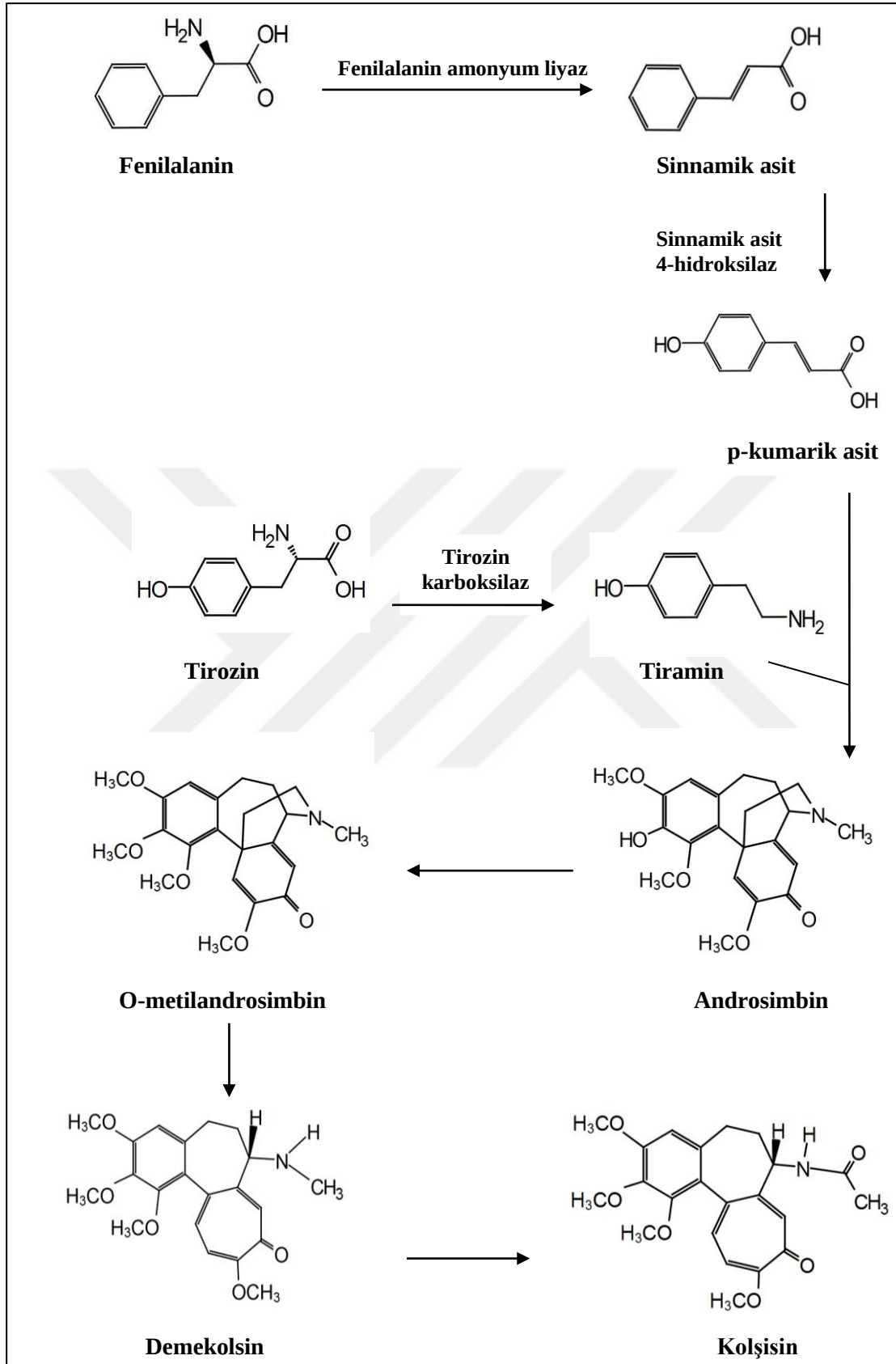
Asetilkolinesteraz
İnhibitör Aktivite

(Sevim ve ark.
2010)

<i>C. speciosum</i> Steven	Antioksidan Aktivite Antimikrobiyal Aktivite Kolinerjik Aktivite	(Basova ve ark. 2006; Ebrahimzadeh ve ark. 2010; Adami ve ark. 2015; Karakaya ve ark. 2022)
<i>C. crocifolium</i>	Sitotoksik Aktivite	(Alali ve ark. 2010)
<i>C. stevenii</i>	Sitotoksik aktivite	(Al-Mahmoud ve ark. 2006)
<i>C. sanguicolle</i>	Antikanser Aktivite Sitotoksik Aktivite Antimikrobiyal Aktivite	(Artun ve ark. 2006; 2016; Özcan ve ark. 2016)
<i>C. triphyllum</i>	Antioksidan Aktivite Enzim İnhibitör Aktivite	(Senizza ve ark. 2020)

2.2.6. *Colchicum* Alkaloitlerinin Biyosentezi

Battersby, Leete ve çalışma arkadaşlarının araştırmaları ile *Colchicum* alkaloitlerinin biyogenezi için ana mekanizma ortaya konmuştur. Buna göre; A halkası ve 5, 6 ve 7 karbon atomları fenilalaninden, tropolon kısmı ise tirozinden türemektedir. İki aminoasidin birleşmesinin sonucu olarak oluşan ara ürün, bir 1-feniletilizokinolin türevidir (Battersby 1967).

Şekil 2-13: *Colchicum* Alkaloitlerinin Biyosentezi

2.2.7. *Colchicum* Alkaloidleri ve Yapı-Aktivite İlişkileri

Kolşisin ve türevlerinin tübülün ile etkileşimi üzerine araştırmalar uzun yıllardır araştırılan bir konu olsa da ilk yapı-aktivite araştırması 1998'de yapılmıştır. Bununla birlikte kolşisinin bağlanma bölgesi 2004 yılında tespit edilmiştir (Downing ve ark. 1998; Ravelli ve ark. 2004). Etkinliklerinin β -tubulinin izomorfik bileşiminden bağımsız olduğunun ortaya çıkmasıyla ve güçlü antimitotik özelliklerinden dolayı, kolşisin ve türevleri potansiyel antikanser ilaçlar olarak önem arz etmektedir. Gerekli yüksek dozlarda spesifik olmayan yüksek toksisitesinden dolayı bu kullanım engellenmektedir. Kolşisinin birçok yeni türevi ve analogu sentezlenmiş ve farklı kanser hücre hatlarına karşı test edilmiştir. Sentetik kolşisinoidler özellikle istenmeyen yan etkilerin ortadan kaldırılması ve bileşiklerin farmakolojik ve farmakokinetik özelliklerinin iyileştirilmesi yönünde olumlu sonuçlar vermektedir (Kurek ve ark. 2018; Gracheva ve ark. 2020).

Kolşisin ve doğal analogları serbest veya alkillenmiş hidroksi gruplarına sahip aromatik altı üyeli bir halka (A halkası), bir asetamido, amino veya alkilamino içeren bir sikloheptadien halkası grubu (B halkası) ve karbonil ve metoksi grupları içeren aromatik yedi üyeli tropolon halkası (C halkası) taşımaktadır (Yusupov ve ark. 1978). Kolşisin molekülünün azotu halka dışında olup bir asetamit oluşturmuştur. Bu asetamit grubu dört adet metoksil grubu içeren benzosikloheptano tropolon halka sistemine bağlı sikloheptana bağlı haldedir. Metoksil gruplarının üçü benzen, biri tropolon halkasına bağlı durumdadır (Tanker M ve Tanker N 1990).

Rasemik kolşisin A. Eschenmoser ve çalışma arkadaşları tarafından 1959 yılında % 0,00006 verim ile 22 aşamada purpurogallinden sentezlenmiştir. (Schreiber ve ark. 1959). 2017 yılında ise Li ve arkadaşları, 2,3,4-trimetoksibenzaldehitten başlayarak 9 adımda % 9 verim ile en yüksek verimdeki enantiyomerik saf kolşisinin sentezini bildirmişlerdir (Chen ve ark 2017). Sadece a S-konfigürasyonlu sisteme sahip bileşikler aktifken; konfigürasyonu a R olan türevler inaktiftir. Rasemik karışımlar ise a S izomerlerden daha düşük aktivite göstermektedir. A halkasının neredeyse her modifikasyonu, tübüline bağlanma aktivitesinde azalmaya neden olurken; B ve C halka modifikasyonları aktiviteyi daha az etkilemektedir (Gracheva ve ark. 2020).

A ve C halkalarının metoksi grupları, sitotoksosite için oldukça önemli olup P-glikoprotein (P-gp) ile etkileşimi etkilememektedir. Bir kolşisinoidin P-gp tarafından tanınması için C-7'de bir nitrojenin (amin/amid) bulunması gereklidir. Bu nedenle daha düşük toksisiteye sahip ve yüksek aktivite gösteren kolşisin analoglarının araştırıldığı birçok çalışma C-7'deki sübstitüentin modifikasyonuna odaklanmıştır (Gracheva ve ark. 2020).

▪ A halkası ve Yapı-Etki İlişkisi:

A halkasındaki sübstitüentler üzerindeki değişiklikler genellikle biyolojik aktivitede bir azalmaya yol açarken; yan etkilerin azalması ile sonuçlanmamaktadır. Kolşisinin A halkasındaki üç metoksi grubu, tübülün bağlanması için çok önemlidir ve halkadaki bir veya daha fazla metoksi grubunun demetilasyonu, antimitotik aktivitenin azalmasına neden olmaktadır (Alali ve ark. 2006; Ghawanmeh ve ark. 2019). Bir çalışmada kolşisinin C-2-O-demetilasyonu ile elde edilen türevlerinin suda çözünürlük ve biyoyararlanımı arttırdıkları; tübülün inhibisyonu aktiviteyi ise önemli ölçüde azalttıkları kaydedilmiştir (Nakagawa-Goto ve ark. 2005).

3. C atomundaki metoksi grubunun bir O-glikozit ile değiştirildiği kolşikozit ve tiyokolşikozit gibi kolşisinin glikozit analogları da türetilmiştir. Bu bileşiklerin kolşisine göre suda çözünürlüklerin fazla olduğu ve antimitotik etki yerine analjezik ve antienflamatuar etki göstererek; romatolojik bozuklukların tedavisinde kas gevşetici olarak kullanıldığı bilinmektedir (Bombardelli ve Fontana 2004).

Kolşisinin 1. C atomundaki metoksi grubunun diğer alkiloksi veya asiloksi gruplarıyla değiştirilmesinin sitotoksitede önemli değişikliklere yol açmadığı; aktiviteyi azalttığı belirtilmektedir (Huzil ve ark. 2010). 4. karbon atomunda farklı sübstitüentlere sahip kolşisin türevlerinin HCT116 insan kolorektal karsinomu hücre hattındaki hücre büyümesini inhibe edici aktivitesi üzerinde yapılan çalışmanın sonucunda 4-florokolşisin ve 4-klorokolşisin'in kolşisinden daha düşük bir toksisite ve daha güçlü bir hücre büyümesini inhibe edici aktivite gösterdiği bulunmuştur (Yasobu ve ark. 2011).

▪ B halkası ve Yapı-Etki İlişkisi:

B halkası da kolşisinoidlerin tübüline bağlanmasında önemli bir rol oynarken halkadaki yapısal değişiklikler biyolojik aktivite azaltılmadan yapılabilmektedir. Özellikle 7. C atomundaki süstitüent çeşitli gruplarla değiştirilerek aktivite korunabilmektedir. B halkası, A ve C halkalarını birbirine bağlayan (kiral) eksen boyunca dihedral açığı etkilemektedir. Bu nedenle B halkası modifiye edilmiş kolşisin analoglarının biyolojik aktivitesi halkanın süstitüentlerine bağlı olarak değişmektedir (Kumar ve ark. 2017; Ghawanmeh ve ark. 2019).

Yapılan bir çalışmada kolşisin üre türevlerinin HT-29, MCF-7, HeLa, HEK-293 hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Neredeyse tüm bileşiklerin nanomolar konsantrasyonlarında bile aktif olduğu; N-fenil halkasının orto pozisyonundaki bir klor atomunun aktiviteyi arttırdığı ortaya konmuştur (Blasco ve ark. 2018). Biyoyararlanımı arttırmak için metoksamin ara ürününün bir dizi indirgeyici şekerle reaksiyona sokulmasıyla suda daha iyi çözünabilen glikozillenmiş türevler sentezlenmiştir. 7. C atomundaki değişiklikler prodrug (ön ilaç) hazırlamak ve polimer taşıyıcılara bağlanmak için etkin bir şekilde kullanılabilir (Ahmed ve ark. 2006).

▪ C halkası ve Yapı-Etki İlişkisi:

A halkası ile karşılaştırıldığında, C halkası yapısal değişikliklere daha toleranslıdır. C halkasında değişiklikler yapılan yüksek biyolojik aktiviteye sahip birçok kolşisinoid bilinmektedir. C halkasının sentetik modifikasyonunun kolay olması kolşisinoidlerin ön ilaç formlarının geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır (Choudhury ve ark. 1983; Ghawanmeh ve ark. 2019). Allokolşisin, N-asetilkolşinol ve metil esteri de kolşisin gibi tübüline yüksek afinite ve birçok tümör hücre tipine karşı güçlü sitotoksik aktivite göstermektedir. Bununla birlikte klinik pratikte kullanımlarını sınırlayan önemli yan etkileri bulunmaktadır (Sitnikov ve Fedorov 2013). Biyolojik olarak aktif kolşinoidlerin oksijen fonksiyonel gruplarından birinin bir flor atomu ile süstitüsüyonu; yüksek metabolik stabiliteye sahip yeni moleküller elde edilmesini sağlayabilmektedir (Shah ve Westwell 2007).

Kolşisinin C halkasının 8. ve 12. konumlarındaki karbon atomuna heterosiklik bir yapının eklenmesi, yapısal konformasyonunu ve kolşisin-tübülün etkileşimini değiştirmektedir (Joncour ve ark. 2007). Tiyokolşisinin bileşiğinin 7. konumdaki C atomunun modifiye edildiği türevlerinin çeşitli türevlerinin önemli biyolojik aktivite sergilediği; izokolşisinin bileşiğinin tübüline karşı afiniteye sahip olmadığı ortaya konmuştur (Bartusik ve ark. 2010). 2020 yılında yapılan bir araştırmada kolşisin-lityum, sodyum, potasyum, magnezyum ve çinko nitrat komplekslerinin biyolojik aktivitesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda sodyum ve magnezyum içeren iki kompleksin yumurtalık kanseri hücreleri (SK-OV-3) üzerinde oldukça yüksek antimitotik aktiviteye; potasyum içeren kompleksin ise orta derecede aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir (Kurek ve ark. 2020).

2.3. Farmakolojik Bölüm

2.3.1. Farmakokinetik

2.3.1.1. Emilim ve Dağılım

Kolşisin difüzyon ile kolayca hücre içine girebilen ve elimine olabilen lipofilik bir moleküldür. Kolşisin ve metabolitleri bağırsak lümenine safra ve bağırsak salgılarıyla girmektedir. Kolşisin jejunum ve ileumda oral uygulamadan sonra hızla emilmekte ve plazmada 0,5 ila 2 saat arasında doruk konsantrasyonlara ulaşmaktadır (Imazio ve Brucato 2021). Lipofilik yapıda olmasına rağmen, kolşisin, sağlıklı gönüllülerde ve yaşlı bireylerde % 24 ila 88 oranında (ortalama % 45) biyoyararlanım göstermektedir. Emilen dozun oranı hastalar arasında önemli ölçüde değişmektedir. Bu değişiklik, kolşisini metabolize eden CYP3A4 enzimi ve P-glikoproteindeki farklılıklardan kaynaklanır. Ayrıca kolşisinin neden olduğu diyare, kusma ve bulantı gibi advers etkiler de ilacın emilimini etkilemektedir (Niel ve Scherrmann 2006). Kolşisinin % 40'ı kan dolaşımında albümine bağlanırken; çok az bir kısmı ise α 1-glikoprotein, γ -globulinler ve lipoproteine bağlanır. Lökosit içi birikime bağlı olarak maksimum antienflamatuar etki 24-48 saat içinde görülür. Kolşisin konsantrasyonu lökositler içerisinde plazmadan çok daha yüksek oranlara ulaşır ve etkisi birkaç gün devam eder (Ebadi 2006; Slobodnick ve ark. 2017; Giovanni ve ark. 2021).

Kolşisin plasentayı geçer ve fetal plazma konsantrasyonları annede görülenin % 15'i kadardır. Kolşisin, anne serumundakilere benzer konsantrasyonlarda (% 10) anne sütüne dağıldığından emziren hastalarda dikkatli olunması önerilir; bebeğin yan etkiler açısından gözlemlenmesi gereklidir (Yang 2010).

2.3.1.2. Metabolizma ve Atılım

Emilen kolşisin, sitokrom CYP3A4 tarafından karaciğerde iki primer metabolite metabolize edilir, bu metabolitlerin plazma konsantrasyonu ana ilacının % 5'i kadardır. Kolşisin, aynı zamanda P-glikoprotein substratıdır. CYP3A4 ve P-glikoprotein farmakokinetik özelliklere doğrudan etki etmekte ve dolayısıyla kolşisinin etkinliğini etkilemektedir. Kolşisin *in vitro* CYP2E1, CYP2A6, CYP1A2, CYP2C8, CYP2C19, CYP2D6 veya CYP3A4 enzimlerini inhibe etmez veya indüklemey (Yang 2010; Rao ve ark. 2019). Kolşisin hepatositlerde CYP3A4 etkisi ile 3 ayrı demetilasyona uğrar ve safraya oradan da duodenuma salgılanır (Yang 2010; Slobodnick ve ark. 2017). Sağlıklı insanlarda renal kolşisin klerensi total klerensin % 10'una karşılık gelen 4L/s olarak; eliminasyon yarı ömrü 14-30 saat aralığında hesaplanmıştır. Kolşisin idrarla glomerüler filtrasyon ve tubuler sekresyon yoluyla böbrekler tarafından doğrudan veya karaciğerdeki metabolizmadan sonra safra yolu ile atılır (Lannoy ve ark. 1994; Niel ve Scherrmann 2006). Oral olarak uygulanan 1 mg kolşisin dozunun % 40-65'i idrarda değişmeden geri kazanılır. P-glikoprotein kolşisinin değişmeyen bir kısmını lümene geri salgılanır ve buradan atılır. Değişmeyen kolşisinin diğer bir bölümü de glomerüler filtrasyon ve proksimal tübül içine doğrudan p-glikoprotein sekresyonu ile sistemik dolaşıma girer ve böbreklerden geçer. Safra ile atılım, karaciğerle atılımın % 20'si kadardır. Özellikle böbrek yetmezliği ve kronik karaciğer hastalığı bulunan hastalar için kreatin klerensinin 25ml/dk'dan daha az olması kolşisin birikimi açısından yüksek risk taşır. Kolşisin tedavisi bırakıldıktan 24-48 saat sonra biyolojik etkilerinin kaybolduğu belirlenmiştir (Nuki 2008).

2.3.2. Farmakodinamik

2.3.2.1. Etki Mekanizması

Kolşisinin etki mekanizmaları günümüze kadar araştırma konusu olarak süregelmiştir. Kolşisinin esas etkisinin hücrenin dinamiğinde rol oynayan mikrotübüller üzerine olduğu 1950'li yıllarda belirlenmiştir (Nuki 2008). Kolşisinin tübülünlere bağlanma kapasitesi, mikrotübüllerin birleşmesini ve polimerizasyonunu inhibe etmesi en önemli terapötik etki mekanizmalarındandır. Mikrotübüller, hücre şeklinin korunması, sitokin ve kemokin salgılanması, hücre göçü, iyon kanallarının ve hücre bölünmesinin düzenlenmesi olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerde yer almaktadır. Kolşisin, mikrotübüllerin polimerize olmasını engelleyerek bu süreçleri bozmaktadır. Metafazda mitotik hücreleri bloke eden kolşisin, antimitotik bir ilaçtır (Leung ve ark. 2015)

Kolşisinin antimitotik, antifibrotik etkiye ve çok sayıda enflamatuar yolağı bloke edici etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Toader 2021). Kolşisin, antiinflamatuvar ve analjezik etkilerini monositler ve nötrofiller tarafından prostaglandinlerin ve lökotrienlerin salınımını azaltarak ve nötrofil agregasyonu, adezyon ve fagositozun inhibisyonu yoluyla ile göstermektedir (Lv ve ark. 2021). Kolşisin inflamatuvar hücrelerin kemotaksisinde; veziküllerin hücre içinde taşınmasında etkilidir. Lökositlerin endotel hücrelere bağlanmasında, monosit ve nötrofillerin iltihaplı dokuya alınmasında etkili olan E-selektin adı verilen adezyon molekülünün ekspresyonunu inhibe edici etkisi bulunmaktadır (Giovanni ve ark. 2021). Ayrıca süperoksitlerin nötrofil ve lökosit üretimini inhibe ederek ve çok sayıda sitokin ve proteinin salınmasını sağlayarak lökosit aracılı enflamatuar aktivite göstermektedir (Slobodnick ve ark. 2017).

Kolşisinin birincil etki mekanizması tübülün mekanizmasının bozulması olsa da, çoklu inflamatuvar yollar üzerindeki etkileri ve yeni açıklanan mekanizmalar NLRP-3 proteininin inhibisyonu, purinerjik reseptörler P2X7 ve P2X2 tarafından aktive edilen por oluşumunun inhibisyonu ve dendritik hücre olgunlaşmasının ve antijen sunumunun uyarılması dahil makrofajlar üzerinde çeşitli inhibitör etkilerinin olduğu belirtilmektedir (Leung ve ark. 2015)

Kolşisinin terapötik kullanımı gut artriti ve ailevi Akdeniz ateşinin ötesine geçerek osteoartrit, perikardit ve ateroskleroza kadar uzanmıştır. Mikrotübüllerin polimerizasyonunu engellemekle beraber enflamasyonu çoklu mekanizmalarla azaltmasıyla Sars-CoV-2 üzerinde kullanılabileceğine dair bilimsel hipotezler mevcuttur (Vitiello ve Ferrara 2021).

2.3.3. Diğer Farmakolojik Özellikler

2.3.3.1. Kullanılış Şekli

Kolşisin, Behçet hastalığı, gut artriti ve akut/kronik Ailesel Akdeniz Ateşi hastalığında ve profilaksisinde kullanılmaktadır. Akut gut artriti tedavisine yetişkinlerde oral olarak 1,2 mg (1-2 draje) kolşisin ile başlanmaktadır. Ağrının geçmediği durumda maksimum 6 mg'a kadar 1 ya da 2 saatte 1 draje olarak idame ettirilebilmektedir. İlk dozdan itibaren 12 saat içerisinde akut etki ile ağrı ve şişliğin azaldığı; 48-72 saat sonra ise semptomların tamamen ortadan kalktığı kaydedilmiştir. Semptomların tekrarını önlemek için daha düşük günlük dozda, günde bir veya iki defa 0,6 mg kullanılabilir. Böbrek yetmezliği (kreatin klerensi 50 mL/dk'nın altı olan) hastalarında, pediatrik ve geriatrik popülasyonda dikkatli kullanılmalı ve doz ayarlanması gerekmektedir (FDA, Colchicine 2018; Pillinger ve Mandell 2020).

2.3.3.2. Gebelik ve Laktasyon Döneminde Kullanım

Kolşisinin plasentayı geçtiği bilinmekle birlikte, ilk kez yüksek dozlara maruz kalan hayvanlarda gösterilen teratogenez ile ilgili endişeler nedeniyle gebelikte kullanımı tartışmalıdır (Indraratna ve ark. 2018). İnsanlarda kullanılan dozun çok daha fazlası ile yapılan iki ayrı çalışmada, 5 mg/kg dozda kolşisin enjekte edilen farelerin yavrularında düşük ve majör malformasyonlar; 10 mg/kg kolşisin dozu enjekte edilen hamile hamsterlerin yavrularında ise yüksek fetal mortalite gözlemlendiği kaydedilmiştir (Ferm 1964; Shoji 1966).

Kolşisin'in gebelikte Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) tedavisinde kullanımına bağlı düşük ve ölü doğumda veya teratojenik etkiye artış gözlemlenmemiştir. Bununla birlikte gebelikte oluşan FMF ataklarında kolşisin kullanımı tavsiye edilmeyip kontrendikedir (Yaşar ve ark. 2014). FDA tarafından gebelik kategorisi C olarak belirlenmiş olup ve ilacın fetüse ve anneye olan yarar-zarar oranı göz önüne alınarak kullanılması gerekmektedir. Kolşisin emzirme döneminde anne sütüne geçtiğinden dolayı ilaç alındıktan en az 12 saat sonra bebek emzirilmelidir (Horta-Baas 2017).

2.3.3.3. Kontrendikasyonları ve İlaç etkileşimleri

Kolşisin ciddi böbrek yetmezliği (glomerüler filtrasyon hızı 15 ml/dk'ın altındaki böbrek fonksiyon bozukluğu) ve karaciğer rahatsızlıkları olan hastalarda, hamilelikte; karaciğer ve böbrek yetmezliğiyle birlikte P-glikoprotein ve/veya CYP3A4 inhibitörü olan ilaçlarla birlikte kullanımda kontrendikedir (Imazio 2015). Kolşisinin plazma konsantrasyonu hem CYP3A4 hem de P-glikoprotein sistemi tarafından düzenlenmektedir. Kolşisin, CYP3A4 veya P-glikoproteini inhibe eden bir ilaçla birlikte kullanıldığında kolşisin konsantrasyonunda sırasıyla iki ila dört kat artış gözlenmektedir (FDA, Colchicine 2009). COVID-19 enfeksiyonunun tedavisi için antiviral olarak kullanılan lopinavir ve ritonavir gibi bazı ilaçlar, P-glikoprotein ve CYP3A4 aktivitesinin modülasyonu yoluyla kolşisin toksisitesi potansiyelini arttırmaktadır (Schlesinger ve ark. 2020).

Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar antihipertansif ve antiaritmik ilaçlar başta olmak üzere birçok kardiyovasküler ilacın CYP3A4 ve/veya P-glikoprotein sistemiyle etkileşime girerek kolşisinin toksisitesini arttırdığını göstermektedir (Schenone ve Menon 2018). Kolşisin ile birlikte kullanım durumlarında, kardiyovasküler ilaç olarak tedavide sıklıkla kullanılan verapamil ve diltiazem etkin maddeleri CYP3A4 enzimini inhibe ederek; kaptopril, losartan, tikagrelor, varfarin, amiodaron, dronedaron, karvedilol ve nikardipin etkin maddeleri ise P-glikoproteinini inhibe ederek ciddi etkileşmelere neden olmaktadır. Verapamil veya diltiazem ile birlikte normal dozlarda kolşisin kullanımı sonucunda kolşisin konsantrasyonunu artmakta ve nöromusküler toksisite riski artmaktadır (Terkeltaub ve ark. 2011; Wessler ve ark. 2013; Chen ve ark. 2017).

Statin grubuna ait olan atorvastatin, simvastatin ve lovastatin etkin maddeleri P-glikoprotein inhibitörü etkilerinden dolayı kolşisinin vücutta birikme ihtimalini ve buna bağlı olarak toksisitesini artıran ilaçlardır. Kolşisin ve statinlerin birlikte kullanımında en sık karşılan advers etki miyopati ve rabdomiyolizdir. Statin grubuna ait ilaçlardan rosuvastatin veya fluvastatin vücutta öncelikli olarak CYP2C9 enzimi ile metabolize olmaktadır. Kolşisin ile etkileşim riski daha az olduğundan kolşisin ile tedavi gören hastalar için öncelikli olarak bu etkin maddelerden birinin tercih edilmesi gerekmektedir (Alaylı ve ark. 2005; Şahin ve ark. 2008).

Klaritromisin, eritromisin, ketokonazol, siklosporin ve greyfurt suyu gibi CYP3A4 ve P-glikoprotein inhibitörleri kandaki kolşisin konsantrasyonunu arttırarak toksisiteye yol açabilmektedirler (Davis ve ark. 2013). Yapılan çalışmalarda güçlü bir CYP3A4 ve P-glikoprotein inhibitörü olan klaritromisin ve antifungal ilaç olan ketokonazol etkin maddelerinin kolşisin maksimum konsantrasyonunu sırasıyla % 230 ve % 100 oranında arttırdığı kaydedilmiştir (Terkeltaub ve ark. 2011).

Makrolid antibiyotikleri ve azol antifungalleri, izoenzim CYP3A4'ü değişen seviyelerde inhibe ederken; rifampisin ise CYP3A4 enzimi indükleyicisi olarak etki göstermektedir. Azitromisin de CYP3A4 inhibitörü olarak etki etmesine rağmen P-glikoprotein üzerinde çok az etki gösterdiğinden dolayı kolşisin ile daha az etkileşme göstermektedir (Davis ve ark. 2013).

2.3.3.4. Advers Etkiler ve Toksisite

Kolşisinin en yaygın yan etkisi (% 23) ishaldir. Gastrointestinal sistem yan etkileri, ilk kez terapötik dozlarda kolşisin kullanmaya başlayan hastalarda en sık görülen yan etkiler olup sıklıkla 24 saat içinde ortaya çıkmaktadır. Kramp, bulantı, ishal, karın ağrısı ve kusma tipik yan etki semptomlarıdır. Ayrıca kolşisinin tek başına veya diğer bazı ilaçlarla (atorvastatin, simvastatin vb. statinler, gemfibrozil, fenofibrate, siklosporin) birlikte kullanıldığında kas ağrısı veya güçsüzlüğü, el ve ayak parmaklarında karıncalanma veya uyuşma gibi yan etkilere de neden olabilmektedir. Bu konuda hastaların bilgilendirilmesi önem arz etmektedir (FDA, Colchicine 2009). Bu etkiler toksisitenin başlangıcını haber verebileceğinden, yan etkiler şiddetliyse doz sınırlayıcı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir (FDA, Colchicine 2018).

Kolşisinin toksisitesi etki mekanizmasının bir sonucudur. Hücrelerin protein düzeninde bozulma, endositoz ve ekzositozda azalma, hücre morfolojisinde değişiklikler, hücresel hareketlilikte azalma ve mitozun durması toksisiteye neden olmaktadır (FDA, Colchicine 2009).

Kolşisinin toksisite potansiyeli uzun yıllardır bilinmekte ve doza bağlı olarak derecesi değişmektedir. Akut kolşisin toksisitesi klinik olarak birbirini izleyen aşamalarla karakterizedir. Başlangıçta beklenen yan etkilerden mide bulantısı, kusma, ishal, karın ağrısı; devam eden süreçte hipovolemi ve lökositoz ile birlikte gastrointestinal mukoza hasarı meydana gelmektedir. Sonraki aşamada kolşisine maruziyet arttıkça miyelosupresyon, yaygın damar içi pıhtılaşma, nöromusküler toksisite, böbrek, karaciğer, dolaşım ve merkezi sinir sistemlerindeki hücrelerde hasar hatta böbrek yetmezliği ve kardiyak kollaps meydana gelebilmektedir. Aşırı birikme veya aşırı doz ile meydana gelebilen bu ciddi yan etkiler tedavinin geçici olarak kesilmesi veya kolşisin dozunun düşürülmesiyle genellikle geri döndürülebilir olmaktadır (Finkelstein ve ark. 2010; Solak ve ark. 2014; Chen 2017).

Kolşisinin düşük terapötik indeksi göz önüne alındığında, ilaç-ilaç etkileşimlerinden kaynaklanan metabolizma değişiklikleri nedeniyle terapötik dozlarda yan etkiler ve hatta ölüm bildirilmiştir (Neuss ve ark. 1986). Akut alımlar için 0,5 mg/kg dozunun aşıldığı durumlarda yüksek ölüm riski bildirilmiştir (Finkelstein ve ark. 2010).

2.3.4. Kolşisinin Tedavideki Etki ve Kullanılışı

Kolşisinin gut, ailesel akdeniz ateşi gibi bilinen endikasyonlarının yanında son yıllarda farklı hastalıklarda önerilen ve onaylanmış endikasyonları Tablo 2-6'da verilmiştir Özellikle karaciğer hastalıkları, cilt hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıklardaki kullanımları önem arz etmektedir (Ben-Chetrit 2019).

Tablo 2-6: Kolşisin Kullanımı için Önerilen ve Onaylanmış Endikasyonlar

Birincil endikasyonlar	Karaciğer hastalıkları	Cilt hastalıkları	Kardiyovasküler hastalıklar
Gut	Primer biliyer siroz	Sedef hastalığı	Akut perikardit
Ailesel Akdeniz ateşi	Alkole bağlı hepatit	Skleroderma	Kronik tekrarlayan perikardit
Behçet hastalığı	Sirozda hepatosellüler karsinomun önlenmesi	Dermatit herpetiformis	Koroner arter hastalığının önlenmesi
Amiloidoz		Büllöz dermatoz	Ameliyat sonrası atriyal fibrilasyonun önlenmesi
Sarkoidoz			

2.3.4.1. Gut Hastalığı

Kolşisinin gut hastalığında kullanımı Trales'li İskender'in Therapeutica adlı çalışmasında belirtilmekte ve 2 bin yıl öncesine (M.S. 550) kadar dayanmaktadır (Thompson 2019). Orta Çağ'da hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılmasına rağmen gastrointestinal yan etkilere ve sitotoksositeye neden olmasından dolayı kullanımı giderek azalmıştır. Gut tedavisindeki kullanımı ilk kez 1618 Londra Farmakopesi'nde geçmektedir. Modern kullanımı 1819'da kabul edilmiş olup 1859'da Garrod tarafından ayrıntılı şekilde açıklanmıştır (Scudamore 1819; Garrod 1876; Thompson 2019).

Gut hastalığı eklemlerin içinde veya çevresinde oluşan urat kristallerinden kaynaklanan eklemlerde ağrı, kızarıklık, sıcaklık ve ödem ile karakterize yaygın bir inflamatuvar artrittir (Gottlieb ve ark. 2021). Ürik asit sağlıklı insanda idrarla atılan normal bir atık ürünü iken gut hastalığı olan kişilerde aşırı ürik asit üretimi ve/veya ürik asitin hızlı şekilde vücuttan atılamaması söz konusudur (McKenzie ve ark. 2021). Monosodyum urat kristalleri eklem içinde yerleşik makrofajları aktive ederek gut atağını başlatmaktadır. Bu durum da inflamasyon cevabı oluşturan IL-1 gibi pro-inflamatuvar araçları serbest bırakmaktadır. Bununla birlikte IL-8 eklem içine yoğun bir nötrofil alımını indüklemekte ve yanıt olarak proinflamatuvar sitokinler, serbest radikaller, proteazlar ve nötrofil hücre dışı tuzaklar (NET'ler) salgılanarak inflamatuvar reaksiyon daha da güçlenmektedir (Paré ve ark. 2020).

Gut atağı genellikle hızlı bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Kolşisin, gut tedavisinde akut atakları tedavi etmek veya önlemek için esas olarak kullanılan bir ilaçtır. 0,5 mg kolşisin terapötik etkiler ortaya çıkana veya yan etkiler gelişene kadar oral olarak saat başı olarak verilebilmektedir (McKenzie ve ark. 2021). Akut alevlenmelerde kolşisin kullanımına ek olarak kronik gutu olan bazı hastalarda profilaktik bir ajan olarak kullanımı da söz konusudur. Allopurinol tedavisine başlayan hastalarda gut atakları profilaksisi için kolşisini değerlendiren plasebo kontrollü randomize bir çalışmada, kolşisin ile tedavi edilen hastalarda daha az ve daha az şiddetli alevlenmeler olduğu kaydedilmiştir (Borstad ve ark. 2004). Psödogut veya kalsiyum pirofosfat kristal artritli olan hastalarda akut alevlenmelerin tedavisi ve gut ataklarının alevlenmesinde profilaktik olarak önerilmektedir. Güncel Avrupa romatizma kılavuzlarına göre, psödogut profilaksisi için 0,5 mg kolşisin ve akut ataklar için 1 mg yükleme dozuyla birlikte veya tek doz olarak günde üç kez 0,5 mg kolşisin reçete edilebilmektedir (Zhang ve ark. 2011; Dasgeb ve ark. 2018).

Gut artritli esas olarak monosodyum ürat kristallerinin vücutta bir dizi inflamasyon sürecini tetiklenmesiyle başlamaktadır. Kolşisin tübülüne bağlanması sayesinde mitoz döngüsündeki iğciklerin işlevini etkileyerek granüositlerde ve diğer hücrelerde depolimerizasyona ve fibriler mikrotübüllerin kaybolmasına sebep olmaktadır. Böylece granüositlerin iltihaplı bölgeye göçü engellenmekte ve granüositlerin metabolik ve fagositik aktivitesi azaltılmaktadır. Bu sayede proinflamatuvar enzimlerin salınımı azaltılmış olmakta ve inflamatuvar yanıtı yol açan döngü bozulmaktadır (Ebadi, 2006). Ayrıca mikrotübül polimerizasyonu inhibisyonu aktivitesi ile gut patogenezinde önemli inflamatuvar yolaklarda yer aldığı bilinen çok sayıda hücre aktivitesini etkilemektedir. Kolşisinin bu aktivitesiyle bağlantılı olarak inflamatuvar süreci olumlu yönde etkilemesi inflamasyon kaynaklı hastaların tedavisinde önemli rol üstlenmesiyle sonuçlanmaktadır (Dalbeth ve ark. 2014).

Monosodyum ürat kristalleri, nod benzeri reseptör protein-3 (NLRP3) inflamasyonunda IL-1 β üretimini aktive ederek gut ve yalancı gut ataklarına neden olmaktadır. Kolşisin, mitokondrinin endoplazmik retikuluma taşınmasını engelleyerek NLRP-3 inflamatuvar aktivasyonunu bozmaktadır (Martinon ve ark. 2006).

Kolşisin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi yoluyla RhoA/Rho efektör kinaz yolunu inhibe ederek kaspaz-1 aktivasyonu ile IL-1 β üretimini bloke etmektedir (Forkosh ve ark. 2020). Nötrofiller tarafından monosodyum urat kristalleri ile indüklenen süperoksit üretimini baskılamaktadır (Chia ve ark. 2008). Kolşisin, NF- κ B sinyal yolağını inhibe etmektedir. Makrofajların ve endotel hücrelerinin yüzeyindeki TNF- α reseptörlerinin sayısını azaltmaktadır. Ayrıca nötrofiller üzerinde L-selektin ekspresyonunu azaltmakta ve endotel hücrelerinin yüzeyinde E-selektin dağılımını değiştirmektedir (Jackman ve ark. 2009; Angelidis ve ark. 2018; O'Herron ve Lafferty 2018).

2.3.4.2. Ailevi Akdeniz Ateşi ve Amiloidoz

Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) MEFV genindeki mutasyonlardan kaynaklanan dünyada en sık görülen kalıtsal otoinflamatuvar hastalıktır (Tufan ve Lachmann 2020). Akdeniz'i çevreleyen popülasyonlar arasında (Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Araplar) yaygın olsa da son yıllarda bu bölge dışındaki ve/veya yakın ülkelerde daha fazla vaka bildirilmiştir (Özen 2018). Hastalığa neden olan 16. kromozomda bulunan MEFV genindeki mutasyon pirin proteinini kodlamaktadır. Apoptoz ve inflamasyonu düzenleyen protein grubuna ait olan pirin proteini granülositler, eosinofiller, monositler ve dendritlerde bulunmaktadır. Mutasyona uğramış pirin, kaspaz-1'in aktivasyonuna ve kontrolsüz interlökin (IL)-1 β 'nin salınmasına neden olmakta ve süreç inflamasyon ile sonuçlanmaktadır (Er ve Hasanoğlu 2021).

FMF esas olarak karında, daha az sıklıkla göğüs ve eklemlerde lokalize olan, ateş ve biyolojik inflamatuvar belirteçlerin yükselmesinin eşlik ettiği akut serozit ataklarla karakterizedir (Georgin-Lavialle ve ark. 2018). 12 saat ile 3 gün arasında değişen, düzelip tekrar başlayan atakların inflamasyon ve ağrı birlikte kendini göstermesi hastalık için tipiktir. Eklemlerde, karında ve göğüste ağrı, eritem atakları vb. bulgular en sık görülen belirtilerdendir (Önder ve Ertan, 2020). Atakların sayısı, sıklığı, şiddeti ve süresi hastalar arasında farklılıklar gösterebilmektedir (Aydın ve ark. 2017).

Genellikle ataklar 1 ila 3 gün sürmekte ve kendiliğinden durmaktadır. Yoğunlukla böbrekleri etkileyen ancak diğer organları da tutabilen amiloidoz gelişimi (vücutta protein yapısında bir madde olan amiloid depolanması durumu) hastalığın ciddi komplikasyonlarından biri olarak bilinmektedir (Georgin-Lavialle ve ark. 2018). 1972 yılından beri hem amiloidoz gelişimini önlemek ve akut atakların sayısını azaltmak amacıyla profilaktik olarak hem de hastalığın tedavisinde kolşisin kullanımı ilk sırada tercih edilmektedir (Goldfinger 1972; Özkan ve ark. 1972; Padeh ve ark. 2019).

Kolşisin, tubulin monomerlerine bağlanarak ve polimer oluşumunu inhibe ederek bir mikrotübül stabilizatörü olarak görev almaktadır (Heilig ve Broz 2018). Böylece pirin proteinindeki aktin hücre iskeletinin yapısını değiştirmekte ve pirin aktivasyonunu azaltmaktadır (El Hasbani ve ark. 2019).

Optimal kolşisin dozu farklı klinik uygulamalara göre değişmekle birlikte çoğu erişkin hastada 0,5 mg/gün dozunda başlanmaktadır. Ateşli atakların sıklığı ve subklinik inflamasyon varlığı kolşisin dozunun artırılması için yeterli endikasyonlardır (Migita ve ark. 2018). Günde 1-2 mg oral kullanımda çoğu hastada atakların sıklığının, yoğunluğunun ve süresinin azaldığı bildirilmiştir (Georgin-Lavialle ve ark. 2018). Kolşisin pediatrik FMF hastalarında bile iyi tolere edilmektedir. Kusma, ishal ve transaminazların geçici yükselmesi gibi gastrointestinal yan etkiler en yaygın olanlarıdır (Migita ve ark. 2018). Kolşisin dozu hastalığın seyrine ve hastanın yan etkilere karşı tolerans durumuna göre ayarlanabilmektedir (Sadri ve ark. 2020).

2.3.4.3. Behçet Hastalığı

Behçet hastalığı ilk kez 1937’de Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından üveit, oral aft ve genital ülserasyonun oluşturduğu üçlü semptomdan oluşan klinik tablo ile tanımlanmıştır (Behçet 1937). Ancak daha sonrasında yapılan çalışmalarla mukokutanöz sistem, kardiyovasküler sistem, kas-iskelet sistemi, gastrointestinal sistem, merkezi sinir sistemi ve pulmoner sistemler dahil olmak üzere çok sayıda vücut sistemini etkileyen klinik belirtiler gösteren inflamatuvar hastalık olduğu kabul edilmiştir (Akkoç 2018). Hastalığın en çok görülen semptomları arasında ağızda ve genital bölgede tekrarlayan aft, yaralar, göz lezyonları ve cilt lezyonları bulunmaktadır (Gönül ve ark. 2019).

Behçet hastalığının genetik olarak yatkın bireylerde bulaşıcı veya çevresel faktörler tarafından tetiklenen bir otoimmün süreçten kaynaklandığı düşünülmektedir. HLA-B51 aleli hastalık için genetik olarak en güçlü ilişkili risk faktörü; *Herpes simplex-1* virüsü ve *Streptococcus* bakterisi ise olası çevresel tetikleyiciler olarak kabul edilmiştir. Bunun yanında T hücre homeostazının bozulması da patogeneizde rol oynamaktadır. Ancak hem genetik etki hem de inflamatuvar süreçlerle hastalık arasındaki ilişkinin ortaya konulması amacıyla yapılan çalışmalara rağmen mekanizma hala tam olarak anlaşılmamıştır (van der Houwen ve ark. 2022). Bu nedenle hastalığın farklı etki mekanizmalarına göre çeşitli tedaviler önerilmiştir (Greco ve ark. 2018).

Behçet hastalığının tedavisi, organ tutulumunun tipi ve ciddiyetine, hastanın yaşına, hastanın cinsiyetine ve hastalık süresine göre her hastaya göre bireysel olarak yapılmaktadır. Kolşisin, endotel fonksiyonu üzerindeki etkileri ve antifibrotik aktivitesi sayesinde hastalık semptomlarından oral/genital mukokutanöz ülser ve eklem tutulumu durumlarında oral olarak günde 1-2 mg dozda kullanılmaktadır (Rodríguez-Carrio ve ark. 2021). Kolşisinin tek başına yeterli olmadığı durumlarda kortikosteroidler veya azatioprin, talidomid, apremilast, anti-TNF ajanlar gibi immünosupresif ve immünomodülatör ajanlar reçete edilebilmektedir (Yazıcı ve ark. 2018).

2.3.5. Kolşisinin Diğer Hastalıklar Üzerindeki Etki ve Kullanılışı

Kolşisinin tübülün mekanizması üzerindeki etkileri ve güçlü antiinflamatuvar etkisi; inflamatuvar mekanizma ile ilişkili olan ikincil hastalıkların tedavisinde de kullanılmasını sağlamaktadır (Robinson ve ark. 2021).

2.3.5.1. Kardiyovasküler Hastalıklar

Akut ve tekrarlayan perikardit, akut göğüs ağrısı ile ortaya çıkan perikardın inflamasyonundan kaynaklanan bir hastalıktır (Andreis ve ark. 2021). Akut perikarditte kolşisinin kullanımı ile ilgili çok sayıda randomize kontrollü çalışma bulunmaktadır (Imazio ve ark. 2013; 2016; Sambola ve ark. 2019). Yapılan çalışmaların sonucunda kolşisin, akut ve tekrarlayan perikardit tedavisinde konvansiyonel tedavinin yanında birinci basamak tedavi seçeneği olarak belirlenmiştir (Lazaros ve ark. 2018).

1980’li yıllarda kolşisinin kardiyovasküler hastalıklar için kullanımı sadece perikardit ile sınırlıyken yayınlanan randomize klinik çalışma raporları sonuçlarıyla birlikte diğer kardiyovasküler hastalıklarda da kullanıma potansiyeli ortaya konmuştur (Guindo ve ark. 1990). Kolşisinin ateroskleroz, perikardit ve atriyal fibrilasyondaki rolüne ilişkin araştırmalar, kardiyovasküler hastalıklarda inflamasyonun önemine vurgu yapmaktadır (Thompson 2019). Akut koroner sendromları veya stabil koroner hastalığı takiben statinler ve antiplatelet ajanlar kullanan hastaların tedavisine düşük doz kolşisin eklenmesi, miyokard enfarktüsü, inme ve kardiyovasküler ölüm gibi majör kardiyovasküler olayların riskini azaltmaktadır (Schattner 2021).

Ateroskleroz, kronik bir inflamatuvar aktivite ile karakterize bir hastalıktır. Aterosklerotik plak oluşumunun erken safhasında vasküler duvar içine lökositler toplanmakta ve devam eden süreçte proinflamatuvar sitokinler ve matris metalloproteinazlar artmaktadır (Ceconi ve ark. 2021). Ayrıca ateroskleroz, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, trombositler, nötrofiller, makrofajlar, mast hücreleri ve T hücreleri dahil olmak üzere farklı hücreler arasındaki etkileşimlerden de inflamasyon açısından etkilenmektedir (Bäck ve ark. 2019). Kolşisin, proinflamatuvar makrofajlarda matris metalloproteinaz ve TNF- α gibi birçok inflamatuvar mediatör için gerekli olan hücresel yapıyı bozmaktadır. NLRP3 mediatörlerini engelleyerek tehlike sinyallerine yanıt olarak oluşan interlökin 1 β (IL-1 β) ve interlökin 6 (IL-6) vb. bir dizi interlökin salınımını azaltmaktadır. Endotel hücrelerinde IL-1 β üretimini ve nötrofil adezyonu için gereken E-selektin ekspresyonunu inhibe etmektedir. Ayrıca kolşisin, kolesterol kristalleri tarafından indüklenen, hasara yanıtta aracılık etmede önemli rolü olan mast hücreleri ve T hücrelerinin etkilerini azaltmakta ve aterotrombozu tetikleyebilen trombosit-lökosit etkileşimlerini bozabilmektedir. Kolşisin hem inflamasyon mediatörlerinin etkinliğini azaltarak hem de inflamatuvar sinyallerin baskılanmasında rol oynayan antiinflamatuvar sitokin ve makrofajların miktarını artırarak da inflamatuvar hasarın derecesini sınırlayabilmektedir (Nidorf ve Thompson 2019; Kurup ve ark. 2021). Kolşisinin inflamasyonu azaltan önemli bir etkin madde olduğu çeşitli klinik araştırmalarla da ortaya konmuştur. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda koroner arter hastalığı olan hastalarda kardiyovasküler sonuçları ciddi derecede iyileştirdiği ve aterotrombotik olayların önlenmesinde önemli bir rolü olduğu belirtilmektedir (Banach ve Penson 2021; Bouabdallaoui ve Tardif 2022).

2.3.5.2. Diyabet

Diyabet ve koroner arter hastalığı olan hastaların normal glukoz seviyelerine rağmen diğer kardiyovasküler sorunlar açısından risk altında oldukları bilinmektedir (Reaven ve ark. 2019). Diyabet hastalığı ve kardiyovasküler hastalıkların seyrinde karşılaşılan patogenez ve klinik komplikasyonlar, çoklu inflamatuvar kemokinlere ve proinflamatuvar genlerin artan aktivitesi ile oldukça ilgili bulunmuştur. Enflamasyon, diyabetli hastalarda aterosklerotik sürecin potansiyel mekanizması olarak düşünülmektedir. Diyabetli ve aynı zamanda koroner arter hastası kişiler ile diyabeti olmayan koroner arter hastası olan kişiler üzerinde kolşisin kullanımı ile ilgili yapılan randomize klinik çalışmaların bir değerlendirildiği başka bir çalışmada önemli sonuçlara ulaşılmıştır. Sonuçlara göre kolşisin, diyabetik ve diyabetik olmayan koroner arter hastası olan kişilerdeki advers kardiyovasküler olayların insidansını azaltmaktadır (Kuzemczak ve ark. 2021).

Diyabetik sıçan modelinde yapılan bir çalışmada kolşisinin böbreklerdeki inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı gözlemlenmiş ve diyabet tedavisinde renoprotektif olarak kullanılabileceği kaydedilmiştir (Li ve ark. 2009).

2.3.5.3. Covid-19

Covid-19, Aralık 2019'da Wuhan/Çin'de deniz ürünlerinin satıldığı bir pazarda görülen bir hastalıktır. Hastalık etkeni, SARS koronavirüs ailesine ait yeni bir solunum virüsü olan şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü olarak (Sars-CoV-2) belirlenmiştir. Hastalık tüm dünyaya hızla yayılarak ve çok sayıda ölüme neden olarak, Dünya Sağlık Örgütü, Covid-19 hastalığını 12 Mart 2020'de pandemi olarak kabul edilmiştir (Ciotti ve ark. 2020). Sars-CoV-2, koronavirüs ailesine ait tek sarmallı bir RNA virüsüdür. Virüs, S proteininin S₁ alt biriminde yer alan reseptör bağlama alanı aracılığıyla konakçının hücrelerini etkilemektedir. Bu reseptör, konakçının hücre membranında ve damarlar, kalp, böbrek gibi organ ve bazı dokuların endotel hücrelerinde bulunan reseptör “Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2” ye (ACE2) bağlanıp solunum sistemi hücrelerini istila edebilmektedir (Drosos ve ark. 2022).

Covid-19 hastalığının semptomları arasında öksürük, nefes darlığı, kas ve baş ağrısı, ateş, boğaz ve göğüs ağrısı, miyalji, artralji gibi çeşitli semptomlar bulunmaktadır (Weng ve ark. 2021). Tedavide antiviraller, antibiyotikler, antimalaryal, antihelmintik ve antiprotozoal ajanlar, immünomodülatörler, anjiyotensin II reseptör blokerleri (losartan), bradikinin B₂ reseptör antagonistleri, kortikosteroidler, antiinflamatuvar ajanlar, H₂ reseptör antagonistleri ve antikoagülan ilaçlar denenmekte ve sonuçlara göre tedavi protokollerine alınarak kullanılmaktadır (Tarighi ve ark. 2021).

Sars-CoV-2 enfeksiyonunun immün sistem üzerindeki etkileri nedeniyle kolşisinin iyi bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir (Parra-Medina ve ark. 2020). Kolşisin-tübülün kompleksi, Sars-CoV-2 girişi, taşınması ve replikasyonu için gerekli olan mikrotübülleri etkilemektedir (Schlesinger ve ark. 2020). Kolşisinin nötrofiller ve monositler gibi enflamatuvar hücrelerin kemotaksisi, endozomlar ve eksozomlar gibi veziküllerin hücre içi taşınması; E-selektin ekspresyonu, monosit ve nötrofillerin iltihaplı dokuya alınması vb. inflamasyon süreçleri üzerine önemli etkileri bulunmaktadır (Parra-Medina ve ark. 2020).

Covid-19'lu 202 hasta üzerinde yapılan klinik bir çalışmada, 15 günlük standart bakım uygulanan (12 günlük 1 mg kolşisin ve ardından 3 günlük 0,5 mg kolşisin) randomize hastadan çalışmayı tamamlayan 153 hastanın 14. gününde yapılan göğüs BT değerlendirmesinde kolşisin standart bakım alan hastalarda % 31,94 oranında daha iyi bir klinik tablo gözleendiği belirlenmiştir. Etkinliği ve güvenilirliğini gösteren çok sayıda kanıt göz önüne alındığında, kolşisin Covid-19 hastalığı için umut verici olarak değerlendirilmektedir (Pourdowlat ve ark. 2022).

2.3.5.4. Cilt Hastalıkları

Kolşisinin gut, ailesel Akdeniz ateşi ve perikardit gibi çeşitli hastalıklarda kullanımının yanında son yıllarda kronik ürtiker, kutanöz vaskülit ve sedef hastalığı gibi dermatolojik endikasyonlarda da antienflamatuvar ajan olarak kullanıldığı belirlenmiştir (Robinson ve Chan 2018). Nötrofiller üzerindeki etkisi, diğer immün sistem hücreleri ve sitokin yolları üzerindeki etkisi, kolşisini cilt hastalıkları için etkili kılmaktadır (Sardana ve ark. 2020).

Sedef hastalığı, daha çok dirsek, diz ve sırt bölgesini etkileyen ancak tüm vücut bölgelerine de yayılabilen eritemli-skuamöz plaklarla karakterize kronik inflamatuvar cilt hastalığıdır. Onaylanmış tedavi seçenekleri arasında topikal kortikosteroidler, D vitamini türevleri ile metotreksat ve siklosporin gibi immünosupresif ilaçlar bulunmaktadır. Ancak 1980'li yılların başında topikal ve/veya sistemik kolşisin tedavisi önerilmeye başlanmıştır (Dastoli ve ark. 2022).

Yapılan bir çalışmada 2 ila 4 ay boyunca kilogramları başına günde 0,02 mg kolşisin ile tedavi edilen sedef hastalarının cilt lezyonlarında iyileşme görüldüğü belirtilmiştir (Wahba ve Cohen 1980). Topikal olarak günde bir kez uygulanan % 1 oranında kolşisin içeren hidrofilik merhem 12 sedef hastası üzerindeki etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada, inatçı psoriatik plakların önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Kaidbey ve ark. 1975).

Kolşisinin püstüler ve palmoplantar psoriasis gibi tedavisi zor olan sedef hastalığı tiplerinde daha etkili olduğu kaydedilmiştir (Zachariae ve ark. 1982). Palmoplantar püstülozis, sedef hastalığı ile ilişkili olan kronik püstüler dermatoz tipidir. 32 palmoplantar püstülozis hastasına üzerinde 2-8 hafta, 1-2 mg/gün kolşisin tedavisi uygulanan bir çalışmada 1 hasta dışında diğer hastaların tümünde kısmi ya da tam iyileşme görüldüğü saptanmıştır (Mori ve ark. 1976).

Kronik ürtiker, 6 haftadan daha uzun süren çeşitli sebeplerden kaynaklanan ve ciltte meydana gelen reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan kaşıntı, kabarıklık ve kızarıklık lekeleriyle kendini gösteren bir deri rahatsızlığıdır (Zuberbier ve ark. 2014). Antihistaminik ilaçlar tedavide etkisiz kalmaktadır. İmmünosupresanlar yan etkileri sebebiyle tedavide ikinci seçenek olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle hastalığın tedavisinde daha güvenli ve etkili ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır (Holm ve ark. 2018). Kolşisinin kronik ürtikerdeki etkisinin araştırıldığı 36 hastayı içeren retrospektif bir çalışmada, 15 hastanın tedaviye tam yanıt verdiği belirlenmiştir (Pho ve ark. 2011).

Kutanöz vaskülit, dermal kan damarı duvarlarını etkileyen inflamatuvar bir hastalıktır. Kan damarlarının inflamasyonu sonucundaki klinik tablo, damarların konumuna ve boyutuna bağlı olarak geniş semptom yelpazesi (purpurik lezyonlar, hemorajik veziküller/büller, nekrotik lezyonlar, ağrılı ülserler ve kangren vb.) gösterebilmektedir (Frumholtz ve ark. 2021).

Tedavide ilk seçenek kortikosteroidler olarak belirlense de hastalığın ciddi komplikasyonları karşısında uzun vadede yeterli olmadığı saptanmış ve kolşisin, dapson, azatioprin ve hidroklorokin etkin maddelerinin etkinliği değerlendirilmiştir. Kolşisinin günde iki kez 0,6 mg dozunda kullanımının, birkaç vaka serisinde cilt ve eklem semptomları için olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir. Ancak yine de çok sayıda randomize çalışmayı içeren ek araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Callen 1985; Micheletti ve Pagnoux 2020).

2.3.5.5. Alzheimer Hastalığı

Colchicum cinsine ait bazı türlerin tohum ve yumru metanol ekstratlarının Alzheimer hastalığı ile ilişkili enzimler olan asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibisyonunun değerlendirildiği bir çalışmada; *C. variegatum* L. türünün metanollü ekstresinin orta derecede asetilkolinesteraz aktivite, *C. crocifolium* Boiss. ve *C. variegatum* L. türlerinin ise butirilkolinesteraz aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Sevim ve ark. 2010).

2.4. Kanser

Kanser, kötü klinik prognozlu hücrenin kontrolsüz büyümesine yol açan multigenetik ve multiselüler bir hastalıktır (Baskar ve ark. 2012). Tütün ve alkol kullanımı, obezite, enfeksiyonlar, beslenme şekli, çevre kirliliği, genetik yatkınlık ve radyasyon gibi çeşitli faktörler kanser oluşumuna neden olabilmektedir (Blackadar 2016). Akciğer, kolorektal, mide, karaciğer, meme ve pankreas kanseri en yaygın görülen kanser tiplerinden olmakla birlikte 200'den fazla kanser türü tespit edilmiştir (Bajdik ve ark. 2006; Bray ve ark. 2018). Kanser tedavisinde güncel olarak cerrahi operasyon, kemoterapi, immunoterapi ve radyoterapi kullanılmaktadır (Sudhakar 2009).

Malign hücreleri ve dokuları tedavi etmek için kullanılan kimyasallar antikanser ajanlar olarak bilinmekte olup kanser hücreleri ve doku büyümesini kontrol etmek amacıyla çeşitli doğal, yarı sentetik ve sentetik bileşikler geliştirilmiştir (Khazir ve ark. 2014). Bu maddeler, alkilleyici bileşikler (siklofosfamid), antimetabolitler (metotreksat), karsinolitik antibiyotikler (doksorubisin), hormonal ajanlar ve doğal ürünler (kolşisin, paklitaksel, podofilotoksin) olarak sınıflandırılabilir. Ancak mevcut ilaçların şiddetli ağrı, mide bulantısı, kusma, kemik iliği toksisitesi, anemi ve kısırlık vb. gibi ciddi yan etkilere sebep olması araştırmacıları daha seçici ve güçlü antikanser ajanlar keşfetmeye yönlendirmektedir (Silvis 2001).

2.4.1. Kanser Tedavisinde Yer Alan Bitkisel Kökenli İlaçların Etki Mekanizmaları

Antikanser ilaçları temel olarak çeşitli etki alanlarını bloke ederek ve çeşitli enzimlerin salınımını engelleyerek farklı mekanizmalarla hücre bölünmesini durdurmaktadır. Antikanser bitkisel ajanların mekanizmaları incelendiğinde tübülün ile ilişkili olanlar ve olmayanlar olarak iki başlık altında sınıflandırılabilir (Buzun ve ark. 2020).

Antiproliferatif ve proapoptotik etkilerinden dolayı kurkumin, berberin, kersetin ve daha çok sayıda fitokimyasal bileşiğin kansere karşı kullanıma potansiyelleri değerlendirilmiştir (Kashyap ve ark. 2018; Pucci ve ark. 2019; George ve Abrahamse 2020). Antienflamatuar ve kemopreventif etkilere sahip, *Curcuma longa* L. rizomlarından elde edilen polifenolik bir bileşik olan kurkuminin, beyin, akciğer, lösemi, pankreas ve hepatoselüler karsinom gibi farklı kanser türlerinde normal hücrelere etki etmeden sitotoksik aktivite gösterdiği belirtilmektedir (Perrone ve ark. 2015).

Polifenolik flavonoid olan kersetin molekülünün hücresel reseptörler ve sinyal yolları üzerine etki göstererek akciğer, karaciğer, prostat, kolon ve meme kanserleri gibi çeşitli tümörlerin tedavisinde etkili olduğu kaydedilmiştir (Shih ve ark. 2000; Liu ve ark. 2017)

Berberin, *Berberis* türlerinden elde edilen bir alkaloid bileşiği olup farklı tümörlere karşı etkili olduğu ve birçok sinyal yolunu modüle eden bir kemopreventif ajan olarak hareket ettiği belirtilmektedir (Farooqi ve ark. 2019; Pucci ve ark. 2019).

2.4.1.1. Tübülün ile İlişkili Olmayan Antikanser Etki Mekanizması

Tübülünle ilişkili olmayan bileşiklerin kanser hücrelerinin bölünmesini kontrol etmedeki rolleri tübülünle etkileşenlerden farklıdır. Hücre bölünmesine aktif olarak katılan çeşitli enzimler ve genler bulunmaktadır. Bir enzimin aşırı üretimi ve bir genin aşırı ekspresyonu, kontrolsüz hücre bölünmesinin oluşmasına yol açmaktadır. Bunun engellenmesi ve kanser hücresi proliferasyonunu kontrol etmek için çeşitli bileşiklerin sentezlenmesine ihtiyaç duyulmuştur (Lopez-Saez ve ark. 1998). Kinaz inhibitörleri, fosfataz inhibitörleri, proteozom inhibitörleri, topoizomeraaz inhibitörleri, aktin inhibitörleri ve kinesin inhibitörleri bu gruptaki bileşiklerdendir (Naaz ve ark. 2019).

2.4.1.2. Tübülün ile İlişkili Antikanser Etki Mekanizması

Antikanser etkilerini mikrotübüllerin polimerizasyon ve depolimerizasyonunun dinamik dengesine müdahale ederek gösteren ilaçlar tübülün etkileşimcileri olarak isimlendirilmekte; tübülün stabilizasyonu veya destabilizasyonu yoluyla etki gösterenler olarak iki grupta incelenmektedir. Temel olarak hedefleri mikrotübüllerin işlevlerini göstermesini ve mitoz hücre bölünmesini engellemek, dolayısıyla hücreyi apoptoza uğratmaktır (Mukhtar ve ark. 2014). İlaçların tübülüne bağlanarak hücre bölünmesinin inhibisyonuna neden olduğu çeşitli bağlanma alanları bulunmaktadır. Bir ilacın mikrotübüle bağlanma yeteneği, tübülündeki ve mikrotübüldeki spesifik bağlanma bölgesinin konumuna bağlıdır (Zhou ve ark. 2011). Kolşisin, vinka ve taksol bağlanma alanı olmak üzere temel olarak üç ana bağlanma bölgesi rapor edilmiştir. Kolşisin ve vinka bağlama alanı polimerizasyon inhibitörleri kontrolünde, taksol bağlama alanı ise depolimerizasyon inhibitörleri kontrolünde yer almaktadır (Naaz ve ark. 2019).

Mikrotübüller, ökaryotik hücre iskeletinin ana bileşenleri olup polimerizasyon ve depolimerizasyon aşamaları arasında birbirine dönüşen α ve β -tübülün heterodimerlerinden oluşmaktadır. Hücre şeklinin ve hücre hareketliliğinin korunması, mitoz sırasında doğru kromozom ayrımı ve interfazda makromoleküllerin ve organellerin hücre içi taşınması gibi birçok önemli hücresel aktivitenin merkezinde görev almaktadır. Mitoz aşamasında ve interfaz aşamasında hücresel işlevlerde oynadığı önemli roller, mikrotübülleri önemli antikanser ilaç hedefleri haline getirmektedir (Goodson ve Jonasson 2018).

Mikrotübül hedefleme ajanları mikrotübüllerin hücre içi işleyişlerini ve/veya interfazda hücre sinyal olaylarını bozarak kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmektedir. Böylece hücre bölünmesi tamamlanamamakta ve hücre apoptozla sonuçlanan bir sürece girmektedir (Čermák ve ark. 2020).

Mikrotübül stabilize edici ajanlar (depolimerizasyon inhibitörleri), polimerizasyon reaksiyonunu uyaran mikrotübül lümeninin iç yüzeyindeki β -tübüline bağlanarak mikrotübüllerin tübüllere depolimerizasyonunu inhibe etmektedir. Polimerizasyon durumunun devamı ile mikrotübül polimerinin kütlesinde artış meydana gelmekte ve işlevini yerine getirememektedir. Mikrotübül destabilize edici ajanlar (polimerizasyon inhibitörleri) ise, mevcut mikrotübülleri depolimerize eder ve/veya tübülün heterodimerlerinin polimer oluşturmalarını önlemektedir. Paklitaksel mikrotübül stabilize edici ajan olarak; kolşisin, podofilotoksin, Vinca alkaloidleri ve kombrestatinler ise mikrotübül destabilize edici ajan olarak etki göstermektedir (Mishra 2011; Stanton ve ark. 2011).

2.4.2. Kanser Tedavisinde Yer Alan Bitkisel Kökenli Maddeler

2.4.2.1. Kolşisin

Mitoz aktivitesinin önemli derecede artması kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerindendir. Mikrotübüller, mitoz sürecindeki rollerinden dolayı antikanser ilaçlar için hedef olarak görülmektedir (Duan ve ark. 2019; Cocco ve ark. 2010). Kolşisinin tübüline bağlanarak mikrotübüllerin polimerizasyonunu engellemesi ve mitokondriyal membranın voltaja bağlı anyon kanallarını inhibe ederek kanser hücrelerindeki mitokondriyal metabolizmayı değiştirmesi antikanser etkili bileşik olarak değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır (Maldonado ve ark. 2010; Stanton ve ark. 2011).

Yapılan bir çalışmada kolşisinin PC3 prostat kanserine karşı antiproliferatif aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda kolşisinin G2/M fazında hücre döngüsünü durdurarak, DNA hasarını indükleyerek, mitokondriyal membran potansiyelini azaltarak ve oksidatif stresi artırarak apoptozu arttırdığı; belirgin sitotoksik aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Ergül ve Bakar-Ateş 2021).

Viral hepatit ile ilişkili sirozu olan hastalarda kolşisinin etkisinin araştırıldığı retrospektif bir kohort çalışmasında, uzun süreli kolşisin uygulamasının hepatoselüler karsinom gelişimini engelleyebileceği kaydedilmiştir (Arrieta ve ark. 2006). Klinik olarak kabul edilebilir kolşisin konsantrasyonlarının hepatoselüler karsinomu çeşitli antiproliferatif mekanizmalarla önlediği ve palyatif tedavi için iyi bir potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir (Lin ve ark. 2013).

2.4.2.2. Paklitaksel

Taksolün yaygın kullanılan ismi paklitakseldir. İlk kez *Taxus brevifolia* ağacından elde edilen sekonder metabolittir (Swamy ve Vasamsetti 2022). Taxol®, 1998 itibarıyla FDA tarafından potansiyel antikanser ilacı olarak onaylanmış ve o dönemden beri yaygın olarak kullanılan bir ilaç haline gelmiştir. Paklitakselin meme, yumurtalık, akciğer kanseri ve Kaposi sarkomunun tedavisinde kullanımı onaylanmıştır (Gallego-Jara ve ark. 2020). Paklitaksel yumurtalık kanserinin tedavisinde sisplatin veya karboplatin ile birlikte kombine halde kullanılmaktadır (Smith ve ark. 2022). DNA veya RNA hasarı oluşturan çoğu antitümör ilacın aksine taksol, tübüline bağlanarak ve mikrotübüllerin parçalanmasını engelleyerek (mikrotübül stabilizatörü) hücrel ölümüne neden olmaktadır. Bu özelliğinden dolayı mikrotübül hedefleme ajanlarından biri olarak bilinmektedir. Mikrotübül hedefleme ajanları, paklitaksel gibi mikrotübül stabilize edici ajanlar ve mikrotübüllerin depolarizasyonu için α/β tübüline bağlanan vinka alkaloidleri gibi destabilize edici ajanlar olarak sınıflandırılabilir (Gallego-Jara ve ark. 2020; Lim ve ark. 2022; Smith ve ark. 2022).

2.4.2.3. Vinca alkaloidleri

Vinca alkaloidleri *Catharantus roseus* (*Vinca rosae*) türünden doğal olarak elde edilmektedir. İki Kanadalı bilim adamı Robert Noble ve Charles Beer tarafından 1950’de bulunmuştur. Bitkinin antikanser etkiden sorumlu kısımları yaprak ve gövdeleridir (Taher ve ark. 2017). Vinca alkaloidleri, yaygın olarak görülen kanserler arasında olan meme kanseri ve akciğer kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılan ajanlardan olup yumurtalık, mesane, prostat kanseri ve lenfomada kullanımı bulunmaktadır (Dangquan ve Kanakkanthara 2020; González-Burgos ve Gómez-Serranillos 2021).

Vinca alkaloidleri, bitkisel kaynaklı mikrotübül hedefleme ajanlarından biri olup iğ ipliklerinde bulunan tubulin proteinlerine bağlanarak mikrotübüllerin polimerizasyonunu önleyen böylece hücrenin mitoz bölünme döngüsüne etki ederek kanser hücrelerinin daha fazla çoğalmasını engelleyen sitotoksik ilaçlardır (Martino ve ark. 2018). Farklı etki mekanizmaları nedeniyle Vinca alkaloidleri 50 yılı aşkın bir süredir kombine küratif veya palyatif kemoterapilerde kullanılmaktadır (Dinte ve Tache 2021).

Klinik kullanımda öneme sahip vinblastin, vinorelbin, vinkristin, vindesin olmak üzere 4 ana Vinca alkaloidi bulunmaktadır (Taher ve ark. 2017). Vinorelbin (5'-nor-vinca-alkaloid) ve vinflunin (bis-florlanmış bir vinorelbin türevi) dahil olmak üzere yarı sentetik analoglar geliştirilmiştir (González-Burgos ve Gómez-Serranillos 2021).

2.4.2.4. Kamptotesin

Kamptotesin, *Camptotheca acuminata* ağacının kabuklarından 1966'da Monroe E. Wall tarafından izole edilen kinolin yapısındaki doğal bir alkaloiddir (Martino ve ark. 2017; Wen ve ark. 2017). Kamptotesin, meme, yumurtalık, kolon, akciğer ve mide kanserleri gibi geniş yelpazeye sahip kanser türlerine karşı antitümör aktivitesi gösteren güçlü bir antikanser ilaçtır (Behera ve Padhi 2020). Kamptotesinin suda çözünebilen yarı sentetik türevleri topotekan ve irinotekan bileşikleridir. Bu iki antikanser ilaç FDA tarafından onaylanmıştır ve dünya çapında kullanılmaktadır. İrinotekan, yaygın olarak kolorektal ve mide kanserleri için; topotekan ise yumurtalık, rahim ağzı ve küçük hücreli akciğer kanserleri için reçete edilmektedir (Kızısar ve ark. 2016; Marzi ve ark. 2018). Kamptotesin antikanser aktivitesini, hücre içi DNA enzimi topoizomera z I'i inhibe ederek göstermektedir (Ghanbari-Movahed ve ark. 2021). Topoizomera zların DNA replikasyonu, transkripsiyon, rekombinasyon ve onarımda önemli rolleri bulunmaktadır. DNA topoizomera z enzimleri, transkripsiyon, replikasyon ve rekombinasyon gibi DNA heliksinin açılması gerektiği olaylarda; DNA'nın yapısında geçici kırıklar oluşturarak transkripsiyon ve replikasyon gibi işlemlerin gerçekleşmesini sağlamaktadır (Çevik 2020). DNA topoizomera z-I enziminin inhibisyonu DNA replikasyonunun ve/veya transkripsiyonunun tamamlanamamasına yol açarak apoptozun indüklenmesine neden olmaktadır (Liu ve ark. 2000; Swamy ve ark. 2021).

Kamptotesin ve analoglarının yan etkilerini azaltmak ve farmakokinetik özelliklerini iyileştirmek amacıyla geleneksel farmasötik müstahzarlardan farklı olarak, nanofarmasötik müstahzarlar hazırlanmaktadır (Wen ve ark. 2017). Yapılan çalışmalarda kamptotesin nanoformülasyonlarının, serbest kamptotesine göre daha yüksek antitümör aktivitesi ve biyoetkinliği olduğu gösterilmiştir (Hanahan ve Weinberg 2021).

2.4.2.5. Podofillotoksin

Podofillotoksin, ilk kez *Podophyllum* türlerinden izole edilen ve 1930'lu yıllarda yapısı aydınlatılan bir lignandır (Yu ve ark. 2016; Shah ve ark. 2021). Podofillotoksinler geniş farmakolojik aktiviteye sahiptir ve bu bileşikler üzerinde çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Zhang ve ark. 2018). Podofillotoksinlerin mitotoksik, nörotoksik, insektisid, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antispazmodik, hipolipidemik, immünosupresif ve analjezik etkilere sahip oldukları kaydedilmektedir (Yu ve ark. 2016).

Podofillotoksinin kanser hücrelerine karşı antimitotik aktivitesine rağmen, klinikte gastrointestinal toksisite, nörotoksisite, saç dökülmesi ve kemik iliği baskılanması gibi istenmeyen sekonder etkiler göstermektedir. Bu durum tedavide kullanılabilecek daha az toksik türevlerin veya analogların araştırılmasına yol açmıştır. Kapsamlı yapısal modifikasyonları üzerinde yapılan çalışmaların sonunda klinik olarak uygulanabilir antikanser ilaçlar olarak etiposid ve teniposid kaydedilmiştir (Xu ve ark. 2009). Klinik çalışmalarda teniposide, etoposide, etoposide fosfat, bileşiklerin akciğer kanseri, çeşitli genital tümörler ve Hodgkin olmayan lenfoma, glioblastoma lenfoma ve lenfositik olmayan lösemi dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerine karşı etkinliğini bildirilmiştir (Eser ve Timurağaoğlu 2021; Goldman ve ark. 2021; Guo ve Jiang 2021; Zhao ve ark. 2021). Podofillotoksinin antitümör aktivitesi paklitaksel bileşiğine benzer özellik göstermektedir. Podofillotoksin, kanser hücrelerinin gelişimini önleyen tübülünün polimerizasyonunu önleyerek ve mitozdaki hücre döngüsünü etkileyerek antitümör aktivite göstermektedir. Etoposid ve teniposid gibi podofillotoksinin yarı sentetik ürünlerinin de DNA topoizomera-2 enzimi üzerinde inhibitör aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir (Ardalani ve ark. 2017).

2.4.2.6. Kombretastatinler

Kombretastatinler, *Combretum caffrum* ağacından elde edilen stilbenoid bileşikleridir. Mikrotübüller üzerinde etkiye sahip olarak bilinen ilk bileşikler, 1980'lerin sonunda izole edilen kombretastatin A1 ve B1'dir. Günümüze kadar çok sayıda modifiye edilmiş türev sentezlenmiştir. Bu türevlerden kombretastatin A4'ün en etkili olduğu; paklitaksel ve vinka alkaloidlerinden daha düşük bir toksisite profili sergilediği kaydedilmiştir (Zhang ve Kanakkanthara 2020).

Kombretastatin A4, güçlü bir hücre proliferasyonu inhibitörü ve apoptoz indükleyicisidir. Bu etkisini kolşisin gibi tübülün polimerizasyonunu inhibe ederek göstermektedir (Sherbet 2020). Suda çözünürlüğü arttırmak amacıyla ön ilaç olarak kombretastatin A4'ün potasyum ve sodyum fosfat türevleri geliştirilmiş olup klinik deneylerde değerlendirilmektedir (West ve Price 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Colchicum variegatum L. bitkisine ait materyal bitkinin çiçekli olduğu 03.10.2020 tarihinde Isparta-Aksu yöresinden toplanmıştır. Kurutulmuş bitki örneği ISTE 117272 herbaryum numarası ile İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır.

Toplanan bitkisel materyalin çiçek ve çiçek sapı olmak üzere toprak üstü kısmı ve yumrusu (toprak altı kısım) birbirinden ayrılmıştır. Bitkilerin küflenmemesi için ilk olarak oda sıcaklığında, (havadar ortamda); daha sonra 60°C'de havalı etüvde kurutulup, toz hale getirilmiştir. Çalışma bitkisel materyalden elde edilen ekstraler üzerinde sürdürülmüştür. Covid-19 pandemisi ve bölgede meydana gelen orman yangınları nedeniyle farklı dönemlerde bitkisel materyal toplanamamıştır.

3.2. Kimyasal Metotlar

3.2.1. Fitokimyasal Ön Deneyler

5 g kaba toz edilmiş materyal ve 100 ml sıcak su ile infüzyon hazırlanmıştır. Karışım 5 dakika sıcak su banyosunda bekletilip ve soğutulup süzölmüştür. Hazırlanan infüzyonda flavon, antrasen, saponin ve tanen bileşikler aranmıştır.

3.2.1.1. Alkaloit

1 g toz edilmiş numune, 10 ml % 3'lük H₂SO₄ çözeltisiyle bir müddet ısıtılarak tüketilmiş; soğutulduktan sonra süzölmüştür. Süzöntü 5 ml % 10'luk amonyak çözeltisiyle kalevilendirilmiştir. Daha sonra ayırma hunisinde 10 ml eterle tüketilmiştir. Eterli kısım ayrılıp su banyosu üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Bakiye 10 ml % 3'lük H₂SO₄ ile çözölmüştür. Bu asitli çözeltide genel alkaloit belirteçleri ile alkaloit teşhisi yapılmıştır. Dragendorff, Mayer ve Bouchardat reaktifleri ile kontrol edilmiştir.

3.2.1.2. Flavonoitler

5 ml infüzyon üzerine 5 ml Shibata belirteci (1k derişik HCl + 1k distile su + 1k etanol) ve yeterli miktar magnezyum talaşı ilave edilmiştir. Pembe, turuncu veya mor bir rengin (Shibata reaksiyonu/Siyanidin reaksiyonu) meydana gelip gelmediğı gözlenmiştir.

3.2.1.3. Tanen

10 ml infüzyon üzerine 2 ml tuzlu jelatin çözeltisi (NaCl ile doyurulmuş %1'lik jelatin çözeltisi) ilave edilmiştir. Krem renkli bir çökeltinin oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

Gallik ve Kateşik Tanen Teşhisi: 5 ml infüzyon üzerine 3 damla %5'lik FeCl₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Esmer zeytin yeşili (kateşik tanen) ve mavi siyah (gallik tanen) rengin oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

Gallik ve Kateşik Tanenlerin Birlikte Bulundukları Durumlarda Ayrılması: 10 ml infüzyon üzerine 5 ml klorhidrik asitli formol (Stiasny belirteci) (100 ml % 30 formol+50 ml derişik HCl) konulmuş ve karışım 80°C civarında ısıtılmış su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Parçalar halinde bir çökelek (kateşik tanen) oluşup oluşmadığı gözlendikten sonra karışım tamamen soğutulduktan sonra berrak bir şekilde süzölmüştür. Süzöntüden 3 ml alınıp sodyum asetat ilavesiyle doyurulmuştur. Doymuş çözelti üzerine 3 damla seyreltik FeCl₃ çözeltisi ilave edilip mavi-siyah bir renk veya çökeltinin (gallik tanen) oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

3.2.1.4. Antrasen Türevleri

10 ml infüzyon üzerine 5 damla derişik H₂SO₄ ilave edilmiştir. Karışım 15 dakika sıcak su banyosunda tutulup glikozitlerin hidroliz edilmesi sağlanmıştır. Karışım soğuduktan sonra 5 ml toluen ile çalkalanmıştır. Toluenli tabaka bir pipet yardımı ile başka bir tübe aktarılıp; üzerine 3 ml % 10'luk amonyak çözeltisi ilave edilmiştir. Pembe-kırmızı bir rengin (Borntrager reaksiyonu) meydana gelip gelmediğı gözlenmiştir.

3.2.1.5. Saponin

10 ml infüzyon bir deney tüpüne alınıp, tüpün ağzı bir tıpa ile kapatılarak yatay şekilde 30 saniye çalkalanmış ve 15 dakika beklemeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda tüpte en az 1 cm yüksekliğinde kalıcı köpük oluşup oluşmadığına bakılmıştır.

3.2.2. Alkaloidlerin Tüketilmesi

3.2.2.1. Metanol Ekstrelerinin Hazırlanması

Kurutulup toz edilmiş bitkisel materyalin (çiçek ve çiçek sapı) toprak üstü kısmı ve toprak altı kısmı ayrı ayrı Soxhlet apareyinde metanol ile ekstre edilmiştir. Elde edilen metanol ekstreleri alçak basınçta rotarievaporatörde (30-35°C’de) yoğunlaştırılmıştır.

Bu şekilde elde edilen metanol ekstrelerine verilen kodlar:

Toprak üstü metanol ekstresi.....Tü-M

Toprak altı metanol ekstresi.....Ta-M

3.2.2.2. Alkaloid Tüketilmesi

Hazırlanan metanol ekstresi su ile alınıp süzölmüştür. Süzöntünün pH’sı % 3’lük H₂SO₄ ile pH=3-4’ e ayarlanmıştır ve ayırma hunisinde kloroformla tüketilmiştir. Kloroformla tüketme işlemleri Dragendorff belirteci ile kontrol edilerek sonlandırılmıştır. Kloroformlu kısım susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarıldıktan sonra süzölüp alçak basınçta 30-35°C’de yoğunlaştırılmıştır. Böylece nötral-fenolik ekstre (A ekstresi) elde edilmiştir.

Sulu asitli kısım % 10’luk NH₄OH çözeltisi ile pH=8-9’a ayarlanıp ayırma hunisinde yeniden kloroformla tüketilmiştir. Kloroformlu kısmın sodyum sülfat ile suyu alınıp, süzölmüş ve alçak baskıda yoğunlaştırılmıştır. Tüketme sonucunda bazik ekstre (B ekstresi) elde edilmiştir.

Kalan sulu bazik kısım nötrleştirilmiştir ve bu kez kloroform:metanol (4:1) ile tüketilmiştir. Kloroform:metanol (4:1) kısmı sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp süzölmüş ve ardından alçak basınçta yoğunlaştırılmıştır. Bu tüketme sonucunda ise glikozidik ekstre (C ekstresi) elde edilmiştir.

Rotovapordaki yoğunlaştırma işlemleri 30-35°C’de yapılmıştır ve çalışma esnasında ekstreler mümkün olduğunca direkt ışıktan korunmuştur. Bitkinin ayrılan kısımları için yapılan alkaloit tüketmesi sonucunda toprak üstü (çiçek ve çiçek sapı) ve toprak altı (yumru) kısımlarına ait A, B ve C ekstreleri elde edilmiştir. Miktarları az olduğundan B ve C ekstreleri çalışılamamıştır. Bu şekilde elde edilen A ekstrelerine kodlar verilmiştir.

Toprak üstü A ekstresi (Çiçek/Çiçek Sapı).....Tü-A

Toprak altı A ekstresi (Yumru).....Ta-A

3.3. Miktar Tayini Yöntemleri

3.3.1. Drogdaki Su Miktarının Tayini

Etüvde ısıtılarak sabit vevne getirilmiş bir cam tartı kabı içine 1 g toz haldeki bitki materyali (toprak üstü ve altı kısım ayrı ayrı) konulup tam olarak tartılmıştır. 2 saat 100-105°C’ lik etüvde kurutulmuştur. Daha sonra desikatörde soğutulduktan sonra tartılmıştır.

3.3.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Kolşisin Miktar Tayini

Colchicum variegatum L. türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinde kolşisin miktar tayini YBSK yöntemi ile yapılmıştır. Ekstrelerin içerisindeki kolşisin miktarlarını analiz etmek için en iyi ayırımı sağlayan gradient metod geliştirilerek modifiye edilmiş bir YBSK yöntemi kullanılmıştır. YBSK analizleri, Shimadzu 2010C YBSK sistemine bağlı UV dedektörü ile gerçekleştirilmiştir. Sistem gradient akışta A:Asetonitril, B: % 1 asetik asitli su A:B (10:90)’dan 25 dakika içerisinde A:B (60:40)’a çıkarılmıştır. 5 dakika aynı oranda devam eden akış daha sonra 5 dakika içerisinde başlangıç koşullarına dönmüştür.

Analiz süresi toplamda 40 dakika olarak ayarlanmıştır. 1 mL/dakika akış hızında çalışılmıştır. Kolşisin, alıkonma süreleri aynı koşullar altında analiz edilen standardı ile eşleştirilerek tanımlanmıştır (Gülsoy-Toplan ve ark. 2018). Pikler UV/Visible dedektör ile 352 nm dalga boyunda dedekte edilmiş olup kalibrasyon eğrisi 5 farklı kolşisin konsantrasyonu (0.1-0.5 mg/mL) ile çalışılarak çizilmiştir.

YBSK analizinde Agilent Technologies 1100 cihazı kullanılmıştır. Asetonitril ve asetik asit/su çözeltilerinin farklı oranlardaki karışımı mobil faz; C₁₈ kolonu (4.6 x 250 mm, 5 µm) sabit faz olarak kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 10 µl; kolon sıcaklığı 40° C belirlenmiştir. Analizde kullanılan yöntem Tablo 3-1’de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: *Colchicum variegatum* L. için YBSK Gradient Yöntem

Asetonitril (% v/v)	Su (%1 Asetik Asit) (% v/v)	Zaman (dk.)	Akış Hızı (ml/dk.)
10	90	0	1
60	40	25	1
60	40	30	1
10	90	35	1
10	90	40	1

3.3.2.1. Analizde Kullanılan Ekstrelerin ve Çözeltilerin Hazırlanması

Colchicum variegatum L. toprak üstü ve toprak altı kısımlarından hareketle oda ısısında ve ışıktan korunarak ultrasonik banyoda metanol ile 24 saat bekletilmiştir. Elde edilen metanol ekstresi alçak basınçta rotavaporda 35-45°C’de yoğunlaştırılmıştır. Yoğunlaştırılan ekstratlar bir gece -80°C’de bekletilerek dondurulmuş ve ertesi gün liyofilize edilmiştir. Liyofilize edilen metanol ekstratları, metanol ile çözündürülüp 0,22 µm por çapına sahip membran filtrelerden süzülerek analiz öncesinde taze olarak hazırlanmıştır. Her iki türün toprak altı ve toprak üstü metanol ekstratlarından 2 mg/ml konsantrasyonda örnek çözeltiler hazırlanmıştır (Gülsoy-Toplan ve ark. 2018)

3.3.2.2. Kolşisin Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

Kolşisin (Recordati İlaç/Sigma:C9754) standart olarak kullanılmıştır. Metanol ile çözüldükten sonra 0,22 µm por çapına sahip filtrelerden süzölmüştür. 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler viallere alınmıştır. Standart çözeltiler enjeksiyondan önce taze olarak hazırlanmıştır (Gölsoy-Toplan ve ark. 2018).

3.3.2.3. YBSK Kolşisin Ölçü Eğrisi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltilerin YBSK analizi sonrasında o konsantrasyonlara karşılık gelen alanların hesaplanmasıyla konsantrasyon- alan doğrusal eğrisi hazırlanmıştır (Gölsoy-Toplan ve ark. 2018).

3.3.3. Spektrofotometrik Total Alkaloid Miktar Tayini

3.3.3.1. Ekstrelerin Hazırlanması

Bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısımları tam olarak tartılıp, ayrı ayrı Soxhlet apareyinde metanolla 6 saat tüketilmiş ve ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstraktların çözücüsü, alçak basınçta kuruluğa kadar distillenmiştir. Bakiye ultrasonik banyoda metanolde çözüldürölüp süzgeç kağıdından süzölerek balon jojede 100 ml'ye tamamlanmıştır. Balon jojede hazırlanan bu çözeltiliden 100 µl alınıp 10 ml'ye seyreltilmiştir ve bu çözeltilerin 352 nm'de UV spektrofotometresinde absorbansları ölçölümüştür. Standart kolşisin eğrisi oluşturularak total tropolon alkaloidleri konsantrasyonu belirlenmiştir. Ölçömler her örnek için 5 kez tekrarlanarak absorbansların ortalama değeri alınıarak hesaplanmıştır.

3.3.3.2. Standart Kolşisin Çözeltilerinin ve Kolşisin Eğrisinin Hazırlanması

2 mg kolşisin 400 µl metanolde çözündürülerek % 0,5'lik stok kolşisin çözeltisi ve bu çözeltiden 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 µg/ml konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanmıştır. Saf metanolle balon jodede 10'ar ml'ye tamamlanıp, 352 nm'de absorbanları ölçülerek standart kolşisin eğrisi çizilmiştir.

3.3.3.3. Total Alkaloid Miktar Tayininde Kullanılan İstatistiksel Bilgiler

Bitkinin toprak üstü ve toprak altı ekstraktlarının belirli konsantrasyonlarda 5 tekrarlı alınan ölçümleri için ortalama değer, standart sapma, standart hata ve % 95 güven düzeyi için güven sınırları denklemler ile hesaplanmıştır.

$$S = \sqrt{(\sum (x_i - \bar{x})^2) / n-1}$$

$\bar{x}$ = Ortalama değer

$$S_R = S_x / (\bar{x})$$

S = Standart sapma

$$S_{\bar{x}} = S / \sqrt{n}$$

n = Deney sayısı

$$\text{Güven sınırı} = \bar{x} \pm t.S_{\bar{x}}$$

S_R = Relatif standart sapma

$$t = \% 95 \text{ güven sınırı için sabit}$$

$$(5 \text{ deney için} = 2,78)$$

$S_{\bar{x}}$ = Standart hata

3.4. Kromatografik Metotlar

3.4.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İnce tabaka kromatografisi uygulamalarında Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck 1.05554) plaklar kullanılmıştır. Tropolon alkaloidleri için ince tabaka kromatografisi yönteminde kullanılan çözücü sistemleri Tablo 3-2'de verilmiştir.

Tablo 3-2: Tropolon Alkaloidleri için İTK’da Kullanılan Çözücü Sistemleri

No	Çözücü Sistemi	Çözücü Oranları
1	Kloroform:Aseton:Dietilamin	5:4:1
2	Benzen:Etil asetat:Dietilamin:Metanol	50:40:10:8
3	Kloroform:Aseton:Amonyak	4:6:1
4	Etil asetat:İzopropanol:% 25 Amonyum hidroksit	85:15:5
5	Benzen:Etil asetat:Dietilamin	5:4:1
6	Kloroform:Aseton:Dietilamin:Metanol	11:8:2:1
7	Kloroform:Aseton:Dietilamin	7:2:1
8	Kloroform:Aseton:Dietilamin:Metanol	11:8:2:3
9	Kloroform:Aseton:Dietilamin:Metanol	7:2:1:1

Kullanılan Reaktifler:

- Carr-Price Reaktifi:

25 g antimon triklorürün 75 g kloroform içerisinde çözündürülmesiyle hazırlanır.

- Dragendorff Reaktifi:

Dragendorff reaktifi iki ayrı çözeltinin belirli oranlarda karıştırılması ile hazırlanır. A çözeltisi 0.85 g bazik bizmut nitrat ve 10 ml asetik asitin 40 ml distile sudaki çözeltisi; B çözeltisi ise 8 g potasyum iyodürün 20 ml distile sudaki çözeltisidir. Bu iki çözeltiden eşit hacimde alınarak stok çözelti hazırlanır. Stok çözeltiden alınan 10 ml üzerine, 20 ml glasiyel asetik asit ve 100 ml distile su eklenmesiyle Dragendorff reaktifi hazırlanır.

3.4.1.2. Preparatif İTK

Preparatif ince tabaka kromatografisinde hazır Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck 1.05721) cam plaklar kullanılmıştır.

Uygulama: İnce tabaka kromatografisinde en iyi sonuç veren çözücü sistemi kullanılmıştır. Tatbik işleminin akabinde sürüklenme işlemi gerçekleştirilip plaklar kurutulmuştur. UV ışık altında bantların yerleri belirlenmiştir. Bantların yerinin tam olarak belirlenememesi durumunda alkaloit belirteçlerinden yararlanılmıştır. Bantlar plaktan kazındıktan sonra 2 cm çapındaki sütunlardan kloroform:metanol çözücü karışımının farklı oranları ile elüe edilmiştir. Elüatlar, filtre kağıdından süzülüp, alçak basınçta rotavaporda kuruluğa kadar distillenmiştir. Kloroform veya kloroform:metanol (9:1) ile çözülüp tekrar süzülerek ufak şişelere aktarılmıştır.

3.4.1.3. Sütun (Kolon) Kromatografisi

Yaş yöntem ile silikajel sütun hazırlanmıştır. Adsorban olarak Silica Gel 60 (0.0063-0.200 mm, 70-230 mesh ASTM) kullanılmıştır. Ekstre miktarı göz önünde bulundurularak uygun boyutta bir cam sütun seçilmiştir. Öncelikle silikajel kloroform ile karıştırılıp süspansiyon haline getirilmiştir. Ekstre miktarı ve sütun ebatları için uygun olan miktarda adsorban kullanılmıştır. Bu süspansiyon cam sütuna içinde hiç hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek dökülmüştür. Süspansiyonun sütuna aktarılması sırasında, sütunun musluğu eşit aralıklarla damlar durumda tutulmuş ve silikajelin iyice yerleşmesi için bir gece bekletilmiştir. Kolonun kurumamasına ve çatlamamasına özen gösterilmiştir.

Deneylerde güneş ışığından kaçınmak amacıyla alüminyum folyo kullanılmasına dikkat edilmiştir. Ekstre kloroformda çözündürülerek kolona tatbik edilmiştir. Polarite değiştirilerek elüsyona devam edilmiştir. Son olarak % 100 metanol ile kolon temizlenmiştir. Toplanan fraksiyonlar alçak basınçta rotavaporda yoğunlaştırılıp ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilmiştir. Aynı alkaloit veya alkaloit karışımını içeren fraksiyonlar birleştirilmiş; alçak basınçta kuruluğa kadar distillenmiştir. Karışım halinde olan fraksiyonlar için yeniden preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi uygulanarak saflaştırılmıştır.

Tablo 3-3: Sütun Kromatografisinde Kullanılan Çözücü Sistemi ve Oranları

Çözücü Sistemi	Oran
Diklorometan	100
Diklorometan:Metanol	99:1
	98:2
	96:4
	95:5
	90:10
	80:20
	70:30
	60:40
	50:50

3.5. Spektral Metotlar

3.5.1.1. UV-Vis Spektrofotometre

Toprak altı ve toprak üstü A ekstrelerinden izole edilen maddelerin yapılarının aydınlatılmasında Shimadzu UV-1700 PharmaSpec UV-Vis spektrofotometresi kullanılmıştır. Spektrumlar, 1 cm'lik kuvartz küvetler ile kullanılarak alkaloidlerin direkt olarak metanolle hazırlanmış çözeltileri ile alınmıştır.

3.5.1.2. Nükleer Manyetik Rezosans Spektrometresi (NMR)

Toprak altı ve toprak üstü A ekstrelerinden izole edilen maddelerin ^1H NMR analizi için Bruker Biospin Magnet System 500'54 Ascend cihazı kullanılmıştır. Alınan spektrumların sinyallerinin değerlendirilmesinde ve bileşiklerin moleküler formüllerinin çizilmesinde MestReNova programı kullanılmıştır.

3.5.1.3. Kütle Spektrometresi (MS)

Toprak altı ve toprak üstü A ekstrelerinden izole edilen maddelerin kütle spektrumları Thermo ORBITRAP Q-Exactive sisteminde alınmıştır. Elektrosprey iyonizasyon (ESI), iyon kaynağı olarak kullanılmıştır. Kütle tarama aralığı 100-900 m/z ve kapiller sıcaklık 320°C belirlenmiştir.

3.5.1.4. Sıvı Kromatografisi/Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi (LC-HRMS)

C. variegatum L. toprak üstü ve toprak üstü metanol ekstrelerindeki fenolik bileşiklerin analizi LC-HRMS yöntemiyle yapılmıştır. Ekstreler metanol ile çözüldükten sonra 100 mg/L'lik standart çözeltisi eklenerek son derişim 3 ppm olacak şekilde ayarlanmıştır. Numune 0,45 μm 'lik membrane filtreden geçirilip analiz için hazırlanmıştır. LC sistem şartları Tablo 3-4'te ve MS system şartları Tablo 3-5'te verilmiştir.

Tablo 3-4: Sıvı Kromatografisi/Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi Sistem Şartları

Mobil faz A: %1 Formik asit-H ₂ O		
Mobil faz B: %1 Formik asit-MeOH		
Kolon: Troyasil C18 HS-150 x 3mm 5 μ		
% B	Akış (mL/dk.)	Zaman
50	0.35	0.00
50	0.35	1.00
100	0.35	3.00
100	0.35	6.00
50	0.35	7.00
50	0.35	15.00

Tablo 3-5: Kütle Spektrometresi Sistem Şartları

Sistem	Thermo ORBITRAP Q-EXACTIVE
İyon Kaynağı	ESI (Elektrosprey iyonizasyon)
Kütle Tarama Aralığı	100-900 <i>m/z</i>
Kapiller Sıcaklık	320 °C
Çevre Şartları	
Sıcaklık	(22.0 ± 5.0) °C
Bağıl Nem	(50 ± 15) % rh

- Tanımlamalar İLMER Kütüphanesi'ne göre yapılmıştır.

3.5.2. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

3.5.2.1. Kolorimetrik MTT Yöntemi

MTT yöntemi, hücre canlılığını ölçen ve sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Canlı hücrelerdeki mitokondriyal dehidrogenaz enziminin aktivasyonu sayesinde sarı renkteki MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2,5-difeniltetrazolyum)] molekülünün tetrazolyum halkasının koparılması ve MTT molekülünün suda çözünemeyen mor-mavi renkli formazan kristallerine dönüşmesine dayanmaktadır. Daha sonra formazan kristalleri dimetilsülfoksit ile çözündürülüp spektrofotometrik absorbans ölçümü yapılmaktadır. Formazan tuzu miktarı hücre sayısındaki artış veya azalış ile ilişkili değişmekte ve spektrofotometrik ölçüm sonucu elde edilen değer test edilen materyalin sitoksisitesini belirlemektedir (Biltekin, 2017).

3.5.2.2. MTT Metodu ile Hücre Serileri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Tayini

3.5.2.3. Hücre Hatları Kültürleme İşlemleri

İnsan prostat kanseri PC3, insan meme kanseri MCF7 ve insan embriyonik böbrek sağlıklı HEK293 hücre hatları üzerinde kültürleme işlemleri yapılmıştır. L-Glutamin, pirüvat ve 4.5 g/L D-glukoz içeren “Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium/High Glucose” (DMEM/High, Gibco 41966), hücre hattı çoğaltımını sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Steril medium solüsyonuna % 10 (v/v) fetal sıgır serumu (FBS) ve % 1 (v/v) antibiyotik-antimikotik solüsyonu eklenerek deneyler için besiyeri hazırlanmıştır. Hücreler ATCC’den temin edilmiştir. Hücre açma işleminde hücreler için gerekli besiyeri hazırlanıp sıvı azot tankından çıkartılan hücreler hızlı bir şekilde su banyosunda çözündürülmüştür. Çözünmüş hücreler besiyeri içerisine damla damla ilave edilerek 1000 rpm’de 5 dakika 2 kez santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme sonrasında 5 ml besiyeri hücre peleti üzerine eklenerek pipetaj yapılmıştır. Hücre solüsyonu tek kullanımlık 25 cm² hücre kültürü flaskına aktarılıp 37°C’lik inkübatöre kaldırılmıştır. 24 saat sonra hücrelerin çözöldüğü göröldükten sonra hücre kültürü flaskındaki hücrelerin canlılıkları, invert mikroskop ile tutunma durumlarına göre kontrol edilmiştir. Hücreler % 80 oranında yüzeyi kaplayacak kadar çoğaldıklarında pasaj işlemleri gerçekleştirilmiştir (Biltekin 2017; Hacıoğlu ve ark. 2021).

3.5.2.4. Hücrelerin Alt Kültürlerinin Yapılması

Hücrelerin alt kültürleme işlemlerinde öncelikle 25 cm²’lik hücre kültür kabı içerisindeki besiyeri uzaklaştırılmıştır. 5 ml “Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline” (D-PBS), ile yıkandıktan sonar D-PBS ortamdan uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin kültür kabı yüzeyinden kalkmalarını sağlamak için 1 mL Trypsin/EDTA eklenerek kültür kabı inkübatöre bırakılmıştır. Hücrelerin tamamen kültür kabı yüzeyinden kalkması invert mikroskop ile kontrol edilmiştir. Ayrılma işlemi tamamlandıktan sonra tripsin aktivitesini sonlandırmak için 5 ml besiyeri kültür kabı içine aktarılıp pipetaj yapılmıştır. Hemositometre (Neubauer lamı) ile hücre sayımı yapılmıştır. Yeni kültür kabına hücreler koyulmuştur. Üzeri taze besiyeri ile 8 ml’ye tamamlanmıştır.

Hücreler % 90'dan fazla bağıl nem ve % 5 CO₂ sağlayan 37°C'lık inkübatöre (Thermo Scientific, Heracell™ 150i) kaldırılmıştır. Hücre devamlılığı için bu işlem haftada 2 ya da 3 kez tekrarlanmıştır. Hücrelerin alt kültürlenmesi işlemleri laminar hava akımlı steril kabinde (Heal Force HFsafe-1200 version 2.01) gerçekleştirilmiştir (Şahin ve ark. 2021).

3.5.2.5. Kolorimetrik MTT Yönteminin Uygulanması

Öncelikle 96 kuyucuklu kültür kaplarının her bir kuyucuğuna, 5.104 hücre/well hücre süspansiyonlarından 200 µl konulup kültür kabı % 5 CO₂ sağlayan 37°C'lık etüvde inkübe edilmiştir. Kuyucukların yüzeyine tutunmuş olan hücrelerin üzerindeki besiyeri 24 saat sonra uzaklaştırılmıştır. Sırasıyla 1000 µg/mL madde içeren besiyerlerinin farklı konsantrasyonlardaki canlılıkları ve etkileri analiz edilmiştir. Kontrol grubuna sadece besiyerinden 200'er µl; deney grubu hücrelerin üzerine farklı derişimlerde madde içeren besiyerlerinden uygulanarak inkübatörde (37°C, % 5 CO₂) bırakılmıştır. 24 saat sonunda hücrelerin üzerindeki besiyeri uzaklaştırılıp, 30 µl PBS içinde hazırlanan MTT stok çözeltisinden 5 mg/ml ilave edilmiştir. 4 saat inkübatörde kaldıktan sonra formazan kristallerinin çözünmesi için 150µl izopropanol eklenmiştir. Çözelti homojenitesi için kültür kabı oda sıcaklığında çalkalayıcıda (Heidolph Unimax 1010) çalkalanmıştır (Mosmann, 1983; Şahin ve ark. 2021).

Oluşan renkli ürünün 570 nm dalga boyundaki absorbansı mikropılaka okuyucuda (Spektramax i3) ölçülmüştür. Sonuçlar denkleme göre değerlendirilmiştir (Mosmann, 1983; Şahin ve ark. 2021).

$$\% \text{ Canlılık} = (\text{Deney grubuna ait absorbans} / \text{Kontrolle ait absorbans}) \times 100$$

▪ İstatistiksel Analiz

Deneyler 3'er kez ve 3 döngü şeklinde yapılmış olup tüm tekrar sonuçları GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA; Version 8.4.3) programı ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *C. variegatum* L. Fitokimyasal Ön Deney Bulguları

Tablo 4-1: *Colchicum variegatum* L. Türüne ait Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları

	Toprak Üstü Kısım (Çiçek ve çiçek sapı)	Toprak Altı Kısım (Yumru)
Flavonoit	(+)	(+)
Antrasen	(-)	(-)
Alkaloit	(+)	(+)
Tanen	(-)	(-)
Kateşik	(-)	(-)
Gallik	(-)	(-)
Saponin	(-)	(+)

4.2. Miktar Tayini Bulguları

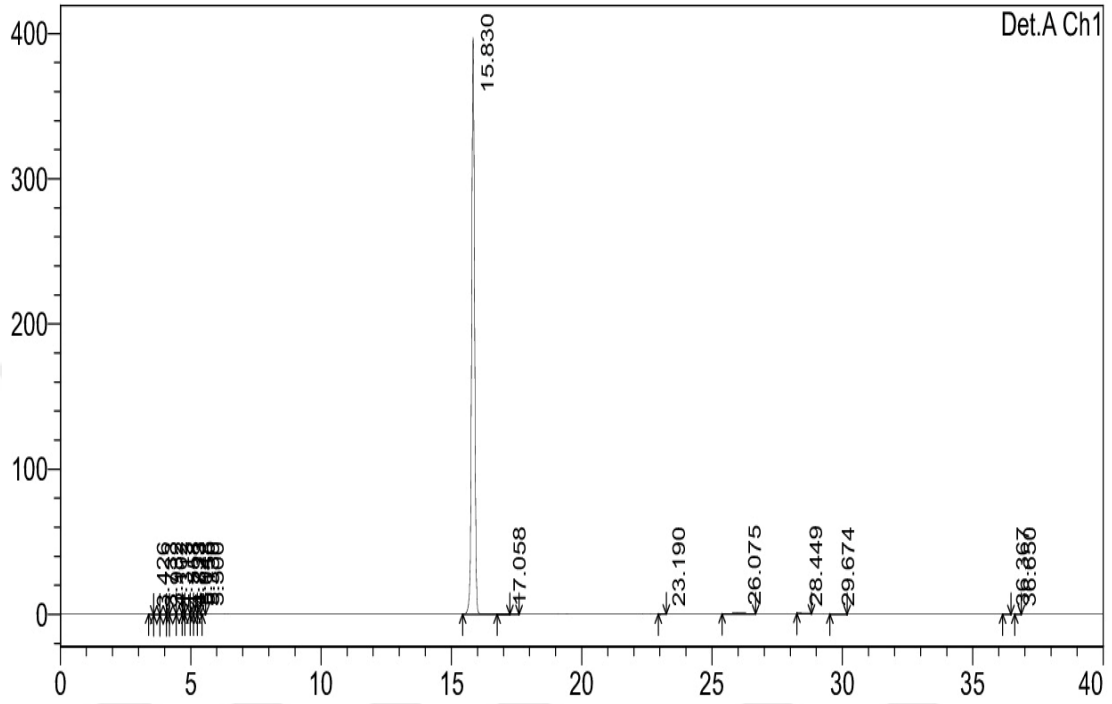
4.2.1. Su Miktar Tayini Bulguları

Tablo 4-2: *Colchicum variegatum* L. Türünde Yapılan Su Miktar Tayini Sonuçları

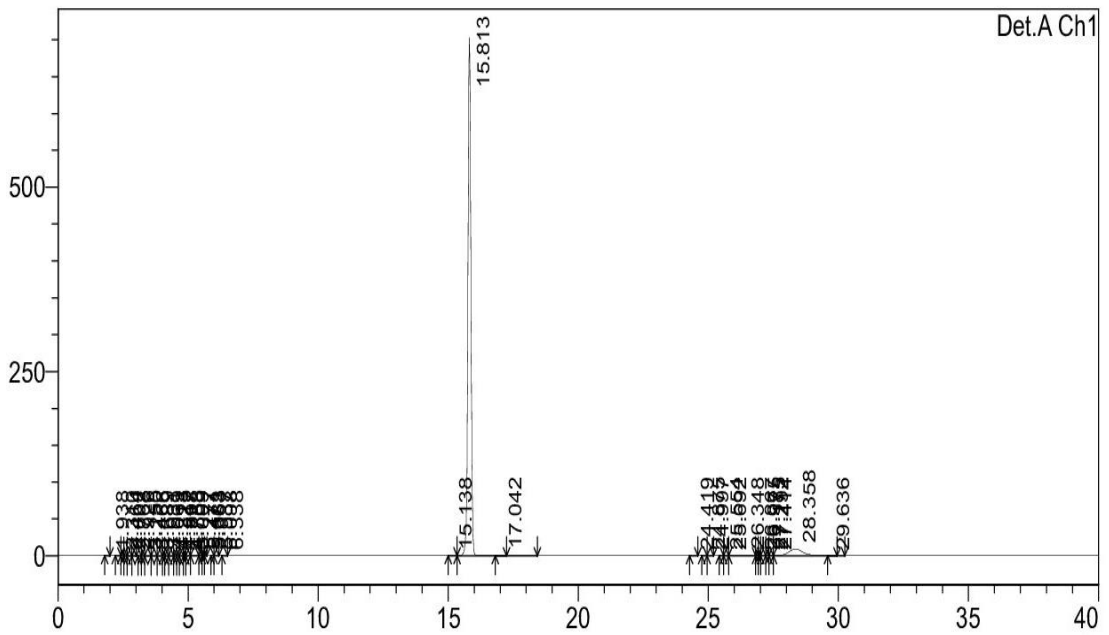
Drog	Su miktarı
Toprak Üstü Kısım (Çiçek ve çiçek sapı)	% 4.3
Toprak Altı Kısım (Yumru)	% 7.6

4.2.2. YBSK ile Kolşisin Miktar Tayini Bulguları

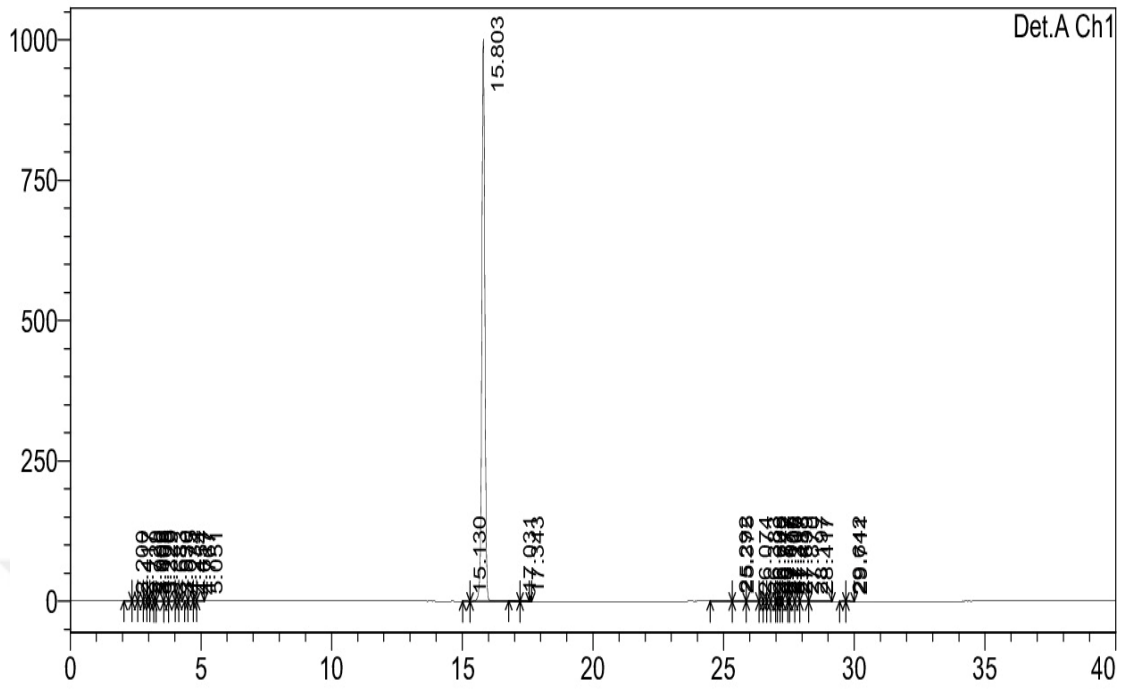
4.2.2.1. Kolşisinin Farklı Konsantrasyonlardaki YBSK Kromatogram Sonuçları



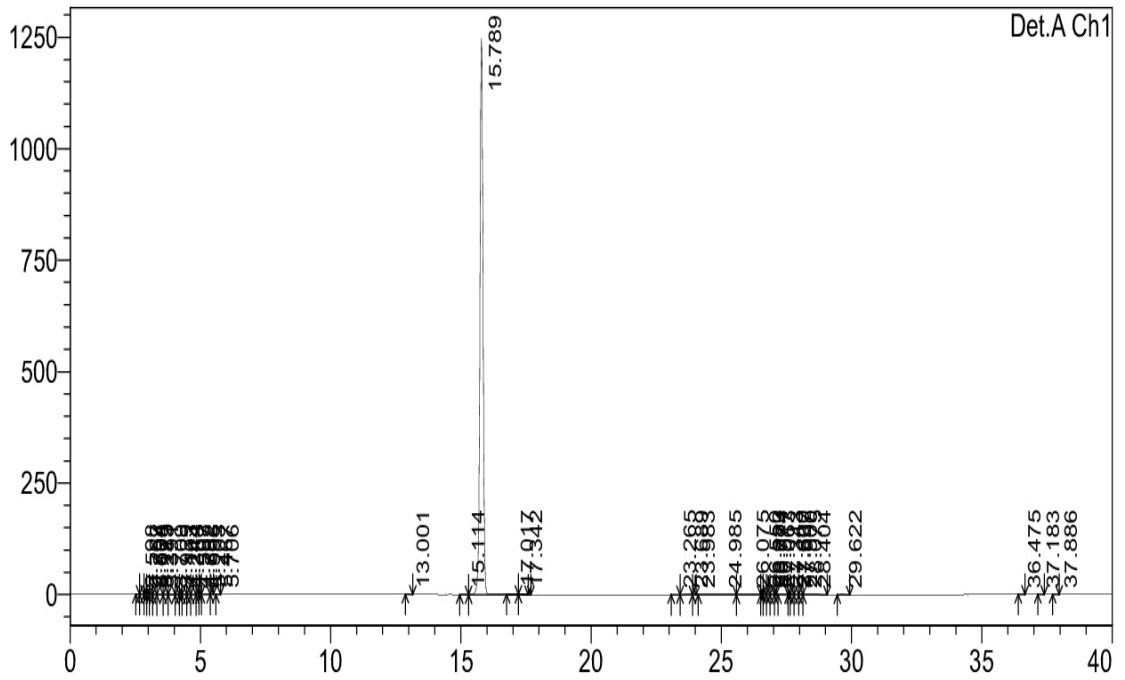
Şekil 4-1: Kolşisin (0,1 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.83)



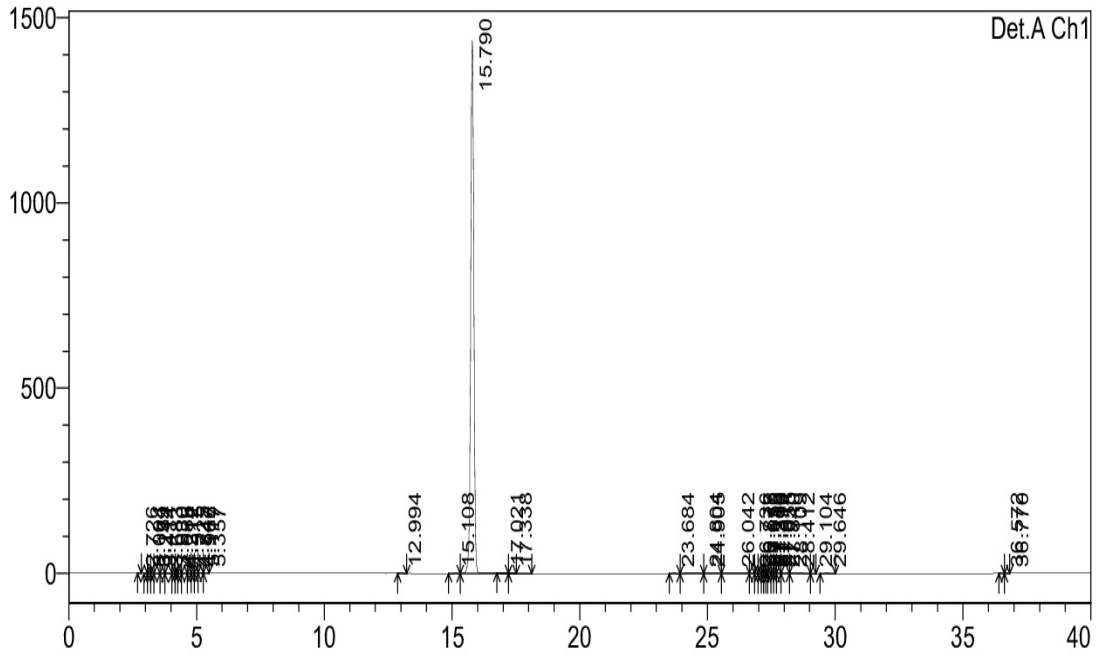
Şekil 4-2: Kolşisin (0,2 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.81)



Şekil 4-3: Kolşisin (0,3 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.80)

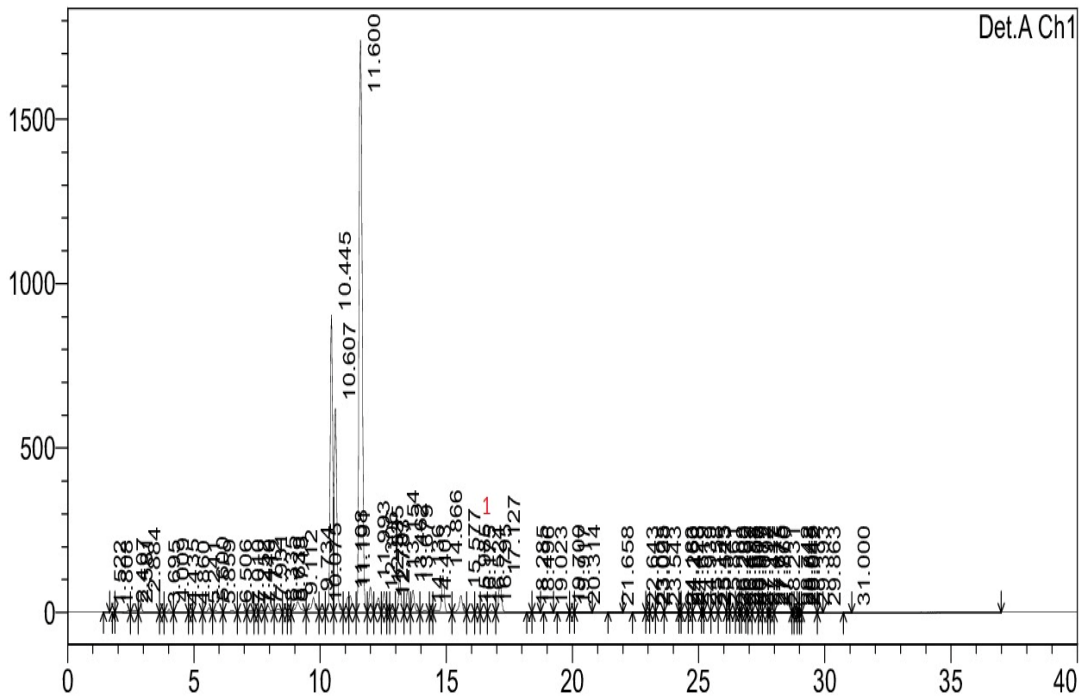


Şekil 4-4: Kolşisin (0,4 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.78)



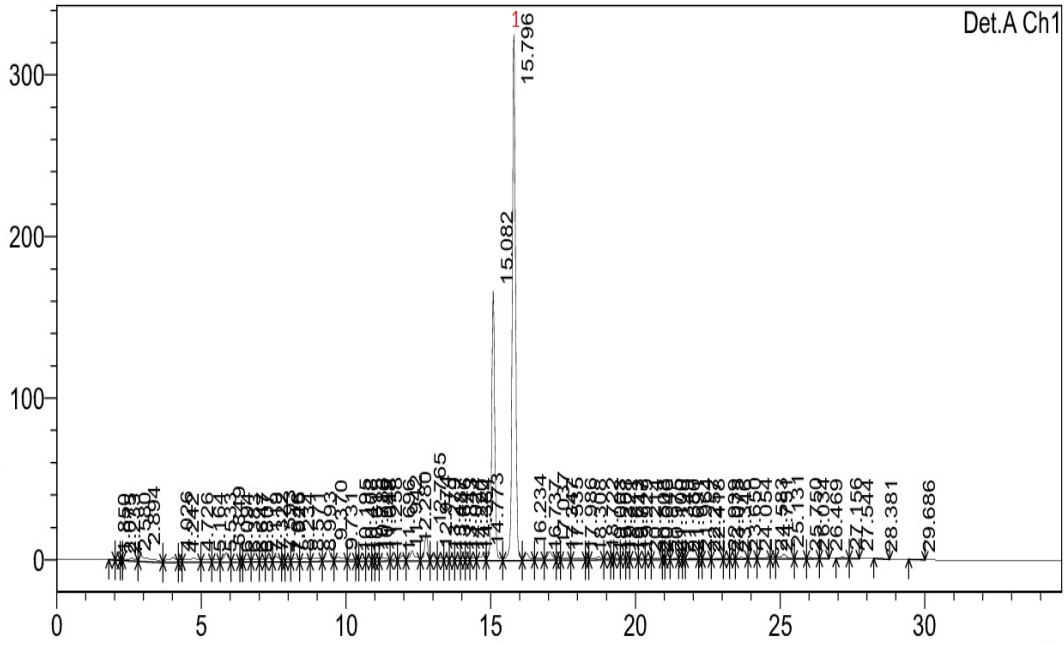
Şekil 4-5: Kolşisin (0,5 mg/mL) YBSK Kromatogramı (R.T. 15.79)

4.2.2.2. *C. variegatum* L. Toprak üstü Metanol Ekstresinde Miktar Tayini Sonuçları



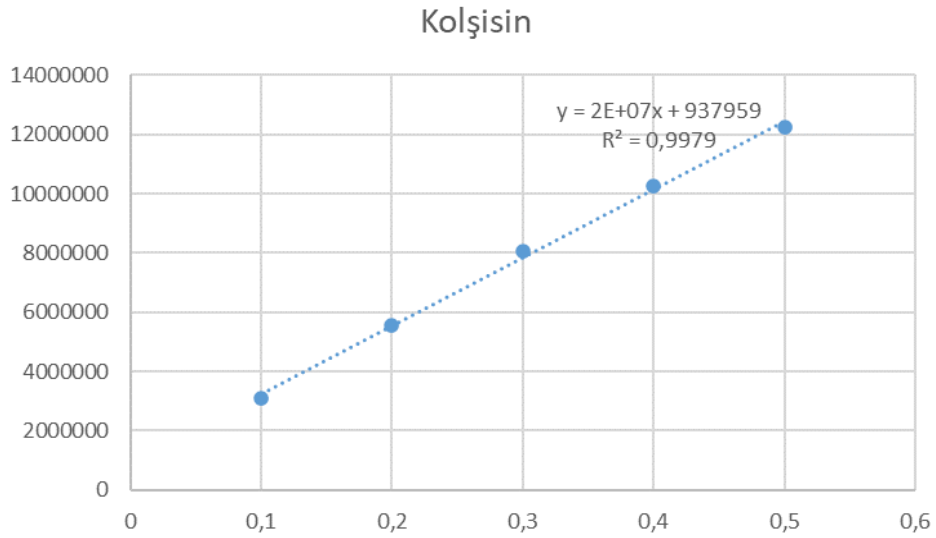
Şekil 4-6: *C. variegatum* L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi YBSK Kromatogramı

4.2.2.3. C. variegatum L. Toprak Altı Metanol Ekstresinde Miktar Tayini Sonuçları



Şekil 4-7: C. variegatum L. Toprak Altı Metanol Ekstresi YBSK Kromatogramı

4.2.2.4. Kolşisin Standart Ölçü Eğrisi



Şekil 4-8: Kolşisin Ölçü Eğrisi

- Hesaplanan doğru denklemi: $y = 2E+07x + 937959$ ($R^2 = 0,9979$)
- Hazırlanan konsantrasyonlar: 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL

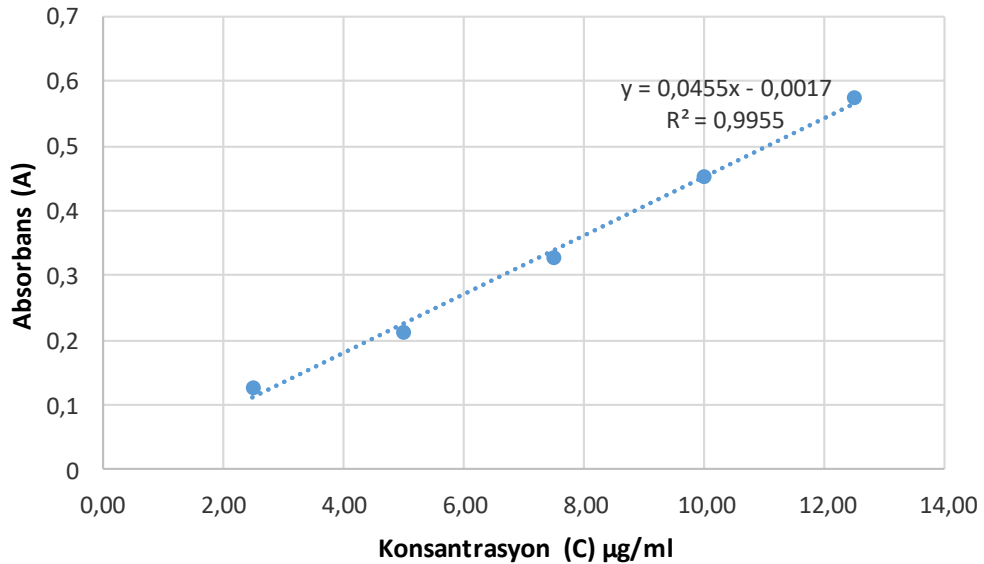
4.2.2.5. Ekstre ve Droglardaki Kolşisin Yüzdeleri

İç standart yöntemi kullanılarak yeniden YBSK analizi yapılmış ve pikin kolşisine ait olduğu teyit edilmiştir. Kolşisin standartlarından çizilen kalibrasyon grafiğinden yola çıkılarak, toprak üstü metanol ekstresinde var olan kolşisin miktarı kantitatif olarak (a/a) % 0,02; toprak altı metanol ekstresinde var olan kolşisin miktarı ise % 0,83 olarak tespit edilmiştir. Verim hesabı ile ekstredeki konsantrasyondan bitkideki konsantrasyon hesabına geçilmiştir.

Tablo 4-3: *C. variegatum* L. Ekstreleri ve Droglarına ait Kolşisin Yüzdeleri

Ekstre	Ekstredeki kolşisin miktarı (%)	Drogdaki kolşisin miktarı (%)
Toprak Üstü Metanol Ekstresi	% 0,02	% 0,005
Toprak Altı Metanol Ekstresi	% 0,83	% 0,065

4.2.3. Spektroskopik Total Alkaloit Miktar Tayini Bulguları



Şekil 4-9: Kolşisin Standart Eğrisi

Kolşisin standartının belirli konsantrasyonlarda, 352 nm’de verdiği absorbans değerleri ile kolşisin (Şekil 4-9) standart eğrisi çizilmiştir. Metanol ekstraktlarının ortalama absorbans değerleri y değeri olarak bu formüldeki yerine konularak x (konsantrasyon) değerleri bulunmuştur.

- Hazırlanan konsantrasyonlar: 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 µg/ml
- Hesaplanan doğru denklemi: $y = 0,0455x - 0,0017$

$$(R^2 = 0,9955)$$

C. variegatum L. total alkaloit miktarı toprak üstü metanol ekstresinde % 3,224; toprak altı metanol ekstresinde % 4,916 olarak belirlenmiştir. Ekstre verimi üzerinden bitkideki total alkaloit miktarına geçildiğinde toprak üstü kısımdaki total alkaloit yüzdesi 0,075; toprak altı kısımdaki total alkaloit yüzdesi 0,385 olarak belirlenmiştir.

Tablo 4-4: Kolşisin Standardının Belirli Konsantrasyonlarda Alınan Absorbans Ortalamaları

C (µg/ml)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A _{ort}	S
2.5	0,121	0,122	0,125	0,123	0,122	0,127	0,001517
5	0,214	0,212	0,213	0,216	0,211	0,213	0,001924
7.5	0,329	0,326	0,328	0,328	0,329	0,328	0,001225
10	0,454	0,450	0,458	0,452	0,456	0,454	0,003162
12.5	0,580	0,578	0,574	0,570	0,572	0,575	0,004147

C: Konsantrasyon; A₁, 2, 3, 4, 5: 352 nm’deki absorbans, A_{ort}:Ortalama absorbans; S:Standart sapma

Tablo 4-5: *C. variegatum* L. Metanol Ekstrelerine ait Absorbans Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri

Ekstre	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A _{ort}	S
Toprak Üstü Metanol Ekstresi	0,216	0,220	0,221	0,224	0,228	0,222	0,00449
Toprak Altı Metanol Ekstresi	0,143	0,145	0,145	0,144	0,146	0,145	0,00114

Tablo 4-6: *C. variegatum* L. Ekstrelerinin Absorbans Değerlerine Karşılık Gelen Konsantrasyon ve Ortalama Değerleri

Ekstre	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A _{ort}	S
Toprak Üstü Metanol Ekstresi	3,180	3,224	3,224	3,202	3,246	3,224	0,0226
Toprak Altı Metanol Ekstresi	4,785	4,873	4,895	4,960	5,048	4,916	0,0883

Tablo 4-7: *C. variegatum* L. Metanol Ekstrelerine ait İstatistik Verileri

Ekstre	S _x	Güven sınırı	Güven sınırı aralığı
Toprak Üstü Metanol Ekstresi	0,0101	3,224±0,028	3,196-3,252
Toprak Altı Metanol Ekstresi	0,0395	4,916±0,109	4,807-5,025

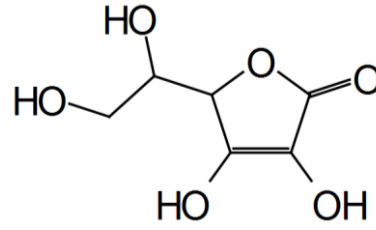
4.3. Fenolik Bileşiklerin LC-HRMS Analiz Bulguları

LC-HRMS analizi ile *C. variegatum* L. toprak üstü ve toprak altı metanol ekstraktlarındaki fenolik bileşikler ve miktarları Tablo 4-8’de verilmiştir.

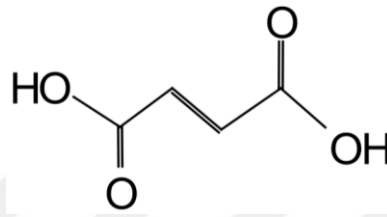
Tablo 4-8: LC-HRMS ile Saptanan Fenolik Bileşikler ve Miktarları

Saptanan Madde	Toprak Üstü Metanol Ekstresindeki Madde Miktarı (mg/kg)	Toprak Altı Metanol Ekstresindeki Madde Miktarı (mg/kg)
Askorbik asit	86.40	110.37
Klorojenik asit	17.58	1.32
Fumarik asit	14801.31	8909.94
Kafeik asit	256.08	770.10
(+)- <i>trans</i> -Taksifolin	1.71	-
Luteolin-7-rutinozit	106.20	-
Vanilik asit	776.79	646.29
Naringin	-	1.77
Luteolin-7-glikozit	7189.26	37.77
p-kumarik asit	1278.57	3307.68
Apigenin-7-glikozit	306.03	1.41
Kersetin	4.83	5.64
Salisilik asit	186.57	594.39
Kemferol	636.72	1.17
Apigenin	21.54	0.36
Hispidulin	84.48	2.94
Krisin	-	4.14
Krisoeriol	30.48	2.25
3,4-dihidroksibenzoik asit	74.40	51.00
Hispidulin-7-glikozit	8428.05	84.90
6-O-metil-luteolin-7-glikozit	6.39	7.20
5,3,4'-trimetoksi-7-O-Glikozit Flavon	13.38	0.78

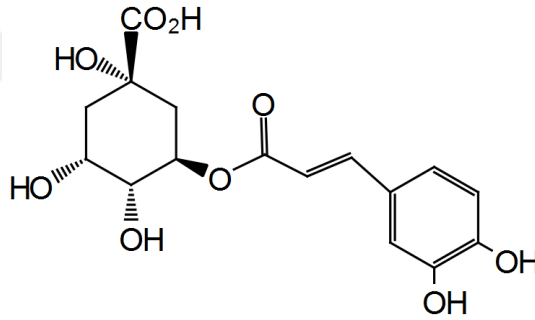
4.3.1. LC-HRMS ile Saptanan Fenolik Bileşikler



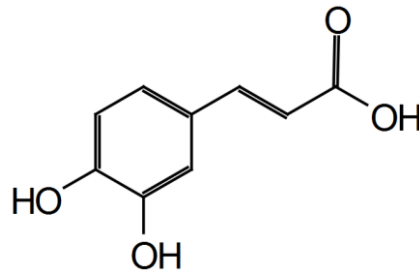
Şekil 4-10: Askorbik Asit



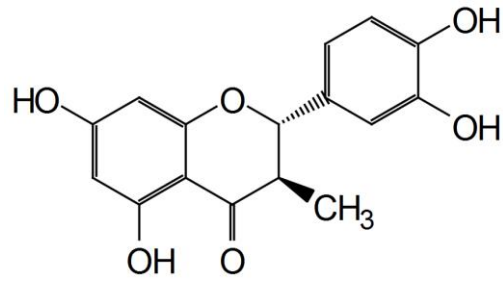
Şekil 4-11: Fumarik Asit



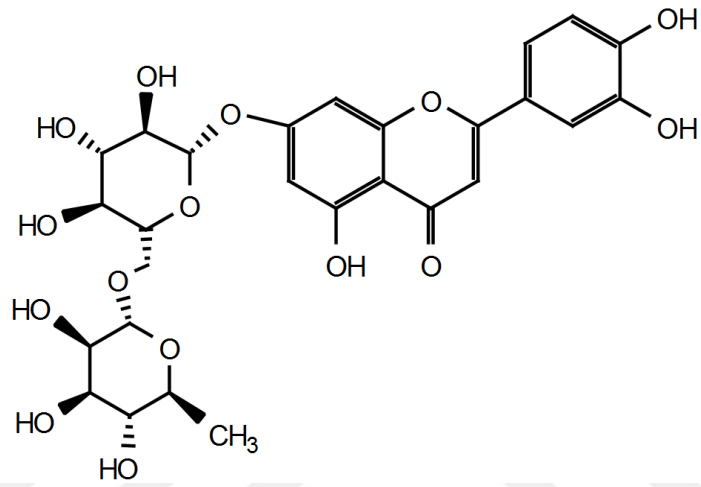
Şekil 4-12: Klorojenik Asit



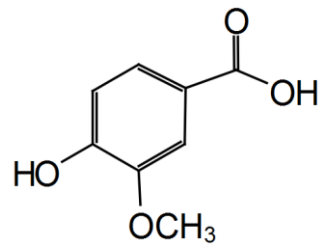
Şekil 4-13: Kafeik Asit



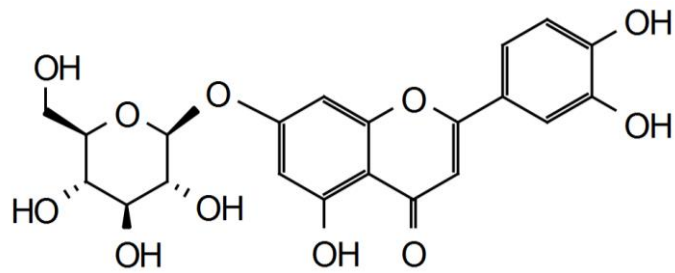
Şekil 4-14: (+)-*trans*-Taksifolin



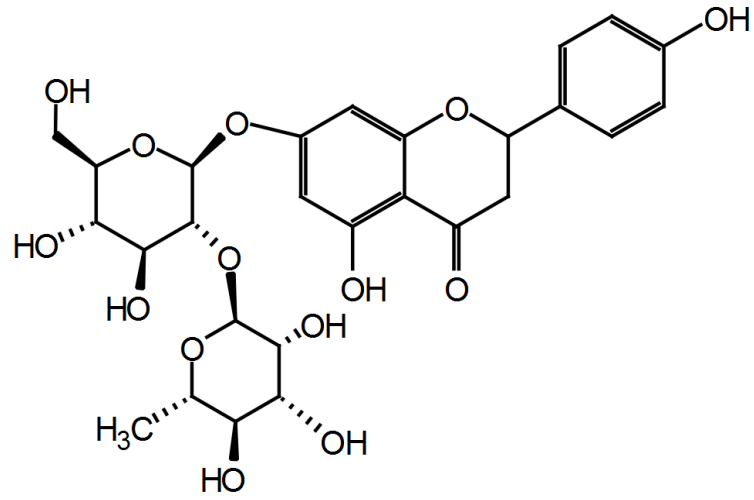
Şekil 4-15: Luteolin-7-rutinozit



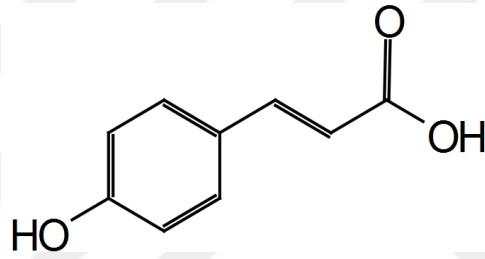
Şekil 4-16: Vanilik Asit



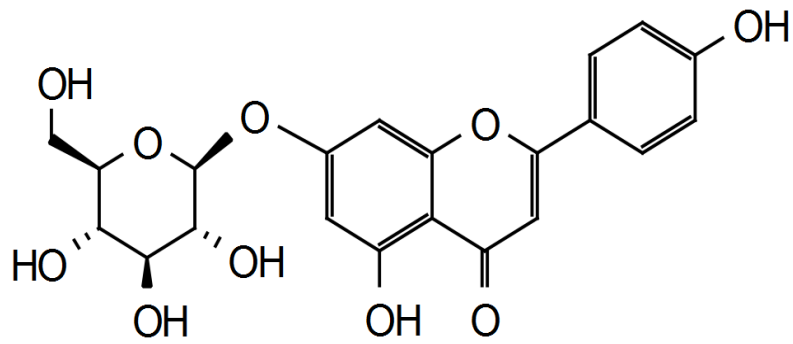
Şekil 4-17: Luteolin-7-glikozit



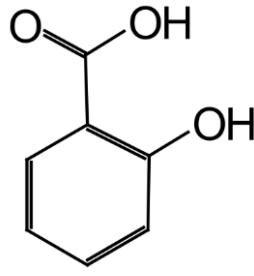
Şekil 4-18: Naringin



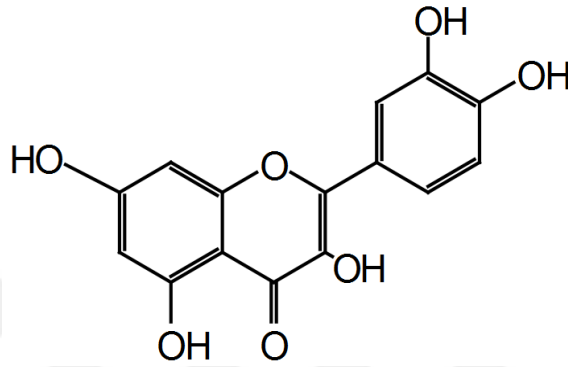
Şekil 4-19: p-Kumarik Asit



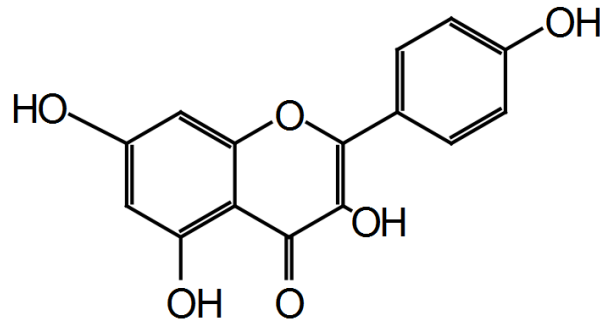
Şekil 4-20: Apigenin-7-glikozit



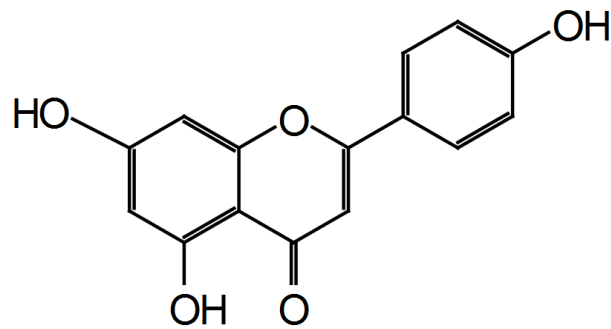
Şekil 4-21: Salisilik Asit



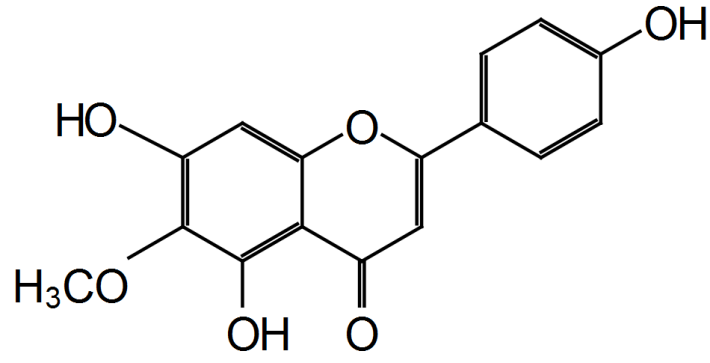
Şekil 4-22: Kersetin



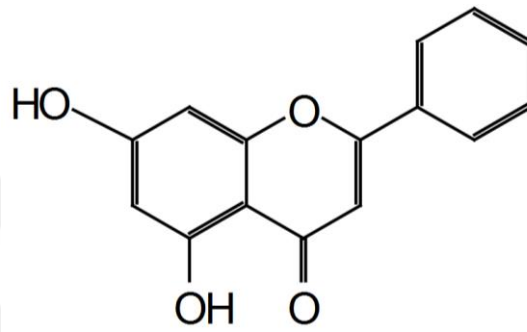
Şekil 4-23: Kemferol



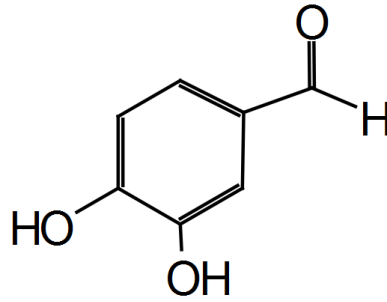
Şekil 4-24: Apigenin



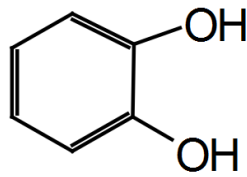
Şekil 4-25: Hispidulin



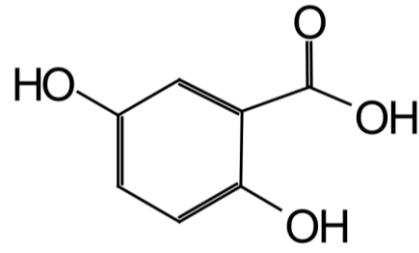
Şekil 4-26: Kresin



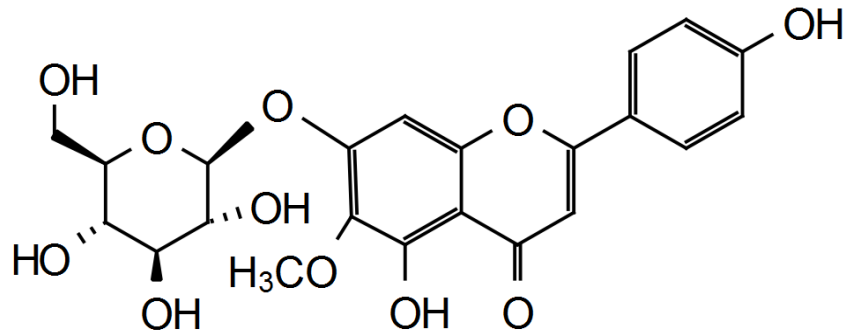
Şekil 4-27: 3,4-Dihidroksibenzaldehit



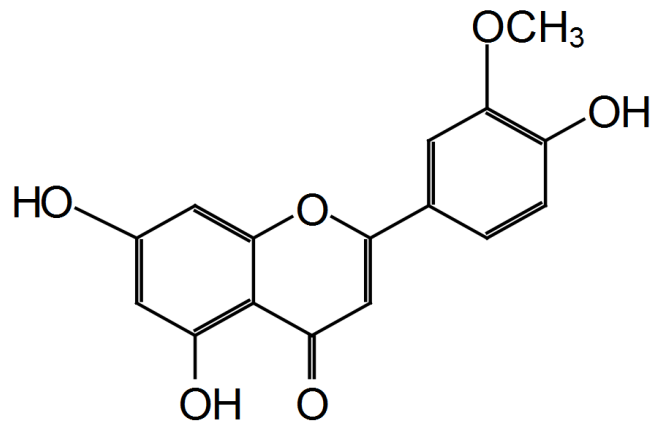
Şekil 4-28: Pirokateşol



Şekil 4-29: 2,5-Dihidroksibenzoik Asit

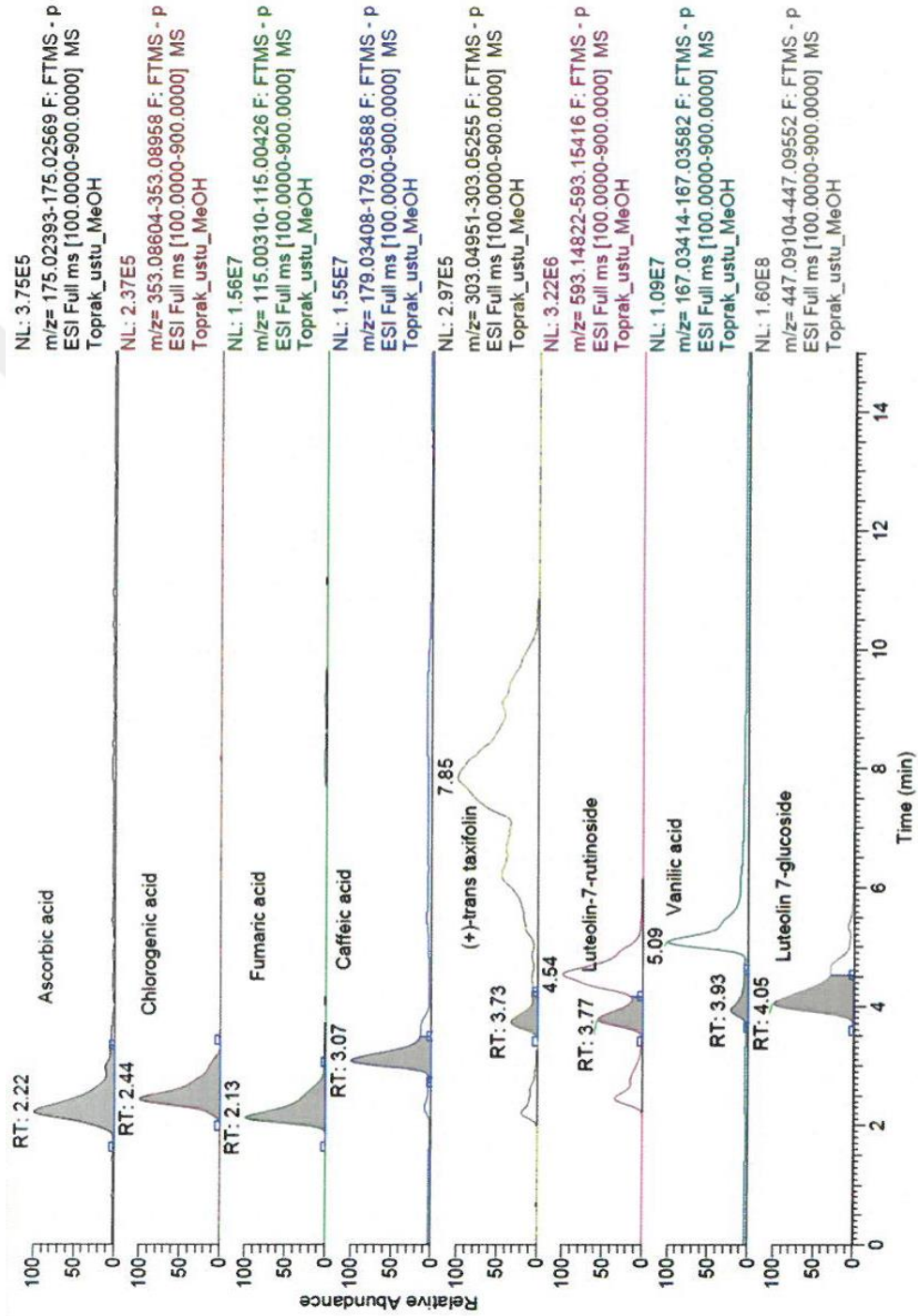


Şekil 4-30: Hispidulin-7-glikozit

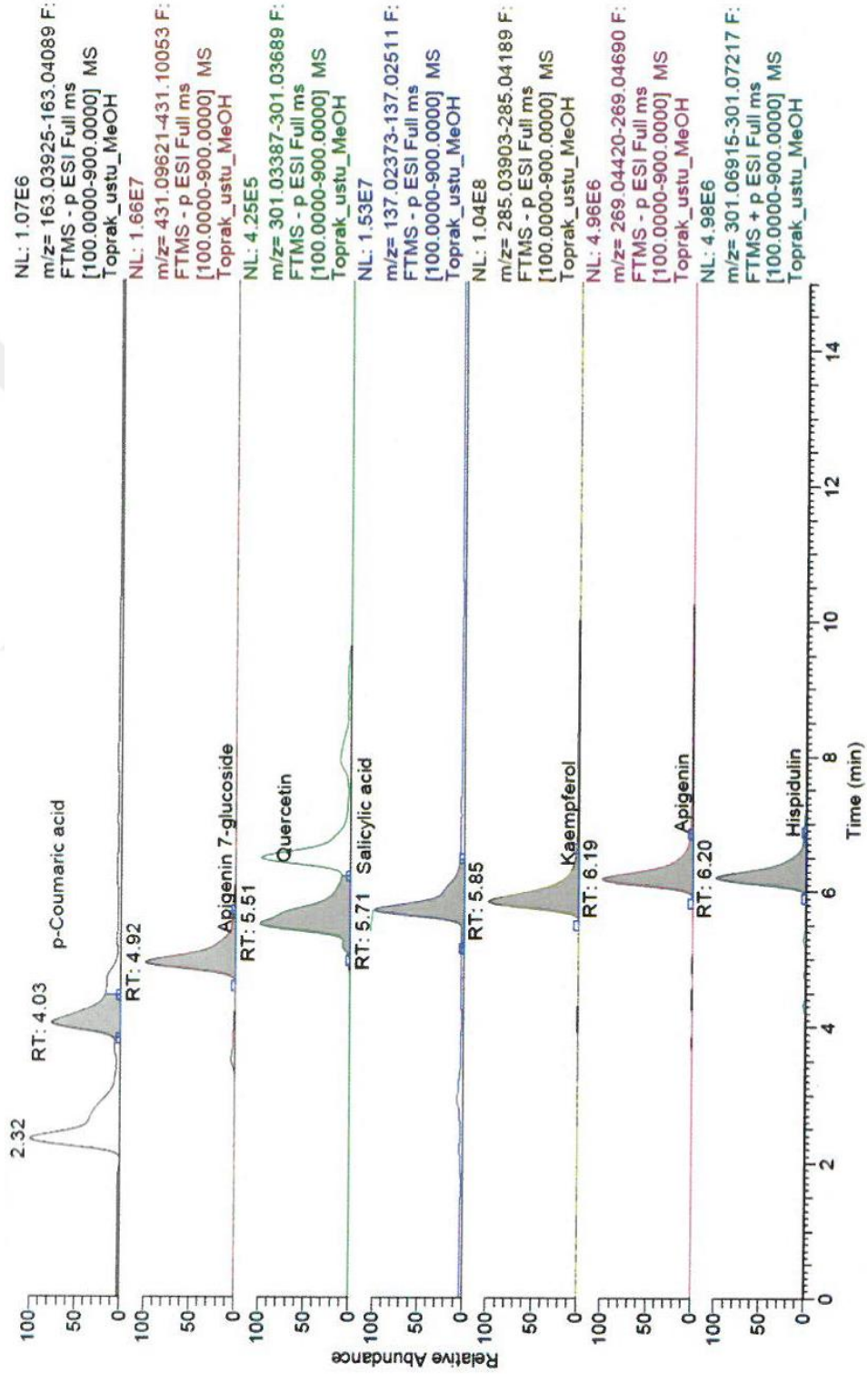


Şekil 4-31: Krioseriol

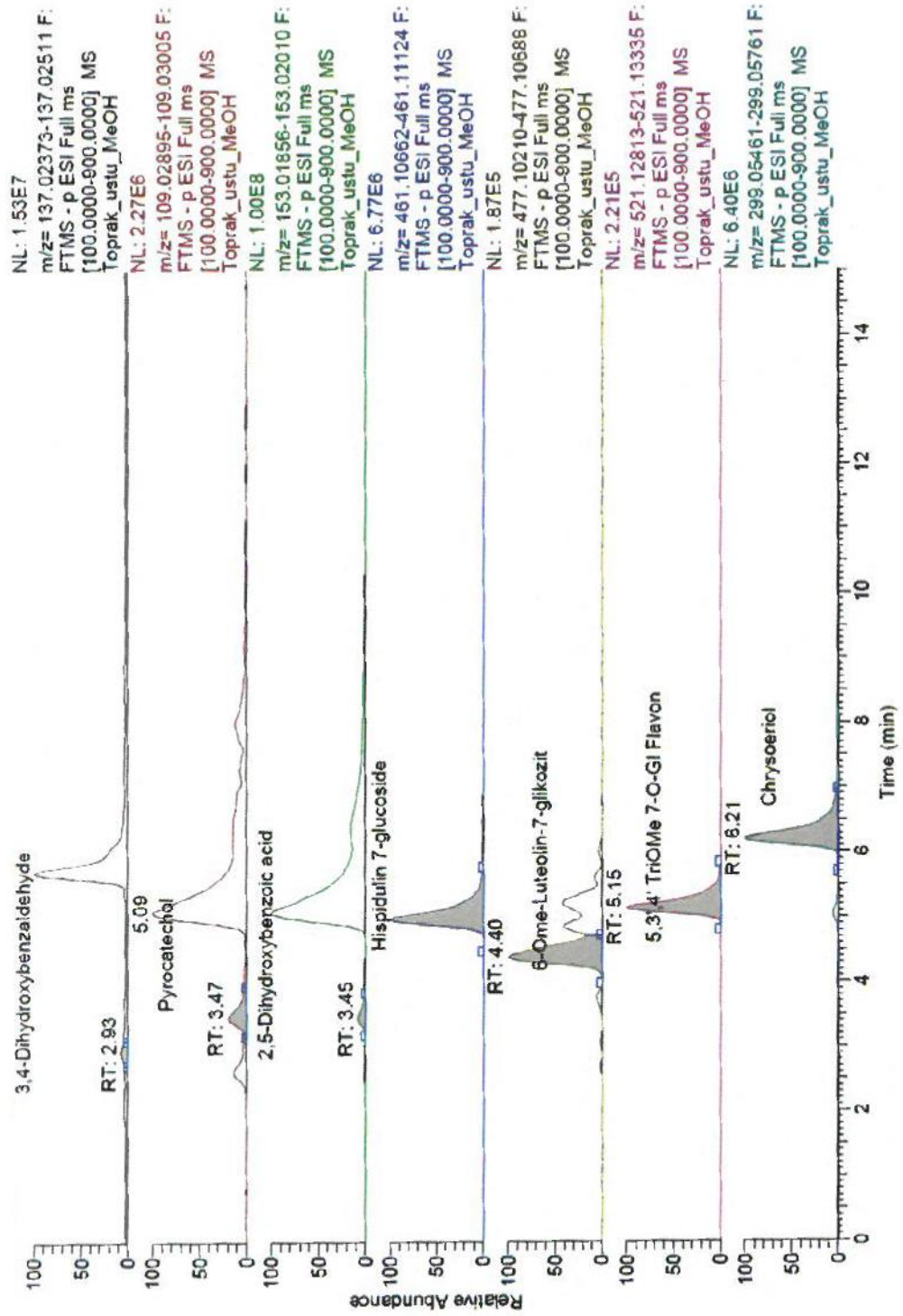
4.3.2. *C. variegatum* L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı



Şekil 4-32: *C. variegatum* L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-1

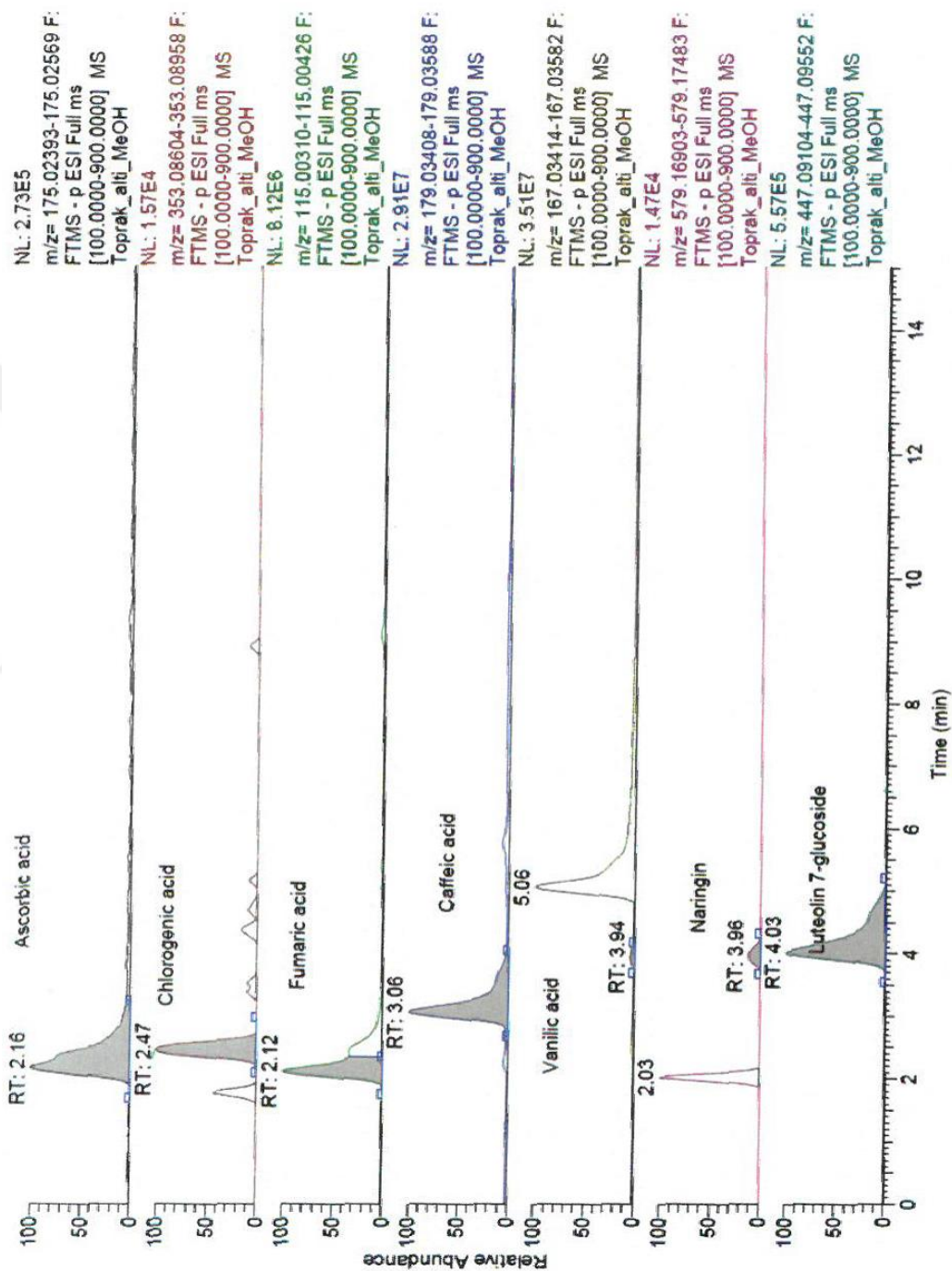


Şekil 4-33: *C. variegatum* L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-2

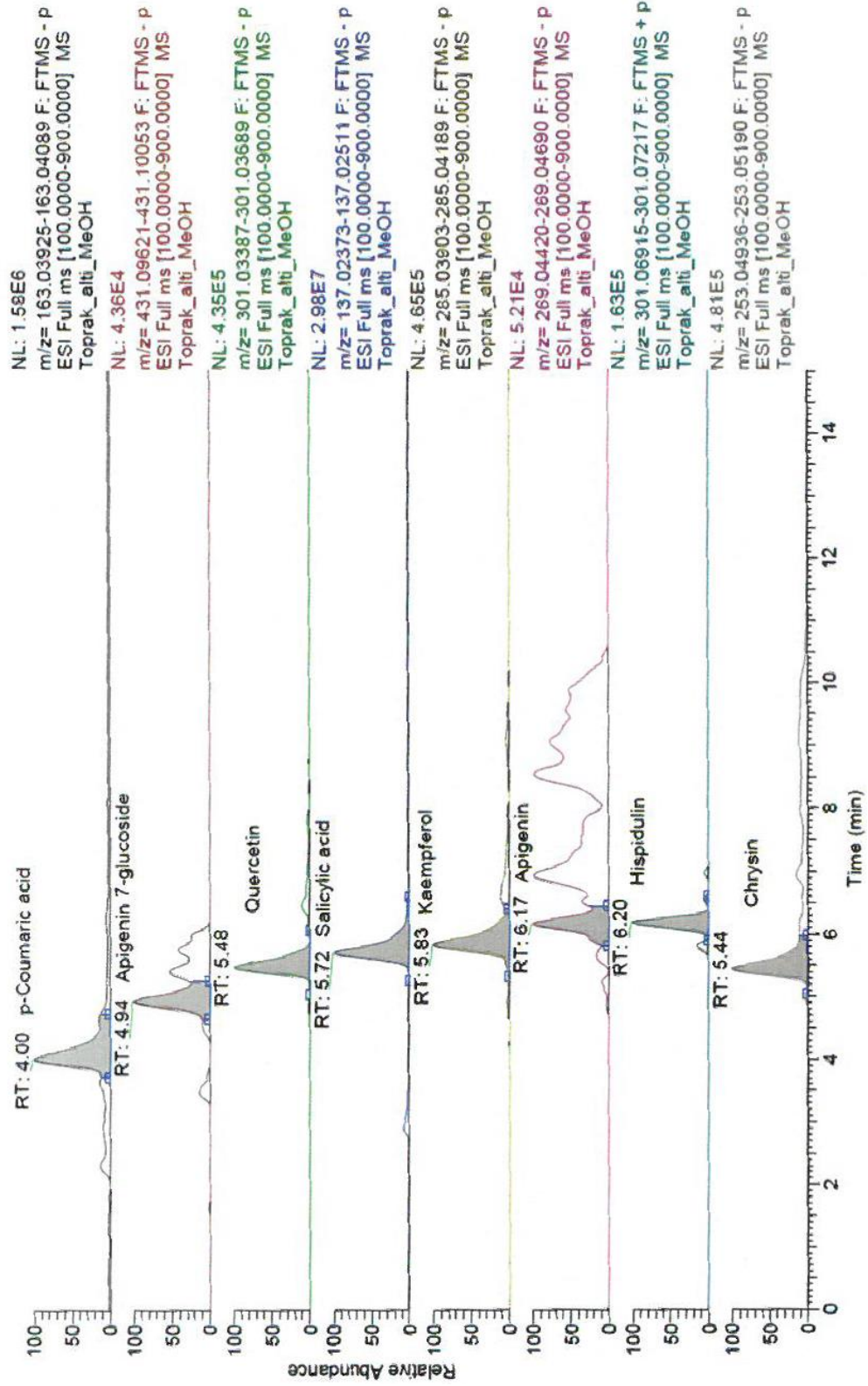


Şekil 4-34: *C. variegatum* L. Toprak Üstü Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-3

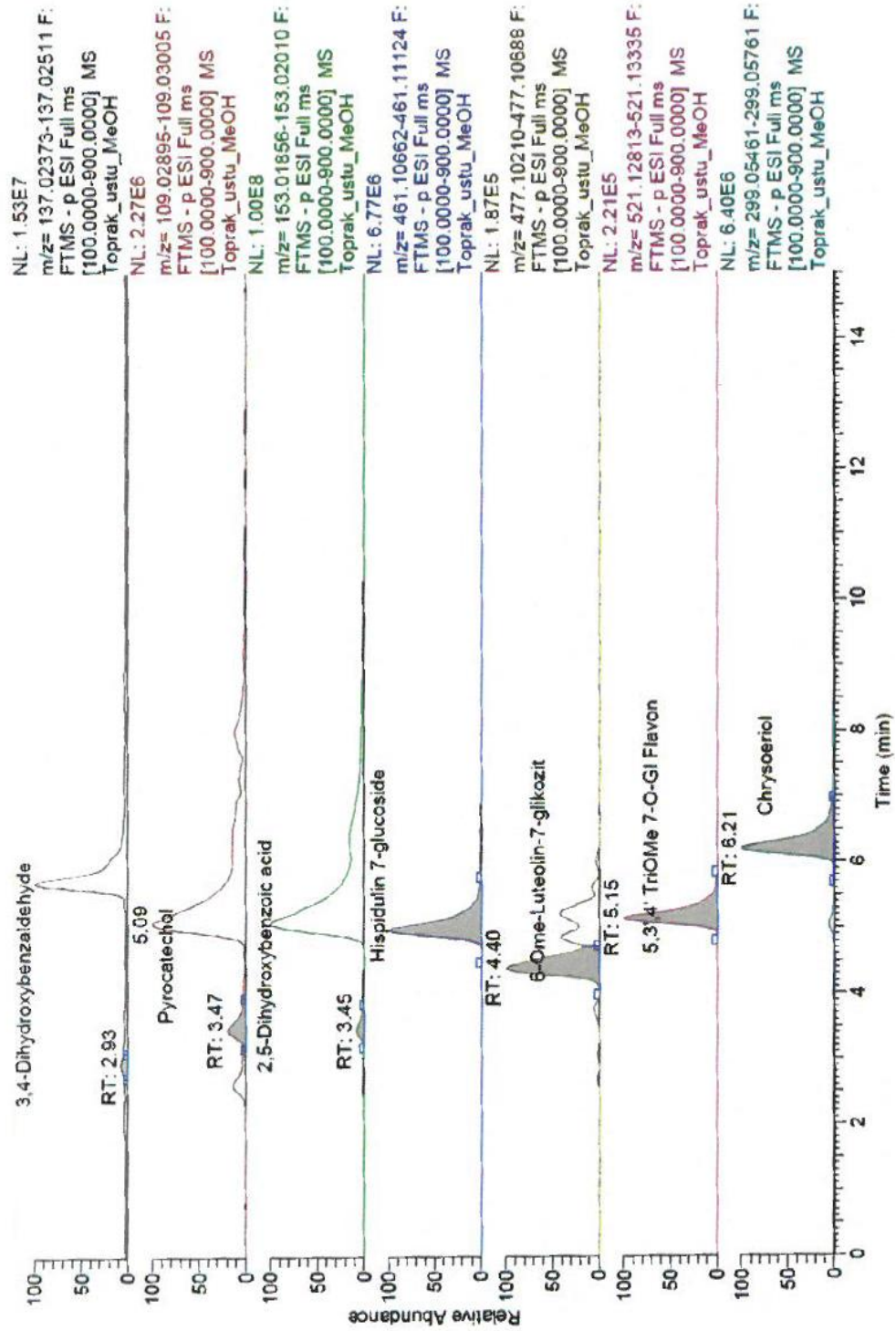
4.3.3. *C. variegatum* L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı



Şekil 4-35: C. variegatum L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-1



Şekil 4-36: *C. variegatum* L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-2



Şekil 4-37: *C. variegatum* L. Toprak Altı Metanol Ekstresi LC-HRMS Kromatogramı-3

4.4. *C. variegatum* L. Alkaloitlerinin Ayrılması, Saflaştırılması ve Elde Edilen Alkaloitlerin Yapılarının Aydınlatılması

Bitkinin toprak üstü (çiçek ve çiçek sapı) ve toprak altı (yumru) kısımları kurutulup toz edildikten sonra metanol ekstraktları elde edilmiştir. Metanol ekstraktlarından hareketle alkaloit tüketilmesi yapılmıştır. Ekstraksiyon sonucunda elde edilen nötral-fenolik ekstre (A ekstresi), bazik ekstre (B ekstresi) ve glikozidik ekstrenin (C ekstresi) miktarları Tablo 4-9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-9: *C. variegatum* L. Drog, Ekstre Miktarları ve Verimleri

	Toprak Üstü (Çiçek ve çiçek sapı) miktarı	Toprak Altı (Yumru) miktarı
Drog miktarı	36 g	248 g
Metanol ekstresi	842,46 mg *(820 mg)	19,45 g *(19,35 g)
Verim	% 2,34	% 7,84
A ekstresi	397,5 mg **(250 mg)	1,009 g **(892,5 mg)
B ekstresi	53 mg	36 mg
C ekstresi	32 mg	18 mg

*A, B ve C ekstraktlarının tüketmelerinde kullanılan miktarlar.

**Alkaloitlerin izolasyon çalışmalarında kullanılan miktarlar

4.4.1. *C. variegatum* L. A ve B ekstraktlarının İTK ile Çözücü Sistemlerinde Karşılaştırılmaları

C. variegatum L. türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen A ve B ekstraktları 1, 3 ve 4 no'lu çözücü sistemlerinde sırasıyla yürütülmüştür. Toprak altı kısımlarından elde edilen A ve B ekstraktları ise sırasıyla 1, 6, 7 ve 9 no'lu çözücü sistemlerinde karşılaştırılarak en uygun çözücü sistemi olarak 1 no'lu (Kloroform:Aseton: Dietilamin-5:4:1) çözücü sistemi seçilmiştir.

4.4.2. Alkaloitlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması

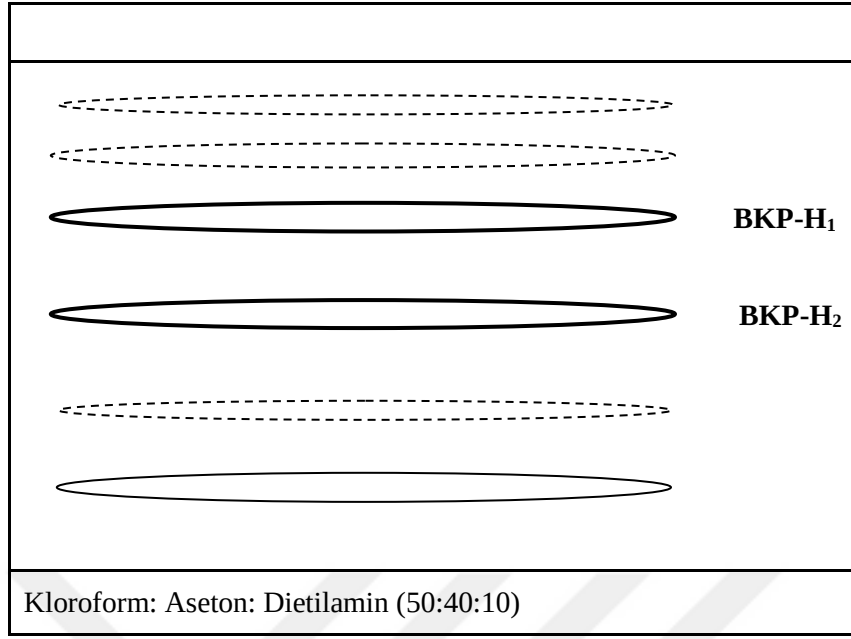
C. variegatum L. bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen A ekstreleri çalışılmıştır. Alkaloitler sütun kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri ile ayrılmış ve gerekli olduğu durumda saflaştırma işlemleri yine preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Ekstrelerden izole edilen ve saflaştırılan alkaloitlerin miktar ve saflık açısından en uygun olanlarının UV, ^1H NMR ve MS spektrumları yardımıyla yapıları aydınlatılmıştır. Elde edilen diğer alkaloitler, şahit maddeler ve yapıları aydınlatılan alkaloitler ile çeşitli çözücü sistemlerinde İTK yöntemi ile karşılaştırılmıştır.

4.4.2.1. Tü-A Ekstresi

250 mg toprak üstü nötral-fenolik ekstresi (Tü-A ekstresi) Kieselgel kaplı cam plaklar kullanılarak en iyi ayırım veren kloroform:aseton:diethylamin (5:4:1) çözücü sisteminde preparatif İTK uygulanmıştır. Bu çözücü sistemi ile A ekstresi (nötral-fenolik ekstre) üzerinde preparatif ince tabaka kromatografisi metodu ile saf maddeler elde edilmeye çalışılmıştır.

Minör alkaloitlerden 4 bant, majör alkaloitlerden 2 bant elde edilmiştir. Ancak minör alkaloitlerin miktarları az olduğundan ve karışım halinde olduklarından saflaştırılamamıştır. *C. variegatum* L. toprak üstü A ekstresinin (Tü-A) preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan bantları Şekil 4-40'ta gösterilmiştir. Ayrılan BKP-H₁ ve BKP-H₂ maddeleri kazınarak saflaştırmak için tekrar tekrar preparatif İTK uygulanmıştır.

1. banttan 7,2 mg (BKP-H₁), 2. banttan 12,9 mg (BKP-H₂) madde elde edilmiştir. Bu maddelerin çeşitli çözücü sistemlerinde karşılaştırılmaları, UV, ^1H NMR ve MS sonuçları incelenerek sırasıyla “kolşisin” ve “kolşifolin” olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4-40: Tü-A Ekstresinden Preparatif İTK ile Ayrılan Bantlar

4.4.2.2. Ta-A Ekstresi

892,5 mg toprak altı nötral-fenolik ekstresi (Ta-A ekstresi) Silikajel 60 kullanılarak yaş usulde sütun kromatografisine tabi tutulmuştur. Kullanılan çözücü sistemi, oranları ve benzer fraksiyonların birleştirilmesi ile elde edilen bakiye miktarları Tablo 4-10'da verilmiştir. Fraksiyonların Carr-Price reaktifi ile leke verip vermediği kontrol edilerek fraksiyonlara preparatif ince tabaka kromatografisi uygulanmıştır.

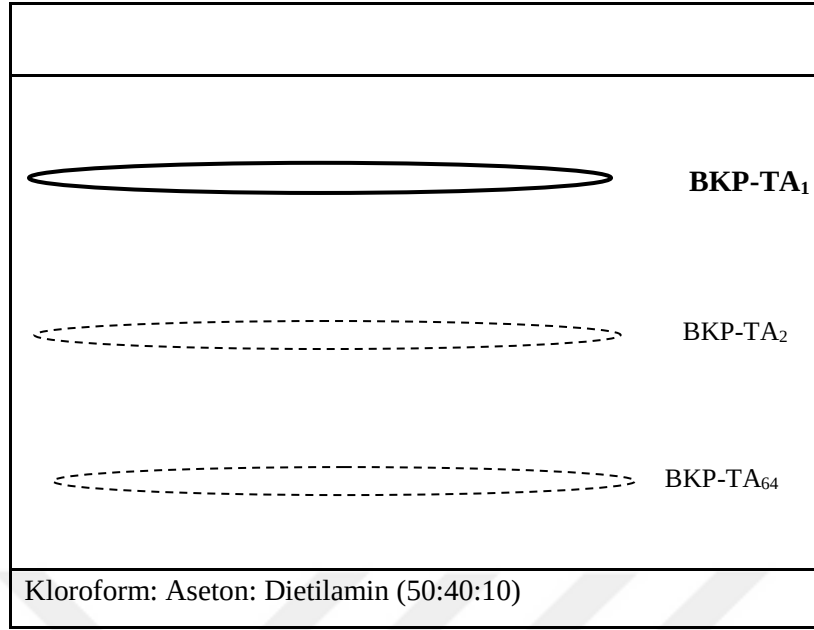
Fr₄₀₋₄₇ (29 mg) ve Fr₄₈₋₅₀ (21,2 mg) birleştirilerek 1 no'lu çözücü sisteminde preparatif İTK yapılmıştır. BKP-TA₁ maddesi kazınarak saflaştırmak amacıyla aynı çözücü sisteminde tekrar preparatif İTK uygulanmıştır. BKP-TA₁ kodlu maddenin İTK karşılaştırmaları, UV, ¹H NMR, MS spektrumları incelenerek maddenin “kolşisin” (10,8 mg) olduğu belirlenmiştir. 1 no'lu çözücü sistemindeki kromatogram Şekil 4-41'de gösterilmiştir. Şekil 4-41'de gösterilen iki minör alkaloidin miktarı az olduğundan elde edilememiştir.

Tablo 4-10: Kullanılan Çözücü Sistemi, Oranları ve Benzer Fraksiyonların Birleştirilmesi ile Elde Edilen Bakiye Miktarları

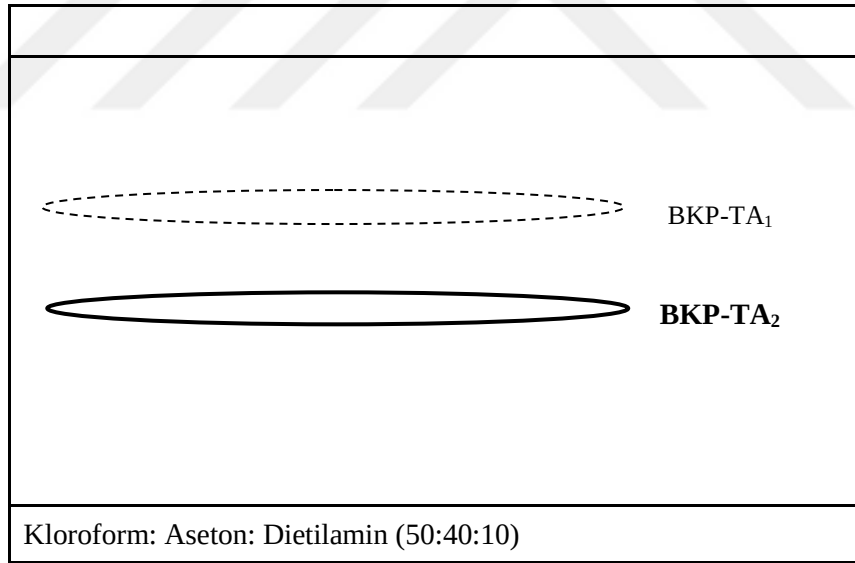
Çözücü Sistemi	Oran	Birleştirilen Fraksiyonlar (Fr)	Miktar
Diklorometan	100	1-12	79,5 mg
Diklorometan:Metanol	99:1	13-15 16-23	15,3 mg 8,5 mg
Diklorometan:Metanol	98:2	24-27 28-29 30-31	115,6 mg 110,9 mg 125,3 mg
Diklorometan:Metanol	96:4	32-36 37-39 40-47 48-50 51-55 56-63 64-67 68-105	10,3 mg 2,4 mg 29 mg 21,2 mg 29,8 mg 21,7 mg 5,4 mg 30,5 mg
Diklorometan:Metanol	95:5	106-110	3,2 mg
Diklorometan:Metanol	90:10	111-114	14,5 mg
Diklorometan:Metanol	80:20	115-116	10 mg
Diklorometan:Metanol	70:30	117-119	5,2 mg
Diklorometan:Metanol	60:40	119-122	3,2 mg
Diklorometan:Metanol	50:50	122-125	2,9 mg
Metanol	100	125-127	0,4 mg

Fr₅₆₋₆₃ (24,4 mg) ve Fr₆₄₋₆₇ (5,4 mg) 1 no'lu çözücü sisteminde preparatif İTK ile bantlara ayrılmıştır. Elde edilen BKP-TA₂ no'lu (8,4 mg) maddenin İTK karşılaştırmaları, UV, ¹H NMR, MS spektrumları incelenerek “kolşifolin” olduğu saptanmıştır. 1 no'lu çözücü sistemindeki kromatogram Şekil 4-42’de gösterilmiştir.

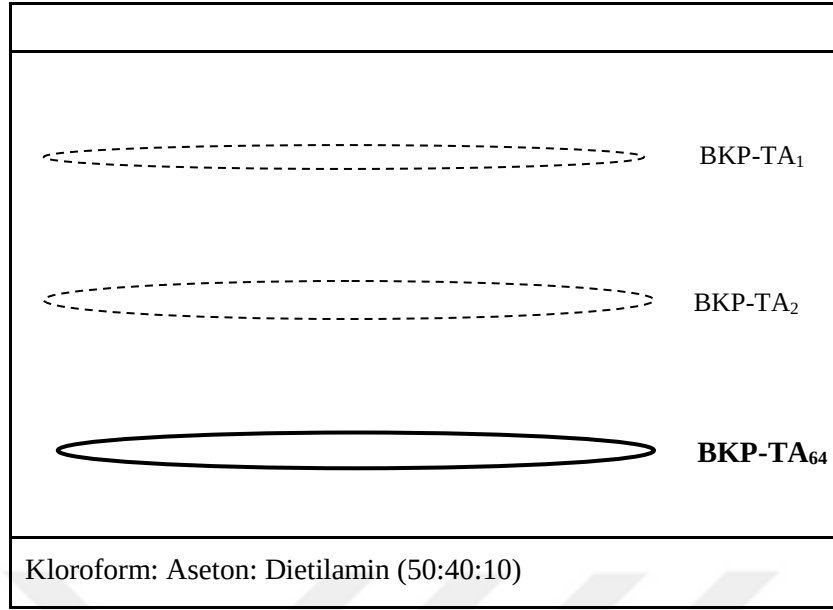
Fr₆₈₋₁₀₅ (30,5 mg) 1 no'lu çözücü sisteminde preparatif İTK uygulanmıştır. İzole edilen BKP-TA₆₄ (5,6 mg) kodlu maddenin İTK karşılaştırmaları, UV, ¹H NMR, MS spektrumları incelenerek maddenin “2-demetilkolşisin” olduğu belirlenmiştir. 1 no'lu çözücü sistemindeki kromatogram Şekil 4-43’te gösterilmiştir.



Şekil 4-41: Birleştirilen Fr₄₀₋₄₇ ve Fr₄₈₋₅₀'nin Preparatif İnce Tabaka Kromatogramı



Şekil 4-42: Birleştirilen Fr₅₆₋₆₃ ve Fr₆₄₋₆₇ Preparatif İnce Tabaka Kromatogramı



Şekil 4-43: Fr₆₈₋₁₀₅ Preparatif İnce Tabaka Kromatogramı

4.4.3. Yapısı Aydınlatılan Alkaloidlerin Rf Değerleri

C. variegatum L. türünden izole edilib yapısı aydınlatılan alkaloidlerin Rf değerleri Tablo 4-11’de verilmiştir. Tablo 3-2’deki 2, 3, 4 ve 7 numaralı çözücü sistemleri kullanılmıştır.

Tablo 4-11: *C. variegatum* L. Türünden İzole Edilen Alkaloidlerin Rf Değerleri

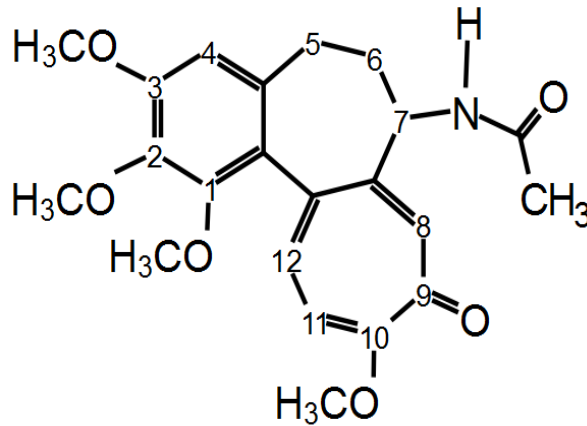
İzole Edilen Alkaloid	Çözücü sistemleri			
	2	3	4	7
BKP-TA ₁ BKP-H ₁ (Kolşisin)	0,46	0,55	0,40	0,65
BKP-TA ₆₄ (2-demetilkolşisin)	0,23	0,27	0,21	0,16
BKP-TA ₂ BKP-H ₂ (Kolşifolin)	0,39	0,32	0,23	0,32

4.4.4. Renk Reaksiyonları

C. variegatum L. türünden elde edilen alkaloidler UV_{254} nm dalga boyunda mor renk vermektedir. Kolşisin (BKP-TA₁ ve BKP-H₁), 2-demetilkolşisin (BKP-TA₆₄), kolşifolin (BKP-TA₂ ve BKP-H₂) alkaloidleri Carr-Price reaktifi ile parlak sarı; Dragendorff reaktifi ile kolşisin turuncu ve diğer alkaloidler sarı-turuncu renk vermektedir.

4.4.5. Elde Edilen Alkaloidlerin Yapılarının Aydınlatılması

4.4.5.1. Kolşisin (BKP-TA₁ ve BKP-H₁ Kodlu Alkaloidler)



Şekil 4-44: Kolşisin (BKP-TA₁ ve BKP-H₁ Kodlu Alkaloidler)

- **IUPAC İsimlendirmesi:**

“N-5,6,7,9-tetrahidro-1,2,3,10-tetrametoksi-9-oksobenzo(a)heptalen-7-il-(S)-asetamit”

- **Kapalı Formülü:** C₂₂H₂₅NO₆

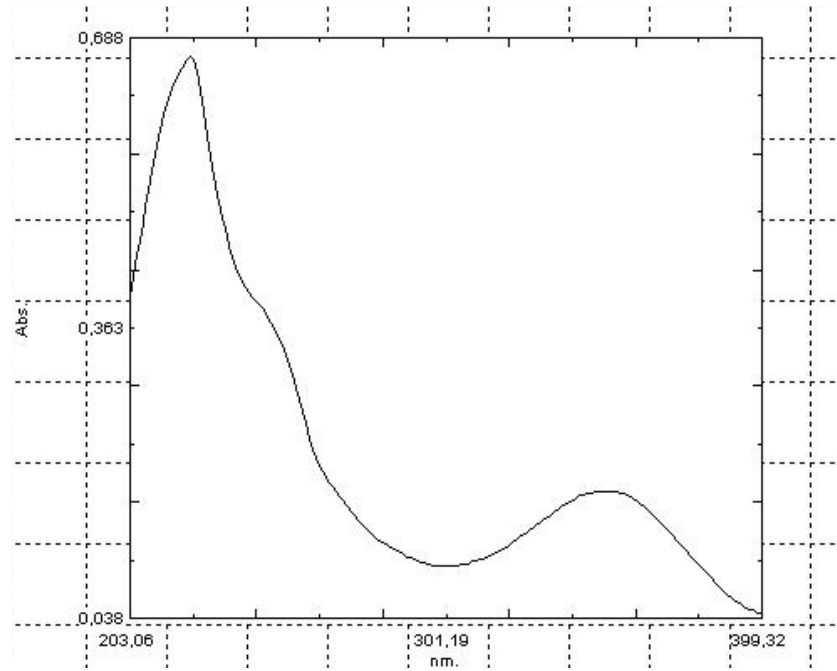
- **UV Spektrumu Değerleri:** λ_{max} (MeOH): 352 nm

UV_{254} : Koyu mor renk

- **Kütle Spektrumu:** $[M+1]^+ = 400,1777$

Tablo 4-12: BKP-TA₁ Alkaloitine ait ¹H NMR Değerleri

Konum ve Grup	δ H (ppm)
1. C (-OCH ₃)	3,64 (s, 3H)
2. C (-OCH ₃)	3,91 (s, 3H)
3. C (-OCH ₃)	3,94 (s, 3H)
4. C (H)	6,55 (s, 1H)
5. C (H)	2,53 (m, 2x1H)
6. C (H)	2,32 (m, 2x1H)
7. C (H)	4,70 (m, 1H)
7. C (-NCOCH ₃)	2,02 (s, 3H)
7. C (-NH)	7,87 (geniş d, 1H)
8. C (H)	7,72 (s, 1H)
10. C (-OCH ₃)	4,05 (s, 3H)
11. C (H)	7,49 (d, 1H) <i>J</i> : 10,8 Hz
12. C (H)	7,01 (d, 1 H) <i>J</i> : 10,9 Hz

Şekil 4-45: BKP-TA₁ UV Spektrumu

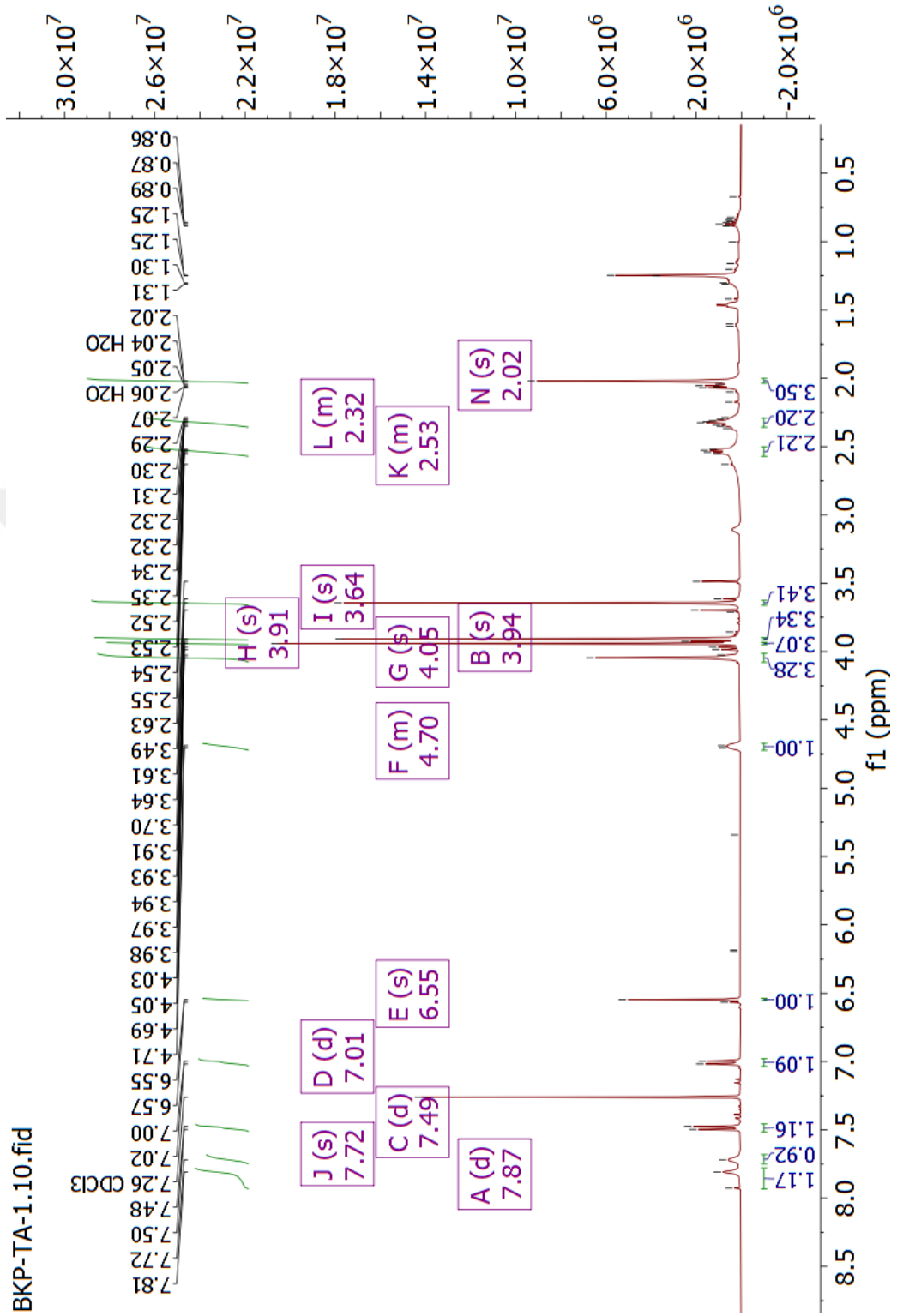
C. variegatum L. toprak üstü A ekstresinden elde edilen BKP-H₁ ve toprak altı A ekstresinden elde edilen BKP-TA₁ kodlu maddelerin ¹H NMR spektrumlarının aynı olduğu belirlenmiştir. ¹H NMR spektrumları analiz edildiğinde 3,5-4,2 ppm aralığında 3H değerinde singlet olarak 1, 2, 3, ve 10. karbonlara bağlı bulunan metoksi pikleri görülür. Gölgeleme etkisinden dolayı yukarı alandan aşağı alana doğru sırasıyla 1. C (3,64 ppm), 2. C (3,91 ppm), 3. C (3,94 ppm) ve 10.C atomlarına (4,05 ppm) bağlı -OCH₃ protonları olarak karşımıza çıkmaktadır. 6-8 ppm arasında aromatik bölgelerdeki protonlara ait pikler görülür.

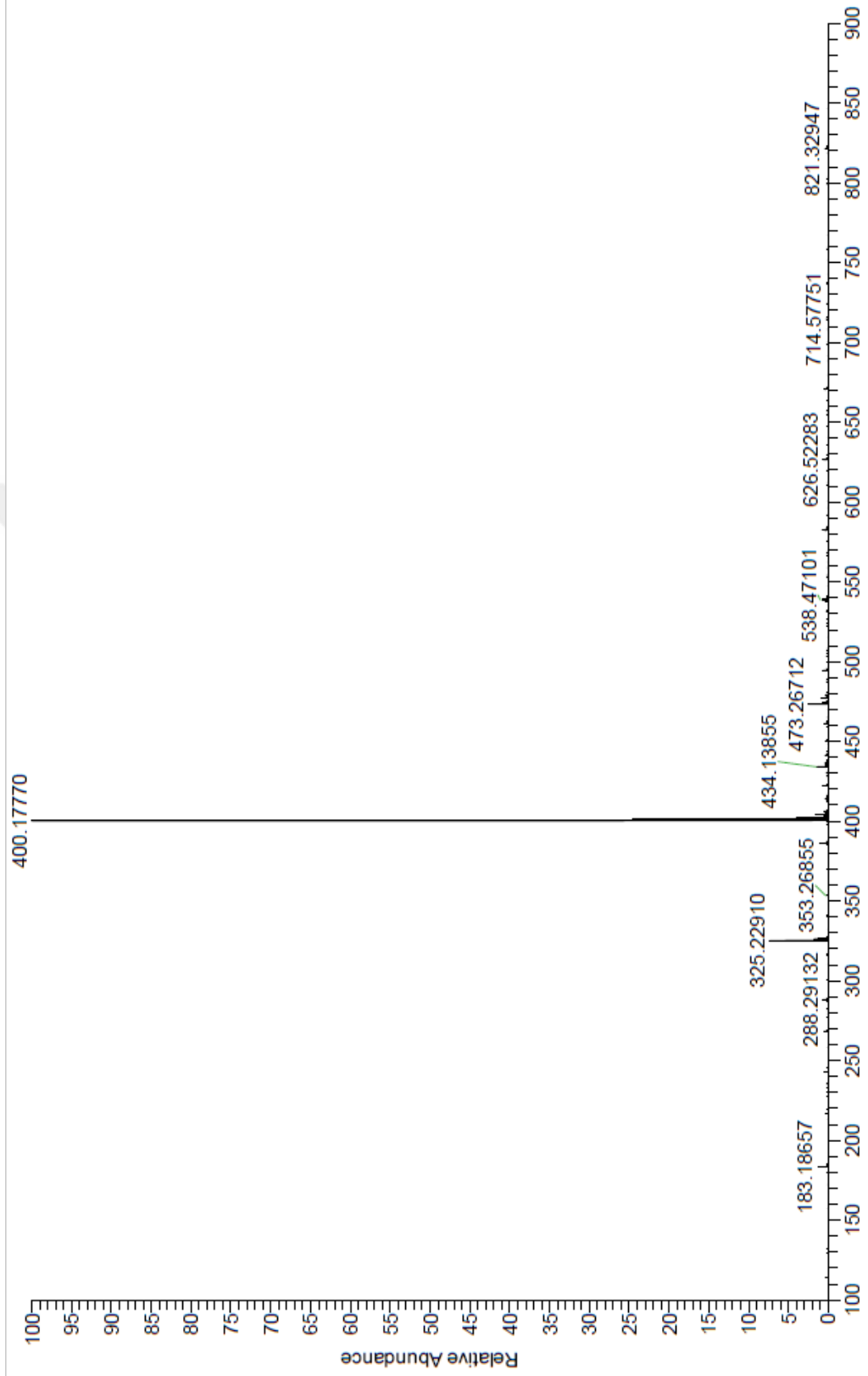
Aromatik benzen halkasındaki 4. C atomuna bağlı hidrojen molekülü 6,55 ppm'de 1 H değerinde singlet; tropolon halkasındaki 8. C atomuna bağlı hidrojen molekülü ise 7,72 ppm'de singlet olarak gözlenmiştir. 11 ve 12. C atomlarına bağlı protonlar 7,49 ppm'de dublet (*J*: 10,8 Hz) ve 7,01 ppm'de (*J*: 10,9 Hz) dublet olarak görünmektedir. *J* değerlerinden yola çıkılarak bu protonların birbiriyle etkileşim halinde oldukları ortaya çıkmaktadır.

7. C atomuna bağlı hidrojen piki 4,70 ppm'de 1H değerinde multipler; 7. C atomuna bağlı olan asetamid grubundaki -OCH₃ piki 2,02 ppm'de 3H değerinde singlet ve 7. C atomuna bağlı -NH grubunun piki ise 7,87 ppm'de geniş dublet olarak görünmektedir. Sikloheptan halkasındaki 5 ve 6. C atomlarına ait protonlar 2,53 ve 2,32 ppm'de multipler şeklinde pik vermiştir.

Maddelerin kütle spektrumunda (M+1)⁺ piki 400,1777 olarak belirlenmiştir.

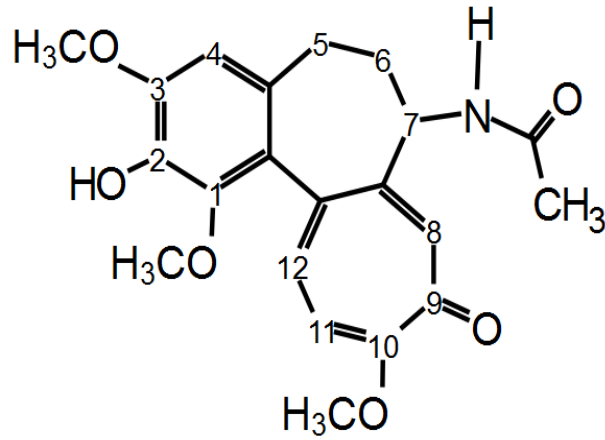
Elde edilen BKP-TA₁ ve BKP-H₁ alkaloidlerinin yapıları, referans madde ile R_f değerlerinin karşılaştırılması, UV, ¹H NMR ve kütle spektrumları değerlendirilmiş ve bu maddelerin “Kolşisin” olduğu belirlenmiştir. UV, ¹H NMR ve kütle spektrumları sırasıyla Şekil 4-45, Şekil 4-46 ve Şekil 4-47’de verilmiştir.

Şekil 4-46: BKP-TA₁ ¹H NMR Spektrumu



Şekil 4-47: BKP-TA₁ Kütle Spektrumu

4.4.5.2. 2-Demetilkolşisin (BKP-TA₆₄ Alkaloiti)

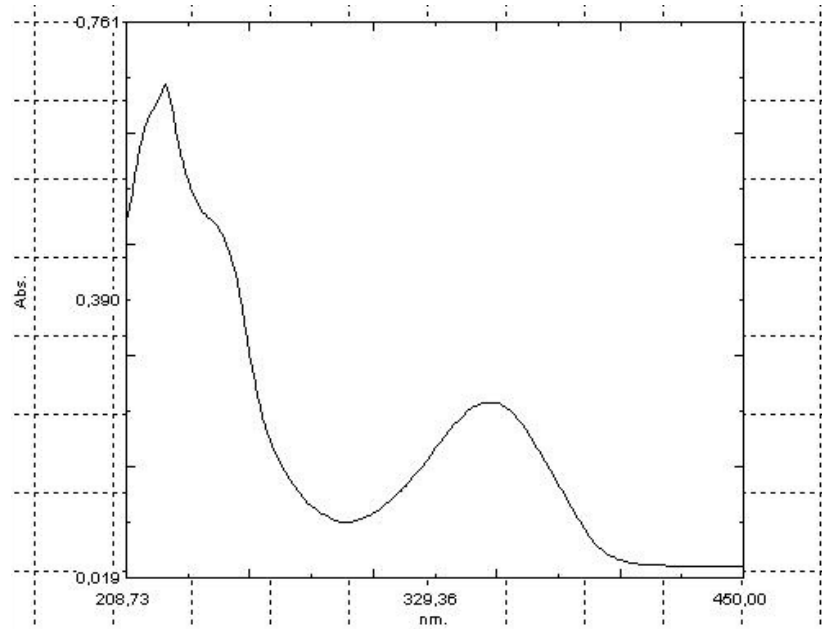


Şekil 4-48: 2-demetilkolşisin (BKP-TA₆₄ Alkaloiti)

- **IUPAC İsimlendirmesi:**
“N-5,6,7,9-tetrahidro-2-hidroksi-1,3,10-tetrametoksi-9-oksobenzo(a)heptalen-7-il-(S)-asetamit”
- **Kapalı Formülü:** C₂₁H₂₃NO₆
- **Renk Reaksiyonları:** Gün ışığında silikajel plakta sarı renk
- **UV Spektrumu Değerleri:** λ max (MeOH): 352 nm
UV₂₅₄: Koyu mor renk
- **Kütle Spektrumu:** [M+1]⁺ = 386,16196

Tablo 4-13: BKP-TA₆₄ Alkaloitine ait ¹H NMR Değerleri

Konum ve Grup	δH (ppm)
1. C (-OCH ₃)	3,63 (s, 3H)
3. C (-OCH ₃)	4,01 (s, 3H)
4. C (H)	6,59 (s, 1H)
5. C (H)	2,32 (m, 2x1H)
6. C (H)	2,49 (m, 2x1H)
7. C (H)	4,67 (m, 1H)
7. C (-NCOCH ₃)	2,02 (s, 3H)
7. C (-NH)	7,31 (s, 1H)
8. C (H)	7,56 (s, 1H)
10. C (-OCH ₃)	4,00 (s, 3H)
11. C (H)	7,36 (d, 1H) J: 11 Hz
12. C (H)	6,91 (d, 1H) J: 11 Hz

Şekil 4-49: BKP-TA₆₄ UV Spektrumu

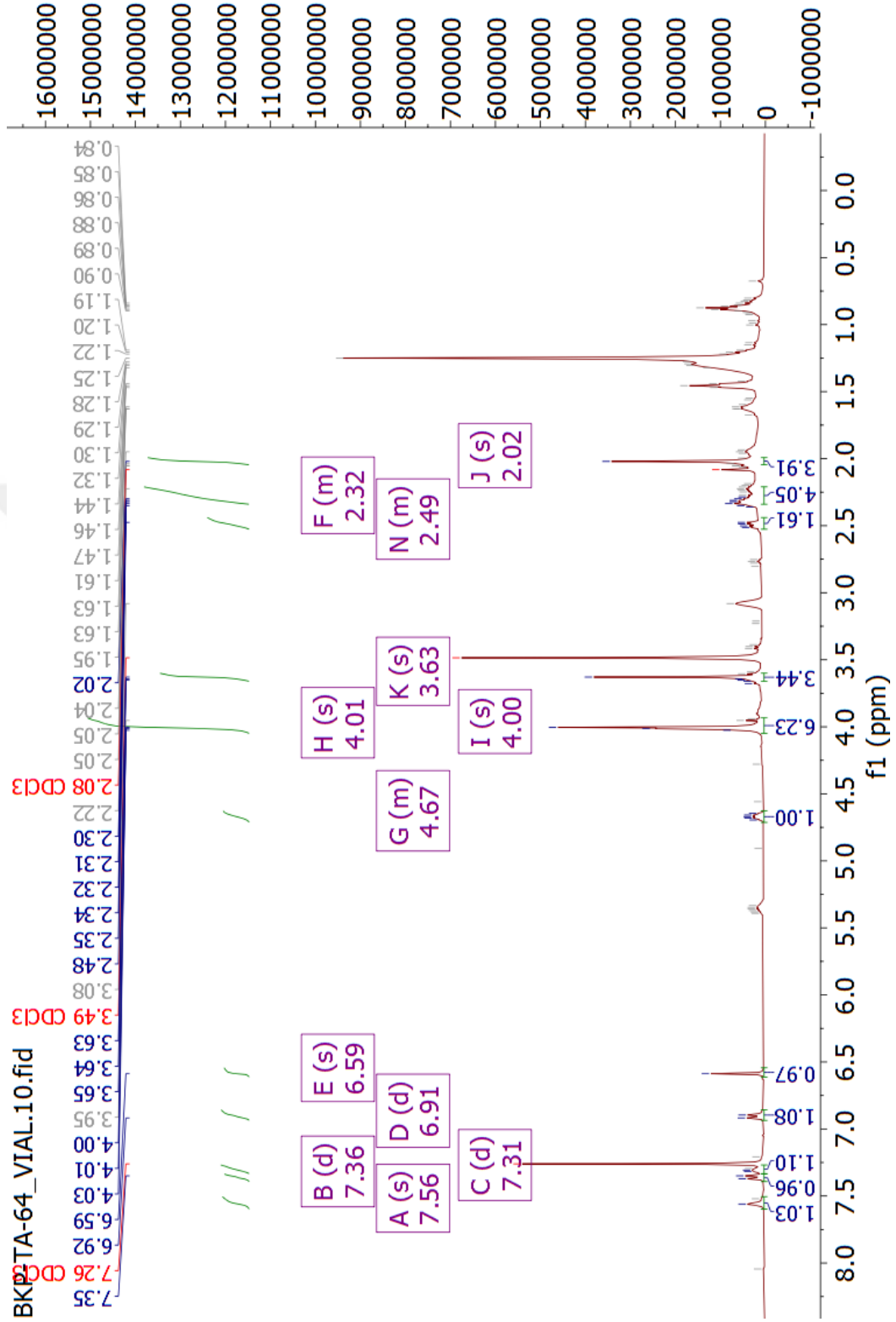
C. variegatum L. toprak altı A ekstresinden elde edilen BKP-TA₆₄ kodlu maddenin UV, ¹H NMR ve kütle spektrumu incelenmiştir.

Moleküldeki -OCH₃ pikleri 3,5-4,0 ppm arasında 3H değerinde singlet olarak çıkmaktadır. NMR spektrumunda 3,5-4,0 ppm arasında 3 tane singlet gözükmemektedir. Bu da 1, 2, 3 ve 10. karbon atomlarından birinde -OCH₃ piklerinin olmadığı anlamına gelmektedir. Spektrum incelendiğinde 2. karbon atomuna bağlı -OCH₃ pikleri görünmemekte; 1. karbon atomuna bağlı -OCH₃ protonları 3,63 ppm'de 3 H değerinde singlet olarak; 3. C atomuna bağlı -OCH₃ protonları 4,01 ppm'de ve 10. karbon atomuna bağlı -OCH₃ protonları 4,00 ppm'de singlet olarak iç içe geçmiş halde görünmektedir.

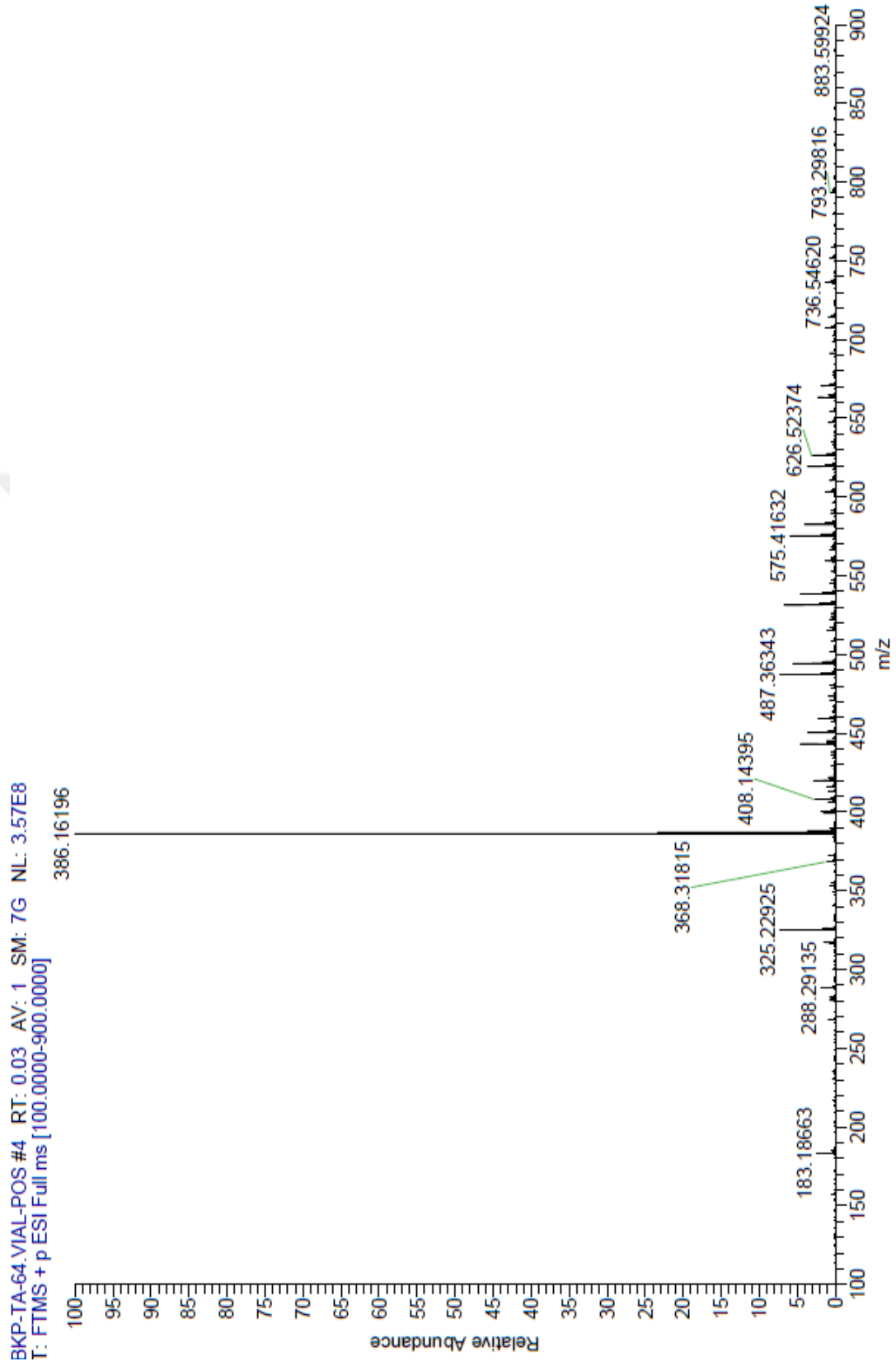
Aromatik sahada 4, 8, 11 ve 12. karbonlara bağlı proton pikleri bulunmaktadır. 4. karbon atomuna bağlı hidrojen 6,59 ppm'de ve 8.karbon atomuna bağlı hidrojen 7,56 ppm'de singlet olarak; 11. C atomuna bağlı proton 6,91 ppm'de (*J*: 11 Hz) ve 12. C atomuna bağlı proton 7,36 ppm'de (*J*: 11 Hz) dubletler şeklinde gözlenmiştir.

7. karbona ait proton 4,67 ppm civarında multipler; 7. karbon atomuna bağlı -NCOCH₃ piki 3H değerinde 2,02 ppm'de singlet ve -NH piki 7,31 ppm'de singlet olarak görünmektedir. 5. karbon atomuna bağlı protonların pikleri 2,32 ppm'de multipler, 6 .karbona ait protonların pikleri ise 2,49 ppm'de multipler çıkmaktadır.

Elde edilen maddenin kütle spektrumunda (M+1)⁺ piki 386,16196 olarak belirlenmiştir. Elde edilen BKP-TA₆₄ alkaloidinin yapısı çeşitli çözücü sistemlerinde R_f değerleri ile literatür bilgileri ile karşılaştırılması; UV spektrumu, ¹H NMR spektrumu ve kütle spektrumunun yorumlanması sonucunda bu maddenin “2-demetilkolşisin” olduğu anlaşılmıştır. 2-demetilkolşisin'e (BKP-TA₆₄ alkaloidi) ait UV spektrumu, ¹H NMR spektrumu ve kütle spektrumu sırasıyla Şekil 4-49, Şekil 4-50 ve Şekil 4-51'de verilmiştir.

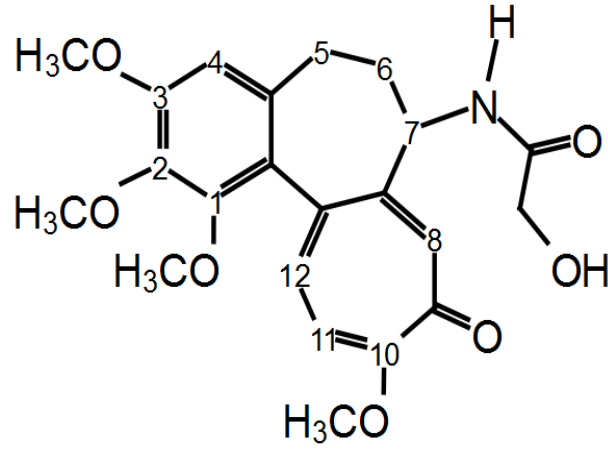


Şekil 4-50: BKP-TA₆₄ ¹H NMR Spektrumu



Şekil 4-51: BKP-TA₆₄ Kütle Spektrumu

4.4.5.3. Kolşifolin (BKP-TA₂ ve BKP-H₂ Kodlu Alkaloitler)



Şekil 4-52: Kolşifolin (BKP-TA₂ ve BKP-H₂ Alkaloitleri)

- **IUPAC İsimlendirmesi:**

“(S)-1,2,3,10-tetrametoksi-9-okso-5,6-dihidro-5H-benzo[a]heptalen-7-il)asetamit”

- **Kapalı Formülü:** C₂₂H₂₅NO₇

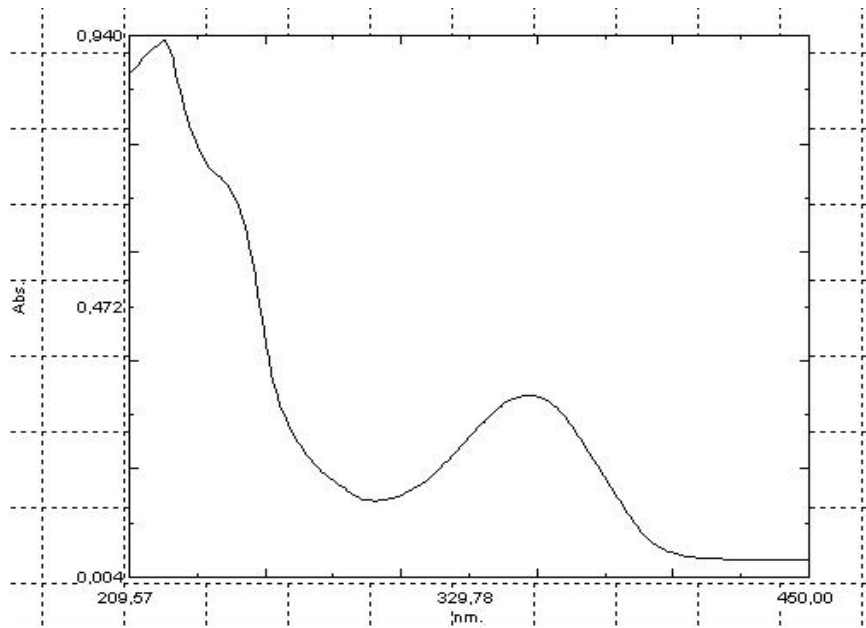
- **UV Spektrumu Değerleri:** λ max (MeOH) 349 nm, 222 nm

UV₂₅₄: Koyu mor renk

- **Kütle Spektrumu:** [M+1]⁺ = 416,17258

Tablo 4-14: BKP-TA₂ Alkaloitine ait ¹H NMR Değerleri

Konum ve Grup	δ H (ppm)
1. C (-OCH ₃)	3,64 (s, 3H)
2. C (-OCH ₃)	3,90 (s, 3H)
3. C(-OCH ₃)	3,94 (s, 3H)
4. C (H)	6,55 (s, 1H)
5. C (H)	2,40-2,56 (m, 2x1H)
6. C (H)	1,99-2,30 (m, 2x1H)
7. C (H)	4,71 (m, 1H)
7. C (-NCOCH ₂ -)	4,17 (d, 1H), 4,03 (d, 1H) <i>J</i> : 16 Hz
7. C (-NH)	7,74 (d, 1H)
8. C (H)	7,74 (d, 1H)
10. C (-OCH ₃)	4,03 (d, 3H)
11. C (H)	7,42 (d, 1H) <i>J</i> : 11 Hz
12. C (H)	6,95 (d, 1H) <i>J</i> : 11 Hz

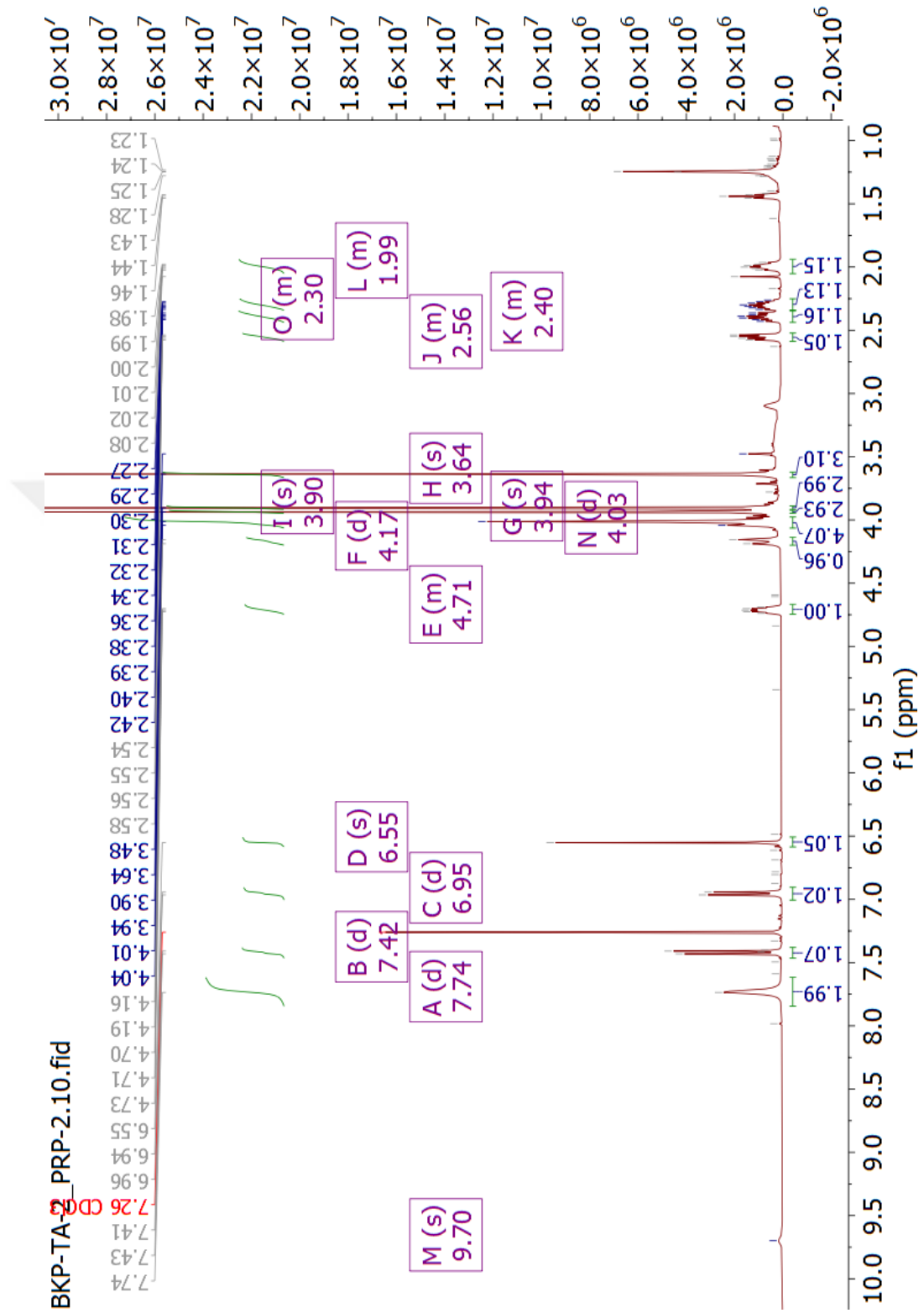
Şekil 4-53: BKP-TA₂ UV Spektrumu

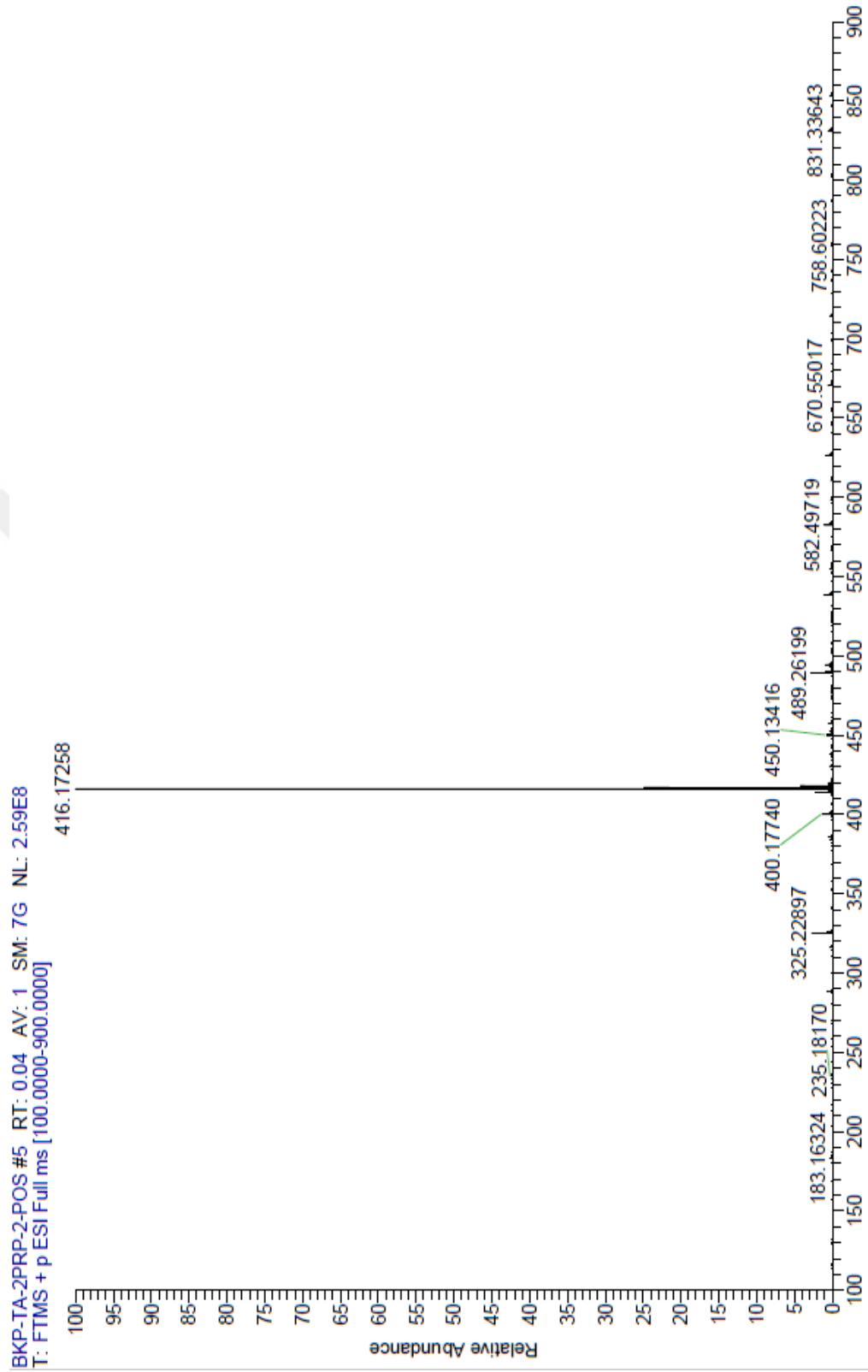
C. variegatum L. toprak altı A ekstresinden elde edilen BKP-TA₂ ve toprak üstü A ekstresinden elde edilen BKP-H₂ kodlu maddelerin ¹H NMR spektrumlarının aynı olduğu gözlenmiştir. Bu maddelerin ¹H NMR spektrumları incelendiğinde; 1. karbona bağlı -OCH₃ protonları 3,64 ppm'de, 2. karbon atomuna ait -OCH₃ protonları 3,90 ppm'de, 3. karbon atomuna ait -OCH₃ protonları 3,94 ppm'de ve 10. karbon atomuna ait -OCH₃ protonları 4,03 ppm'de 3H değerinde singlet olarak görünmektedir.

Aromatik bölgede 4, 8, 11 ve 12. karbona ait bağlı protonların pikleri bulunmaktadır. 4. karbona bağlı proton 6,55 ppm'de singlet, 8. karbona bağlı proton ve 7. karbona bağlı -NH protonu 7,74 ppm'de iç içe geçmiş halde toplam 2H değerinde dublet olarak görünmektedir. 11 ve 12. C atomuna bağlı protonlar sırasıyla 7,42 ppm'de (*J*:11) ve 6,95 ppm'de (*J*:11) 1H değerinde dubletler olarak gözlenmiştir.

7. karbona bağlı hidrojen 4,71 ppm'de multipleret olarak gözlenir. Azota bağlı -CH₂OH yapısındaki hidrojenler birbirini yararak biri 4,17 ppm'de 1 hidrojen değerinde dublet ve diğeri 4,03 ppm'de 1 hidrojen değerinde dublet olarak görünmektedir. 5. karbon atomuna bağlı protonların pikleri 2,40-2,56 ppm'de ve 6. karbon atomuna bağlı protonların pikleri ise 1,99-2,30 ppm'de çıkmaktadır. Elde edilen maddelerin (M+1)⁺ piki 416,17258 olarak belirlenmiştir.

BKP-TA₂ ve BKP-H₂ kodlu alkaloidlerinin yapısı, literatürdeki Rf değerleri ile karşılaştırılmış ve UV, ¹H NMR, kütle spektrumları değerlendirilerek aydınlatılmıştır. Bu maddelerin "kolşifolin" olduğu belirlenmiştir. Kolşifolin'e ait (BKP-TA₂ ve BKP-H₂ alkaloidleri) UV, ¹H NMR, kütle spektrumları sırasıyla Şekil 4-53, Şekil 4-54 ve Şekil 4-55'te verilmiştir.

Şekil 4-54: BKP-TA₂ ¹H NMR Spektrumu



Şekil 4-55: BKP-TA₂ Alkaloidine ait Kütle Spektrumu

4.5. Sitotoksik Aktivite Bulguları

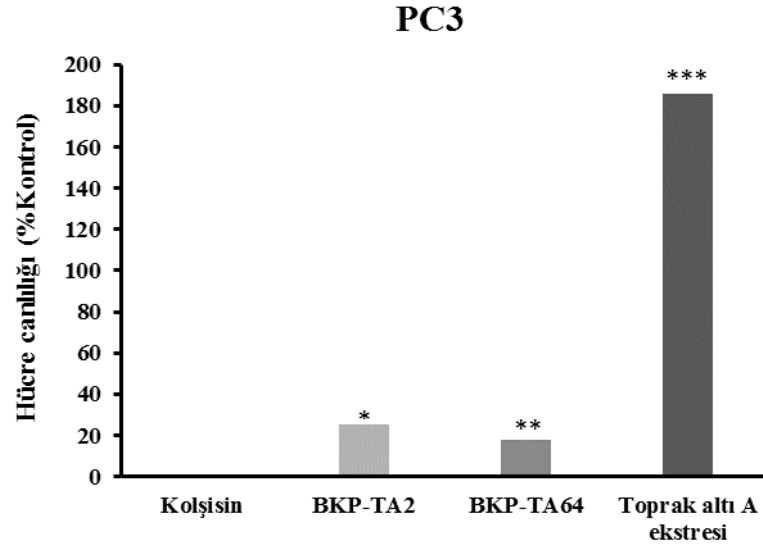
4.5.1. MTT Yöntemi ile Hücre Serileri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Sonuçları

Tez kapsamında kullanılan saf maddelerin ve A ekstresinin MCF7, PC3 ve HEK293 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için yapılan canlılık testleri 3x3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Deneylerdeki kontrol grubu, herhangi bir madde/ekste uygulanmayan grup olarak belirlenmiş olup % 100 canlı olarak kabul edilmiştir. Deney grupları içindeki tekrarlar arasındaki tutarlılığın analizi için elde edilen verilere tek-yönlü ANOVA (one-way ANOVA) testi uygulanmıştır. Grupların kontrol grubuna göre anlamlılıkları ise Dunnett's testi ve Tukey testi ile değerlendirilmiştir. Literatür taramaları sonucu maddelerin uygulama konsantrasyonlarına ve zamanlarına karar verilmiştir. Hücrelere uygulanan saf maddeler ve A ekstresinin hücre canlılığını yarıya indiren konsantrasyon değerleri (IC₅₀) hesaplanmıştır. Ajanların IC₅₀ değeri hesaplaması için sigmoidal doz yanıtı eğrisi ("Sigmoidal dose response variable slope") GraphPad Prism® 7.0 programı kullanılarak hesaplanmıştır. MCF7, PC3 ve HEK293 hücreleri üzerine 2 saf madde, A ekstresi ve standart olarak kullanılan kolşisinin sitotoksik etkilerini belirlemek amacı ile, 24 saatlik kültürlerle (1000-0.1 µg/mL) maddelerden içeren besiyerleri ilave edildi. Hiç madde uygulanmayan kontrol grubunun da besiyeri tazelenip 24 saatlik inkübasyon periyodundan sonra MTT testi yapılarak veriler elde edilmiştir. IC₅₀ deney sonuçları Şekil 4-56, Şekil 4-57, Şekil 4-58'de ve Tablo 4-15'te gösterilmektedir.

Tablo 4-15: BKP-TA₂, BKP-TA₆₄ Alkaloidleri, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının MCF7, PC3 ve HEK293 Hücreleri Üzerindeki IC₅₀ Değerleri

No	IC ₅₀ (µg/mL)		
	PC3	MCF7	HEK293
BKP-TA₂	25.17 ± 0.75	31.20 ± 1.11	55.37 ± 1.19
BKP-TA₆₄	17.69 ± 1.09	22.12 ± 0.82	42.18 ± 0.97
Toprak Altı A ekstresi	185.97 ± 2.18	193.87 ± 0.99	381.69 ± 1.45
Kolşisin	0.85 ± 0.13	71.97 ± 1.78	24.34 ± 0.38

4.5.1.1. PC3 Hücreleri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Bulguları

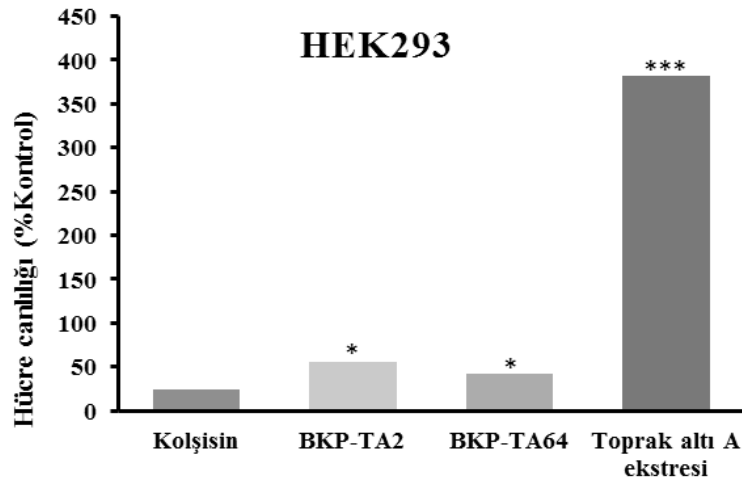


Şekil 4-56: BKP-TA₂, BKP-TA₆₄ Alkaloidleri, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının 24 Saatlik Uygulamasının PC3 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi

*P<0,05 **P<0,01 ***P<0,001 standart sapma değerleri gösterilmektedir.

■ Kolşisinin IC₅₀ değeri çok düşük olduğu için grafikte belli olmamaktadır.

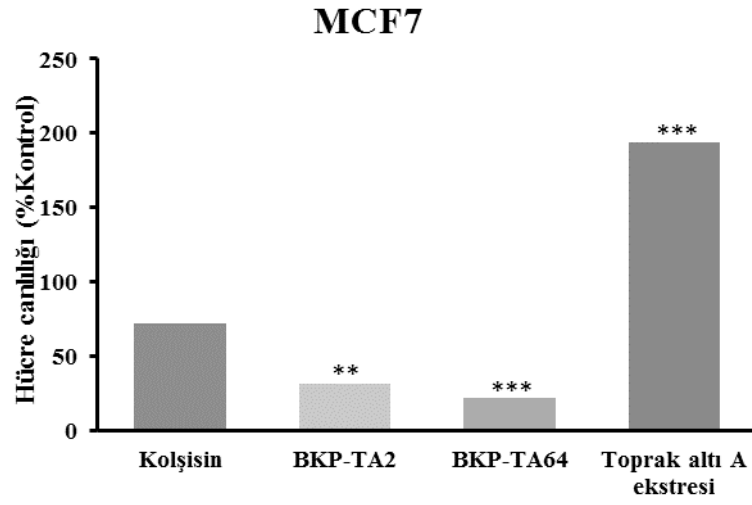
4.5.1.2. HEK293 Hücreleri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Bulguları



Şekil 4-57: BKP-TA₂, BKP-TA₆₄ Alkaloidi, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının 24 Saatlik Uygulamasının HEK293 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi

*P<0,05 ***P<0,001, standart sapma değerleri gösterilmektedir.

4.5.1.3. MCF7 Hücreleri Üzerinde Sitotoksik Aktivite Bulguları



Şekil 4-58: BKP-TA₂, BKP-TA₆₄ Alkaloidleri, Toprak Altı A Ekstresi ve Kolşisin Standardının 24 Saatlik Uygulamasının MCF7 Hücrelerinin Canlılığı Üzerine Etkisi

P<0,01 *P<0,001 standart sapma değerleri gösterilmektedir.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışması Türkiye’de yetişen *Colchicum* türleri üzerinde yapılan çalışmaların devamı niteliğinde olup Isparta-Aksu yöresinden bitkinin çiçekli olduğu 03.10.2020 tarihinde toplanan *Colchicum variegatum* L. türü üzerinde farmakognozik araştırmaları konu almaktadır. Bitkinin çiçek ve çiçek sapını içeren toprak üstü kısmı ve yumrularını içeren toprak altı kısmının alkaloidleri ayrı ayrı çalışılmış olup elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Metanol ekstrelerinden yola çıkılarak alkaloid tüketilmesi yapılmış ve nötral-fenolik (A ekstresi), bazik (B), glikozidik (C ekstresi) ekstreleri elde edilmiştir. Bazik ve glikozidik ekstre miktarının yeterli olmaması nedeniyle yalnızca nötral-fenolik ekstre üzerinde izolasyon çalışmaları yürütülmüştür. Bu doğrultuda izole edilen ve yapıları UV, ¹H NMR ve MS yöntemleri ile aydınlatılan alkaloidler toprak üstü A ekstresinden kolşisin ve kolşifolin; toprak altı A ekstresinden ise kolşisin, 2-demetilkolşisin ve kolşifolin alkaloidleri olarak belirlenmiştir. *C. variegatum* L. türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen nötral-fenolik ekstrelerdeki alkaloidlerin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması ile bu türün alkaloidleri ile ilgili bulgular ilk kez bu araştırma ile literatüre girmektedir.

Çalışmamız kapsamında *Colchicum variegatum* L. türünden izole edilen alkaloidler ülkemizde yetişen ve daha önce alkaloidleri bakımından çalışılmış diğer *Colchicum* türleri ile karşılaştırılıp değerlendirildiğinde tropolon alkaloidleri çeşitliliği açısından *C. variegatum* L. türünün zengin olmadığı saptanmaktadır. Bunun yanında hem toprak üstü hem toprak altı kısımlarından hazırlanan metanol ekstreleri üzerinde spektroskopik total alkaloid miktar tayini ve kolşisin miktar tayini deneyleri yapılmış olup total alkaloid miktarı toprak üstü metanol ekstresinde % 3,224; toprak altı metanol ekstresinde % 4,916 olarak; bitkinin toprak üstü kısmındaki total alkaloid yüzdesi 0,075; toprak altı kısmındaki total alkaloid yüzdesi 0,385 olarak belirlenmiştir. YBSK yöntemi ile belirlenen kolşisin miktarları, toprak üstü metanol ekstresinde % 0,02; toprak altı metanol ekstresinde % 0,83 olarak; bitkinin toprak üstü kısmındaki kolşisin yüzdesi 0,005 ve toprak altı kısmındaki kolşisin yüzdesi ise 0,065 olarak tespit edilmiştir.

Bu değerler günümüzde kol şisin kaynağı olarak kullanılan *C. autumnale* L. ve *C. speciosum* Steven ile kıyaslandığında *C. variegatum* L. türündeki alkaloit ve kol şisin miktarlarının daha az olduğu tespit edilmiştir (Sütlüpınar, 1998).

Colchicum türlerinin toprak üstü kısımlarında total alkaloit ve kol şisin miktarının araştırıldığı çalışmalardaki sonuçlara göre *Colchicum* türlerinin yaprak,  i ek,  i ek sapı gibi toprak üstü kısımları, yumru gibi toprak altı kısımlarına göre daha az alkaloit ve kol şisin içermektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde *C. variegatum* L. türünün total alkaloit ve kol şisin miktarı değerleri literatürdeki bilgilerle uyum göstermektedir (Sütlüpınar, 1985; 1998). *C. variegatum* L. türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarında total alkaloit miktar tayini ve kol şisin miktar tayini sonuçları literatürde ilk kez bu çalışmadaki spektrofotometrik ve kromatografik (YBSK) yöntemler ile ortaya konulmuştur.

C. variegatum L. türünün göreceli olarak alkaloit çeşitliliğinin az olmasını, total alkaloit miktarının çoğunu kol şisinin oluşturması ve aynı zamanda flavonoit bileşiklerini de taşıması açıklayabilmektedir. Yapılan LC-HRMS analizi sonucunda *C. variegatum* L. türünde bilinen 8 fenolik asit ve 14 flavonoit bileşiğinin varlığı tespit edilmiştir. Ülkemizdeki *Colchicum* türlerinin fenolik bileşiklerinin araştırıldığı çalışmalarla karşılaştırıldığında *C. variegatum* L. türünün fenolik asit ve flavonoitler açısından oldukça zengin bir tür olduğu saptanmıştır (Pırıldar 2006; Toplan 2016). Diğer türlerden farklı olarak (+)-trans-taksifolin, luteolin-7-rutinozit, kersetin, kemferol, hispidulin, krisin, hispidulin-7-glikozit, krisoeriol flavonoitleri ile askorbik asit, klorojenik asit, fumarik asit, salisilik asit ve 2,5-dihidroksibenzoik asit tespit edilmiştir.

Daha  nce *C. variegatum* L. türü üzerinde sitotoksik aktivite araştırması bulunmadığından literatüre ilk kez bu çalışmadaki sonuçlar katkı sağlamaktadır. Ayrıca daha önce İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yapılan tez çalışmalarında *C. baytopiorum* C.D. Brickell, *C. micranthum* Boiss. ve *C. chalcedonicum* Azn. ssp. *chalcedonicum* türlerinin metanol ekstrelerinin sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiştir (Pırıldar 2006; Toplan 2016). Ancak bu tez çalışmasında izole edilen saf maddeler üzerinde ve nötral-fenolik alkaloit ekstresi üzerinde sitotoksik aktivite araştırılmıştır. Bu nedenle metanol ekstrelerinin sitotoksik aktivite değerleri ile karşılaştırılmamıştır.

Kolşisin miktarının ve total alkaloit miktarının *C. variegatum* L. türünün toprak altı kısmında daha fazla olması nedeniyle sitotoksik aktivite toprak altı A ekstresi, elde edilen saf maddeler üzerinde yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre 2-demetilkolşisin (BKP-TA₆₄) ve kolşifolin (BKP-TA₂/BKP-H₂) alkaloitlerinin PC3 ve HEK293 hücre hattı üzerinde kolşisine göre daha düşük; toprak altı A ekstresine göre ise daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. 2-demetilkolşisin (BKP-TA₆₄) ve kolşifolin (BKP-TA₂/BKP-H₂) alkaloitlerinin MCF7 hücre hattı üzerinde ise kolşisine göre daha yüksek; toprak altı A ekstresine göre daha düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. 2-demetilkolşisin ve kolşifolinin insan meme kanseri hücresi MCF7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi önemli bir bulgu olmakla beraber daha detaylı araştırmalar yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca bu sonuç A ekstresindeki alkaloitlerin birbiri ile antagonist etki gösterdiğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- Adami, R., Nayeri H. ve Naderi G. (2015). Anti-Diabetic mechanism of *Colchicum speciosum* hydroalcoholic extract in vitro. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 6(5), 152-157.
- Afsahul, K. M. ve Anjum, F. (2020). Suranjan (*Colchicum autumnale* L. and *Merendera persica*): Great resolvent herbs of Unani system of medicine-a review. *Int J Unani Integr Med*, 4(1), 7-11.
- Ahmed, A.; Peters, N. R.; Fitzgerald, M. K.; Watson, J. A.; Hoffmann, F. M. ve Thorson, J. S. (2006). Colchicine Glycorandomization Influences Cytotoxicity and Mechanism of Action. *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 14224–14225.
- Akhtar, S. ve Siddiqui, M. Z. (2018). Suranjan shirin (*Colchicum autumnale*): A review of an anti-arthritic Unani drug. *The Pharma Innovation*, 7(12), 09-12.
- Akkoç, N. (2018). Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of Behçet's disease. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 32(2), 261-270.
- Alali, F. Q., Gharaibeh, A. A., Ghawanmeh, A., Tawaha, K., Qandil, A., Burgess, J. P. ve ark. (2010). Colchicinoids from *Colchicum crocifolium* Boiss. (Colchicaceae). *Natural Product Research*, 24(2), 152-159.
- Alali, F. Q., Gharaibeh, A., Ghawanmeh, A., Tawaha, K. ve Oberlies, N. H. (2008). Colchicinoids from *Colchicum crocifolium* Boiss: a case study in dereplication strategies for (–)-Colchicine and related analogues using LC-MS and LC-PDA techniques. *Phytochemical Analysis*, 19(5), 385-394.
- Alali, F. Q., Tawaha, K. ve El-Elimat, T. (2007). Determination of (–)-demecolcine and (–)-colchicine content in selected Jordanian *Colchicum* species. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(10), 739-742.
- Alali, F. Q.; Tawaha, K.; El-Elimat, T.; Qasaymeh, R.; Li, C.; Burgess, J. ve ark. (2006) Phytochemical Studies and Cytotoxicity Evaluations of *Colchicum tunicatum* Feinbr and *Colchicum hierosolymitanum* Feinbr (Colchicaceae): Two Native Jordanian Meadow Saffrons. *Natural Product Research*, 20, 558–566.
- Alayli, G., Cengiz, K., Cantürk, F., Durmuş, D., Akyol, Y. ve Menekşe, E. B. (2005). Acute myopathy in a patient with concomitant use of pravastatin and colchicine. *Annals of Pharmacotherapy*, 39(7-8), 1358-1361.

Alkadi, H., Khubeiz, M. J. ve Jbeily, R. (2018). Colchicine: a review on chemical structure and clinical usage. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 18(2), 105-121.

Al-Mahmoud, M.S., Alali, F.Q., Tawaha, K. ve Qasaymeh, R.M. (2006). Phytochemical study and cytotoxicity evaluation of *Colchicum stevenii* Kunth (Colchicaceae): A Jordanian Meadow Saffron. *Natural Product Research*, 20(2) 153-160.

Al-Tel, T. H., Zarga, M. H. A., Sabri, S. S., Feroz, M., Fatima, N. ve Shah, Z. (1991). Phenolics from *Colchicum decaisnei*. *Phytochemistry*, 30(9), 3081-3085.

Andreis, A., Imazio, M., Casula, M., Avondo, S. ve Brucato, A. (2021). Recurrent pericarditis: an update on diagnosis and management. *Internal and Emergency Medicine*, 16(3), 551-558.

Angelidis, C., Kotsialou, Z., Kossyvakis, C., Vrettou, A. R., Zacharoulis, A., Kolokathis, F. ve ark. (2018). Colchicine pharmacokinetics and mechanism of action. *Current Pharmaceutical Design*, 24(6), 659-663.

Annapurna, M.M. (2018). New derivative spectrophotometric methods for the determination of thiocolchicoside—A semisynthetic derivative of colchicoside. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 12(01).

Ardalani H., Avan A. ve Ghayour-Mobarhan M. (2017). Podophyllotoxin: a novel potential natural anticancer agent. *Avicenna J Phytomed*, 7(4), 285-294.

Arrieta, O., Rodriguez-Diaz, J. L., Rosas-Camargo, V., Morales-Espinosa, D., de Leon, S. P., Kershenovich, D. ve ark. (2006). Colchicine delays the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis virus-related liver cirrhosis. *Cancer*, 107(8), 1852-1858.

Artun, F. T., Karagoz, A., Zeybek, Z., Ustunturk-Onan, M., Melikoglu, G., Anil, S. ve ark. (2016). Evaluation of Antibacterial Activity of Some Plant Methanolic Extracts. *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*, 5419.

Artun, T., Karagoz, A., Ozcan, G., Melikoglu, G., Anil, S., Kultur, S. ve ark. (2016). In vitro anticancer and cytotoxic activities of some plant extracts on HeLa and Vero cell lines. *Journal of BU ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, 21(3), 720-725.

Aydın, F, Özçakar, Z.B. ve Yalçınkaya, F, (2017) Çocuklarda Ailesel Akdeniz Ateşi Tanı ve Tedavisi, Türkiye Klinikleri. *Journal of Rheumatology-Special Topics*, 10(1), 46-54.

Azadbakht, M., Davoodi, A., Hosseinimehr, S. J., Emami, S., Azadbakht, M., Mirzaee, F. ve ark. (2020). Phytochemical, physicochemical and biological evaluation of *Colchicum kurdicum* (Bornm.) Stef: a study on materia medica of Persian medicine. *Journal of Medicinal Plants*, 19(76), 36-45.

Azadbakht, M., Davoodi, A., Hosseinimehr, S. J., Keighobadi, M., Fakhar, M., Valadan, R. ve ark. (2020). Tropolone alkaloids from *Colchicum kurdicum* (Bornm.) Stef. (Colchicaceae) as the potent novel antileishmanial compounds; purification, structure elucidation, antileishmanial activities and molecular docking studies. *Experimental Parasitology*, 213, 107902.

Bäck, M., Yurdagul, A., Tabas, I., Öörni, K. ve Kovanen, P. T. (2019). Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Cardiology*, 16(7), 389-406.

Bajdik, C. D., Abanto, Z. U., Spinelli, J. J., Brooks-Wilson, A. ve Gallagher, R. P. (2006). Identifying related cancer types based on their incidence among people with multiple cancers. *Emerging Themes in Epidemiology*, 3(1), 1-6.

Banach, M. ve Penson, P. E. (2021). Colchicine and cardiovascular outcomes: a critical appraisal of recent studies. *Current Atherosclerosis Reports*, 23(7), 1-8.

Bartusik, D.; Tomanek, B.; Lattová, E.; Perreault, H.; Tuszyński, J. ve Fallone, G.(2010). Derivatives of Thiocolchicine and Its Applications to CEM Cells Treatment Using ¹⁹F Magnetic Resonance Ex Vivo. *Bioorg. Chem*, 38, 1-6.

Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R. ve Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193.

Basova, N.E., Rozengart, E.V. ve Suvorov, A.A. Cholinergic activity of isoquinoline alkaloids from the showy autumn crocus (*Colchicum speciosum* Stev.) *Dokl Biochem Biophys*, 406, 27–31 (2006).

Battersby, A. R. (1967). Biosynthesis of the indole and *Colchicum* alkaloids. *Pure and Applied Chemistry*, 14(1), 117-136.

Battersby, A. R., Ramage, R., Cameron, A. F., Hannaway, C. ve Šantavý, F. (1971). 1-Phenethylisoquinoline alkaloids. Part II. The structures of alkaloids from *Colchicum cornigerum* (Sweinf.) Tackh. et Drar. *Journal of the Chemical Society C: Organic*, 3514-3518.

Bayrak, S., Sökmen, M., Aytac, E. ve Sökmen, A. (2019). Conventional and supercritical fluid extraction (SFE) of Colchicine from *Colchicum speciosum*. *Industrial Crops and Products*, 128, 80-84.

Baytop, T. (1994). *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*. Ankara: Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Türk Dil Kurumu Yayınları.

Baytop, T. ve Özcöbek G. (1970). *Colchicum chalcedonicum, micranthum, szovitsii* ve *turcicum* Alkaloidleri Üzerinde Araştırmalar. *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, 6, 21-26.

Baytop, T., Sutlupinar, N. ve Phillipson, J. D. (1980). Alkaloids from *Colchicum turcicum*. *Planta Medica*, 38(03), 273-274.

Behçet, H. (1937). Über rezidivierende aphthosa, durch ein Virus verusachte Geschwüre am Mund, am Auge und an den Genitalien. *Dermatologische Wochenschrift*. 109: 1152-1157.

Behera, A. ve Padhi, S. (2020). Passive and active targeting strategies for the delivery of the camptothecin anticancer drug: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 18(5), 1557-1567.

Ben-Chetrit, E. (2019). Colchicine. In: Hashkes, P., Laxer, R., Simon, A. (eds) *Textbook of Autoinflammation*. Springer, Cham.

Biltekin, S. (2017). MAPK İnhibitörü Bazı Bileşiklerin Kansere Hücrelerindeki Stres Proteinleri Üzerine Etkileri. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Blackadar, C. B. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 7(1), 54.

Blasco, V., Cuñat, A. C., Sanz-Cervera, J. F., Marco, J. A., Falomir, E., Murga, J. ve ark. (2018). Arylureas Derived from Colchicine: Enhancement of Colchicine Oncogene Downregulation Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 150, 817–828.

Bombardelli, E. ve Fontana G. (2010). "Colchicoside Analogues." U.S. Patent No. 7,683,163.

Borstad, G. C., Bryant, L. R., Abel, M. P., Scroggie, D. A., Harris, M. D. ve Alloway, J. A. (2004). Colchicine for prophylaxis of acute flares when initiating allopurinol for chronic gouty arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 31(12), 2429-2432.

Bouabdallaoui, N. ve Tardif, J. C. (2022). Repurposing colchicine for heart disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 62, 121-129.

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. ve Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394-424.

Buzun, K., Bielawska, A., Bielawski, K. ve Gornowicz, A. (2020). DNA topoisomerases as molecular targets for anticancer drugs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 1781-1799.

Callen, J. P. (1985). Colchicine is effective in controlling chronic cutaneous leukocytoclastic vasculitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 13(2), 193-200.

Cecconi, A., Vilchez-Tschischke, J. P., Mateo, J., Sanchez-Gonzalez, J., Espana, S., Fernandez-Jimenez, R. ve ark. (2021). Effects of colchicine on atherosclerotic plaque stabilization: a multimodality imaging study in an animal model. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 14(1), 150-160.

Čermák, V., Dostál, V., Jelínek, M., Libusová, L., Kovář, J., Rösel, D. ve ark. (2020). Microtubule-targeting agents and their impact on cancer treatment. *European Journal of Cell Biology*, 99(4), 151075.

Çevik, U. A. (2020). Antikanser Ajanlar İçin Hedef Olarak DNA Topoizomerazlar. *International Journal of Academic Medicine and Pharmacy*, 2(3); 306-312.

Chahal, K. (2021). Plant-Derived Drugs and Drug Repurposing. *Integrated Publ.* Volume 2. p.7.

Chen, B., Liu, X., Hu, Y. J., Zhang, D. M., Deng, L., Lu, J. ve ark. (2017). Enantioselective total synthesis of (–)-colchicine, (+)-demecolcinone and metacolchicine: determination of the absolute configurations of the latter two alkaloids. *Chemical Science*, 8(7), 4961-4966.

Chen, K., Schenone, A. L., Borges, N., Militello, M. ve Menon, V. (2017). Teaching an old dog new tricks: Colchicine in cardiovascular medicine. *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 17(5), 347-360.

Chia, E. W., Grainger, R. ve Harper, J. L. (2008). Colchicine suppresses neutrophil superoxide production in a murine model of gouty arthritis: a rationale for use of low-dose colchicine. *British Journal of Pharmacology*, 153(6), 1288-1295.

Choudhury, G. G., Banerjee, A., Bhattacharyya, B. ve Biswas, B. B. (1983). Interaction of colchicine analogues with purified tubulin. *FEBS Letters*, 161(1), 55-59.

Cifuentes, M., Schilling, B., Ravindra, R., Winter, J. ve Janik, M. E. (2006). Synthesis and biological evaluation of B-ring modified colchicine and isocolchicine analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(10), 2761-2764.

Ciotti, M., Ciccozzi, M., Terrinoni, A., Jiang, W. C., Wang, C. B. ve Bernardini, S. (2020). The COVID-19 pandemic. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 57(6), 365-388.

Cocco, G., Chu, D. C. ve Pandolfi, S. (2010). Colchicine in clinical medicine. A guide for internists. *European Journal of Internal Medicine*, 21(6), 503-508.

Czerwonka, D., Sobczak, S., Maj, E., Wietrzyk, J., Katrusiak, A. ve Huczyński, A. (2020). Synthesis and antiproliferative screening of novel analogs of regioselectively demethylated colchicine and thiocolchicine. *Molecules*, 25(5), 1180.

Dağdeviren, Ö. (2010). Research of antitumoral effects of *Colchicum umbrosum* and *Colchicum baytopiorum* extracts on HeLa cells (Doctoral dissertation, Master Thesis, Istanbul University).

Dalbeth, N., Lauterio, T. J. ve Wolfe, H. R. (2014). Mechanism of action of colchicine in the treatment of gout. *Clinical therapeutics*, 36(10), 1465-1479.

Dasgeb, B., Kornreich, D., McGuinn, K., Okon, L., Brownell, I. ve Sackett, D. L. (2018). Colchicine: an ancient drug with novel applications. *British Journal of Dermatology*, 178(2), 350-356.

Dastoli, S., Nisticò, S. P., Morrone, P., Patruno, C., Leo, A., Citraro, R. ve ark. (2022). Colchicine in Managing Skin Conditions: A Systematic Review. *Pharmaceutics*, 14(2), 294.

Davis PH. (1984). *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press; Vol 8.

Davis, M., Wason, S. ve DiGiacinto, J. (2013). Colchicine-antimicrobial drug interactions: what pharmacists need to know in treating gout. *The Consultant Pharmacist®*, 28(3), 176-183.

De Lannoy, I. A., Mandin, R. S. ve Silverman, M. (1994). Renal secretion of vinblastine, vincristine and colchicine in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 268(1), 388-395.

Derya Demir Uysal. 2007. Liliaceae familyasından *Urginea maritima* (L.) Baker ve *Colchicum balansae* Planchon türleri üzerinde fitokimyasal çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi. Muğla Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Ana Bilim Dalı.

Dinte, A. F., Popescu, O. ve Tache, D. E. (2021). The Vinca Alkaloids in the Oncology World. *Medico Oncology*, 2(2), 26-36.

Downing, K. H. ve Nogales, E. (1998). Tubulin Structure: Insights into Microtubule Properties and Functions. *Curr. Opin. Struct. Biol*, 8, 785–791.

Drosos, A. A., Pelechas, E., Drossou, V. ve Voulgari, P. V. (2022). Colchicine Against SARS-CoV-2 Infection: What is the Evidence. *Rheumatology and Therapy*, 1-11.

Duan, Y., Liu, W., Tian, L., Mao, Y. ve Song, C. (2019). Targeting tubulin-colchicine site for cancer therapy: inhibitors, antibody-drug conjugates and degradation agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 19(15), 1289-1304.

Düşen, O. D. ve Sümbül, H. (2007). A morphological investigation of *Colchicum* L. (Liliaceae) species in the Mediterranean region in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 31(5), 373-419.

Ebadi, M. (2006). Pharmacodynamic basis of herbal medicine. *Florida: CRC Press*.

Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F. ve Bekhradnia, A. R. (2010). Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. var. *angustifolius*, *V. odorata*, *B. hyrcana* and *C. speciosum*. *Pak J Pharm Sci*, 23(1), 29-34.

Edwards, D.J., Hadfield, J.A., Wallace, T.W. ve Ducki, S. (2011). Tubulin-Binding Dibenz[c,e]oxepines as Colchicinol Analogues for Targeting Tumour Vasculature. *Organic& Biomolecular Chemistry*, 9, 219–231.

El Hasbani, G., Jawad, A. ve Uthman, I. (2019). Update on the management of colchicine resistant Familial Mediterranean Fever (FMF). *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 14(1), 1-12.

Er M, Hasanoğlu HC. (2021). Ailevi Akdeniz ateşi ve akciğerler. Karalezli A, editör. *Romatolojik Hastalıklar ve Akciğerler*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri. p. 84-9.

Ergül, M. ve Bakar-Ates, F. (2021). Investigation of molecular mechanisms underlying the antiproliferative effects of colchicine against PC3 prostate cancer cells. *Toxicology in Vitro*, 73, 105138.

Eser, A. ve Timurağaoğlu, A. (2021). The Efficacy and Safety of Busulfan-Etoposide-Melphalan Regimen in Autologous Stem Cell Transplantation in Relapsed/Refractory Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma Patients: "A Single-Center Experience". *Istanbul Medical Journal*, 22(2).

Farooqi, A. A., Qureshi, M. Z., Khalid, S., Attar, R., Martinelli, C., Sabitaliyevich, U.Y. ve ark. (2019). Regulation of cell signaling pathways by berberine in different cancers: searching for missing pieces of an incomplete jig-saw puzzle for an effective cancer therapy. *Cancers*, 11(4), 478.

FDA. (2018) Colcrys (colchicine) US prescribing information. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/022351lbl.pdf

FDA/Colchicine. (2008). Center for Drug Evaluation and Research. Colchicine Medical Reviews, https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfdadocs/nda/2009/022351s000_SumR.pdf.

Fedorov, A., Gracheva, I., Svirshchevskaya, E., Faerman, V. ve Beletskaya, I. (2018). Synthesis and Antiproliferative Properties of Bifunctional Alcolcolchicine Derivatives. *Synthesis*, 50(14), 2753–2760.

Ferm, V. H. (1964). Effect of transplacental mitotic inhibitors on the fetal hamster eye. *The Anatomical Record*, 148(2), 129-137.

Finkelstein, Y., Aks, S. E., Hutson, J. R., Juurlink, D. N., Nguyen, P., Dubnov-Raz, G. ve ark. (2010). Colchicine poisoning: the dark side of an ancient drug. *Clinical Toxicology*, 48(5), 407-414.

Forkosh, E., Kenig, A. ve Ilan, Y. (2020). Introducing variability in targeting the microtubules: review of current mechanisms and future directions in colchicine therapy. *Pharmacology Research & Perspectives*, 8(4), e00616.

Frumholtz, L., Laurent-Roussel, S., Lipsker, D. ve Terrier, B. (2021). Cutaneous vasculitis: review on diagnosis and clinicopathologic correlations. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 61(2), 181-193.

Gallego-Jara, J., Lozano-Terol, G., Sola-Martínez, R. A., Cánovas-Díaz, M. ve de Diego Puente, T. (2020). A compressive review about taxol®: History and future challenges. *Molecules*, 25(24), 5986.

Garrod, A. B. (1876). *The Nature and Treatment of Gout, and Rheumatic gout*. Longmans & Company.

George, S. ve Abrahamse, H. (2020). Redox potential of antioxidants in cancer progression and prevention. *Antioxidants*, 9(11), 1156.

Georgin-Lavialle, S., Hentgen, V., Bachmeyer, C., Rodrigues, F., Savey, L., Abbara, S. ve ark. (2018). Familial Mediterranean Fever. *La Revue de Medecine Interne*, 39(4), 240-255.

Ghanbari-Movahed, M., Kaceli, T., Mondal, A., Farzaei, M. H. ve Bishayee, A. (2021). Recent advances in improved anticancer efficacies of camptothecin nano-formulations: A systematic review. *Biomedicines*, 9(5), 480.

Ghawanmeh, A. A., Al-Bajalan, H. M., Mackeen, M. M., Alali, F. Q. ve Chong, K. F. (2019). Recent developments on (-)-colchicine derivatives: Synthesis and structure-activity relationship. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 111788.

Goldfinger, SE, (1972). Colchicine for Familial Mediterranean Fever, *New England Journal of Medicine*, 287, 1302.

Goldman, J. W., Dvorkin, M., Chen, Y., Reinmuth, N., Hotta, K. ve Trukhin, D. (2021). Durvalumab, with or without tremelimumab, plus platinum–etoposide versus platinum–etoposide alone in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): updated results from a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 22(1), 51-65.

Gönül, M., Kılıç, A. ve Gençler, B. (2019). The History and Diagnosis of Behçet's Disease. In M. Gönül, & A. Kılıç (Eds.), *Different Aspects of Behçet's Disease*. Intech Open.

González-Burgos, E. ve Gómez-Serranillos, M. P. (2021). Vinca alkaloids as chemotherapeutic agents against breast cancer. *Discovery and Development of Anti-Breast Cancer Agents from Natural Products*, 69-101.

Goodson, H. V. ve Jonasson, E. M. (2018). Microtubules and microtubule-associated proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(6).

Gottlieb, M., Rabah, W. ve Long, B. (2021). Colchicine for acute gout. *Academic Emergency Medicine*.

Gracheva, I. A., Shchegravina, E. S., Schmalz, H. G., Beletskaya, I. P. ve Fedorov, A. Y. (2020). Colchicine alkaloids and synthetic analogues: current progress and perspectives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(19), 10618-10651.

Greco, A., De Virgilio, A., Ralli, M., Ciofalo, A., Mancini, P., Attanasio, G. ve ark. (2018). Behçet's disease: new insights into pathophysiology, clinical features and treatment options. *Autoimmunity Reviews*, 17(6), 567-575.

Guindo, J., Rodriguez De La Serna, A., Ramio, J., de Miguel Diaz, M. A., Subirana, M. T., Perez Ayuso, M. J. ve ark. (1990). Recurrent pericarditis. Relief with colchicine. *Circulation*, 82(4), 1117-1120.

Gulsoy-Toplan, G., Goger, F., Yildiz-Pekoz, A., Gibbons, S., Sariyar, G. ve Mat, A. (2018). Chemical Constituents of the Different Parts of *Colchicum micranthum* and *C. chalconicum* and their Cytotoxic Activities. *Natural Product Communications*, 13(5).

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M. T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, s. 371.

Guo, Q. ve Jiang, E. (2021). Recent Advances in the Application of Podophyllotoxin Derivatives to Fight Against Multidrug-Resistant Cancer Cells. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(19), 1712-1724.

Hacıoğlu M., Kulaksız, B., Alpınar, K., Hacıosmanoğlu, E. ve Birteksöz Tan, A. S. (2021). In Vitro Antimicrobial, Antibiofilm And Cytotoxic Activities Of The Extracts Of *Arum italicum* Miller Leaves. *Farmacia*, 69 (5), 849-854.

Hanahan, D. ve Weinberg, R. A. (2021). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646-674.

Hashimoto, Y., Kawanishi, K. ve Moriyasu, M. (1988). Chapter 1 Forensic Chemistry of Alkaloids by Chromatographic Analysis. *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*, 1-77.

Heidari, M. R., Vahedian, M. O. H. A. M. M. A. D., Moamenzadeh, S. ve HayatbakhshAbbasi, M. M. (2005). The Analgesic Effect and Possible Mechanism of *Colchicum szovitsii* Methanolic Extract in Mouse. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 4(1), 25-33.

Heilig, R. ve Broz, P. (2018). Function and mechanism of the pyrin inflammasome. *European Journal of Immunology*, 48(2), 230-238.

Holm, J. G., Ivyanskiy, I. ve Thomsen, S. F. (2018). Use of nonbiologic treatments in antihistamine-refractory chronic urticaria: a review of published evidence. *Journal of Dermatological Treatment*, 29(1), 80-97.

Horta-Baas, G. (2017). Evaluacion del balance riesgo-beneficio del empleo de colchicina durante el embarazo. *Medicina Clínica*, 148(6), 283-285.

Husek, A., Sütlüpinar, N., Sedmera, P., Voegelien, F., Valka, I. ve Šimánek, V. (1990). Alkaloids and phenolics of *Colchicum turcicum*. *Phytochemistry*, 29(9), 3058-3060.

Huzil, J. T., Mane, J. ve Tuszynski, J. A. (2010). Computer assisted design of second-generation colchicine derivatives. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 2(2), 169-174.

Imazio, M. (2015). Colchicine for pericarditis. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 25(2), 129-136.

Imazio, M. ve Brucato, A. (2021). Ten questions on colchicine as a "new" cardiovascular drug. *Giornale Italiano di Cardiologia*, 22(7), 536-543.

Imazio, M., Bobbio, M., Cecchi, E., Demarie, D., Demichelis, B., Pomari, F. ve ark. (2005). Colchicine in addition to conventional therapy for acute pericarditis: results of the COLchicine for acute PERicarditis (COPE) trial. *Circulation*, 112(13), 2012-2016.

Imazio, M., Brucato, A., Cemin, R., Ferrua, S., Maggolini, S., Beqaraj, F. ve ark. (2013). A randomized trial of colchicine for acute pericarditis. *New England Journal of Medicine*, 369(16), 1522-1528.

Indraratna, P. L., Virk, S., Gurram, D. ve Day, R. O. (2018). Use of colchicine in pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology*, 57(2), 382-387.

Jackman, R. W., Rhoads, M. G., Cornwell, E. ve Kandarian, S. C. (2009). Microtubule-mediated NF- κ B activation in the TNF- α signaling pathway. *Experimental Cell Research*, 315(19), 3242-3249.

Joncour, A., Décor, A., Liu, J. M., Tran Huu Dau, M. E. ve Baudoin, O. (2007). Asymmetric synthesis of antimicrotubule biaryl hybrids of allocalcolchicine and steganacin. *Chemistry-A European Journal*, 13(19), 5450-5465.

Kaidbey, K. H., Petrozzi, J. W. ve Kligman, A. M. (1975). Topical colchicine therapy for recalcitrant psoriasis. *Archives of Dermatology*, 111(1), 33-36.

Kametani, T. ve Koizumi, M. (1990). Phenethylisoquinoline alkaloids. In *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*, (36), 171-223.

Karakaya, S., Göger, G., Bona, G. E., Yuca, H., Aydın, B., Tekman, E. ve ark. (2022). Screening of antimicrobial, antioxidant, antidiabetic activities, anatomical and morphological properties of *Colchicum speciosum* Steven (Colchicaceae). *Protoplasma*, 1-14.

Karamanou, M., Tsoucalas, G., Pantos, K. ve Androutsos, G. (2018). Isolating colchicine in 19th century: an old drug revisited. *Current Pharmaceutical Design*, 24(6), 654-658.

Kashyap, D., Sharma, A., Sak, K., Tuli, H. S., Buttar, H. S. ve Bishayee, A. (2018). Fisetin: A bioactive phytochemical with potential for cancer prevention and pharmacotherapy. *Life Sciences*, 194, 75-87.

Kavalalı, G. (2014). Bitkisel Aktif Madde Olan Kolşisin'in Etnofarmakolojik Yönden Değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 4(1) 16-18.

Kayaalp OS. (2002). *Farmakolojiye Giriş, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 10th ed. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık.

Khazir, J., Riley, D. L., Pilcher, L. A., De-Maayer, P. ve Mir, B. A. (2014). Anticancer agents from diverse natural sources. *Natural Product Communications*, 9(11), 1934578X1400901130.

KHC Baser, Kırimer N. *Farmakognozi ve Fitoterapi*. İstanbul Tıp Kitabevleri, 2022, s.267.

Kilic, I., Yesiloglu, Y. ve Bayrak, Y. (2014). Investigation on the Antioxidant Activity of Roots and Stem of *Colchicum turcicum* L. *Asian Journal of Chemistry*, 26(1), 5.

Kizisar, D., Subasi, N. T., Eroksuz, S., Demir, A. S. ve Mert, O. (2016). Investigation of the stabilization of camptothecin anticancer drug via PSA-PEG polymeric particles. *Anadolu University Journal of Science and Technology A-Applied Sciences and Engineering*, 17(1), 221-231.

Kumar, A., Sharma, P. R. ve Mondhe, D. M. (2017). Potential anticancer role of colchicine-based derivatives: an overview. *Anti-cancer Drugs*, 28(3), 250-262.

Kurek, J. (2018). Cytotoxic colchicine alkaloids: from plants to drugs. *Cytotoxicity*, 6(45), 10-5772.

Kurek, J., Kwaśniewska-Sip, P., Myszkowski, K., Pospieszny, T., Pietruś, W., Cofta, G. ve ark. (2020). Alkaloid from *Colchicum* species in complexes with lithium, sodium, potassium and magnesium cations—spectroscopic characterization, semiempirical and theoretical calculation, fungicidal and cytotoxic activity. *Journal of Molecular Structure*, 1204, 127520.

Kurup, R., Galougahi, K. K., Figtree, G., Misra, A. ve Patel, S. (2021). The role of colchicine in atherosclerotic cardiovascular disease. *Heart, Lung and Circulation*, 30(6), 795-806.

Kuzemczak, M., Ibrahim, A. ve Alkhalil, M. (2021). Colchicine in Patients with Coronary Artery Disease with or Without Diabetes Mellitus: A Meta-analysis of Randomized Clinical Trials. *Clinical Drug Investigation*, 41(8), 667-674.

Larsson, S. ve Ronsted, N. (2014). Reviewing Colchicaceae alkaloids—perspectives of evolution on medicinal chemistry. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14(2), 274-289.

Lazaros, G., Imazio, M., Brucato, A., Vlachopoulos, C., Lazarou, E., Vassilopoulos, D. ve ark. (2018). The role of colchicine in pericardial syndromes. *Current Pharmaceutical Design*, 24(6), 702-709.

Lessinger, L. ve Margulis, T. N. (1978). The crystal structure of colchicine. A new application of magic integers to multiple-solution direct methods. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 34(2), 578-584.

Leung, Y. Y., Hui, L. L. Y. ve Kraus, V. B. (2015, December). Colchicine—update on mechanisms of action and therapeutic uses. In *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 45(3) 341-350.

Li, J. J., Lee, S. H., Kim, D. K., Jin, R., Jung, D. S., Kwak, S. J. ve ark. (2009). Colchicine attenuates inflammatory cell infiltration and extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 297(1), F200-F209.

Lim, P. T., Goh, B. H. ve Lee, W. L. (2022). Taxol: Mechanisms of action against cancer, an update with current research. *Paclitaxel*, 47-71.

Lin, Z. Y., Wu, C. C., Chuang, Y. H. ve Chuang, W. L. (2013). Anti-cancer mechanisms of clinically acceptable colchicine concentrations on hepatocellular carcinoma. *Life Sciences*, 93(8), 323-328.

Liu, L. F., Desai, S. D., LI, T. K., Mao, Y., Sun, M. E. I. ve SIM, S. P. (2000). Mechanism of action of camptothecin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 922(1), 1-10.

Liu, Y., Tang, Z. G., Lin, Y., Qu, X. G., Lv, W., Wang, G. B. ve ark. (2017). Effects of quercetin on proliferation and migration of human glioblastoma U251 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, (92), 33-38.

Lopez-Saez, J. F. (1998). de, la., Torre, C., et al. Cell Proliferation and Cancer, *Histopathol*, 13(4), 1197-1214.

Lv, B., Yang, G., Wei, Y., Lei, Y., Ding, Y., Gong, W. ve ark. (2022). A pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of colchicine sustained-release pellets for preventing gout. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 67, 103051.

Maldonado, E. N., Patnaik, J., Mullins, M. R. ve Lemasters, J. J. (2010). Free tubulin modulates mitochondrial membrane potential in cancer cells. *Cancer Research*, 70(24), 10192-10201.

Malichová, V., Potěšijová, H., Preininger, V. ve Šantavý, F. (1979). Alkaloids from Leaves and Flowers of *Colchicum autumnale* L. 1. *Planta Medica*, 36(06), 119–127.

Malkinson, F. D. (1982). Colchicine: new uses of an old, old drug. *Archives of Dermatology*, 118(7), 453-457.

Martino, E., Casamassima, G., Castiglione, S., Cellupica, E., Pantalone, S., Papagni, F. ve ark. (2018). Vinca alkaloids and analogues as anti-cancer agents: Looking back, peering ahead. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 28(17), 2816-2826.

Martino, E., Della Volpe, S., Terribile, E., Benetti, E., Sakaj, M., Centamore, A. ve ark. (2017). The long story of camptothecin: From traditional medicine to drugs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27(4), 701-707.

Martinon, F., Pétrilli, V., Mayor, A., Tardivel, A. ve Tschopp, J. (2006). Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*, 440(7081), 237-241.

Marzi, L., Agama, K., Murai, J., Difilippantonio, S., James, A., Peer, C. J. ve ark. (2018). Novel fluoroindenoisoquinoline non-camptothecin topoisomerase I inhibitors. *Molecular Cancer Therapeutics*, 17(8), 1694-1704.

Mat A. ve Toplan G.G. (2016). *Colchicum micranthum* ve *Colchicum chalconicum* Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmakognozi Ana Bilim Dalı.

McKenzie, B. J., Wechalekar, M. D., Johnston, R. V., Schlesinger, N. ve Buchbinder, R. (2021). Colchicine for acute gout. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (8).

- Micheletti, R. G. ve Pagnoux, C. (2020). Management of cutaneous vasculitis. *La Presse Médicale*, 49(3), 104033.
- Migita, K., Asano, T., Sato, S., Koga, T., Fujita, Y. ve Kawakami, A. (2018). Familial Mediterranean fever: overview of pathogenesis, clinical features and management. *Immunological Medicine*, 41(2), 55-61.
- Mishra, R. C. (2011). Microtubule binding natural substances in cancer chemotherapy. Opportunity, challenge and scope of natural products in medicinal chemistry. *Kerala, India: Research Signpost*, 269-282.
- Molkova, E. A., Shchegravina, E. S., Otvagin, V. F., Kuzmina, N. S., Malysheva, Y. B., Svirshchevskaya, E. V. ve ark. (2022). Synthesis and biological evaluation of colchicine and thiocolchicine derivatives bearing a Michael acceptor moiety in ring A. *Russian Chemical Bulletin*, 71(3), 564-571.
- Montealegre-Gómez, G., Garavito, E., Gómez-López, A., Rojas-Villarraga, A. ve Parra-Medina, R. (2021). Colchicine: a potential therapeutic tool against COVID-19. Experience of 5 patients. *Reumatología Clínica*, 17(7), 371-375.
- Mori, S., Hino, K., Izumi, H. ve Hino, H. (1976). Clinical features and therapy of pustulosis palmaris et plantaris (author's transl). *Nihon Hifuka Gakkai zasshi. The Japanese Journal of Dermatology*, 86(10), 671-676.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.
- Mukhtar, E., Adhami, V. M. ve Mukhtar, H. (2014). Targeting microtubules by natural agents for cancer therapy. *Molecular Cancer Therapeutics*, 13(2), 275-284.
- Naaz, F., Haider, M. R., Shafi, S. ve Yar, M. S. (2019). Anti-tubulin agents of natural origin: Targeting taxol, vinca, and colchicine binding domains. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 171, 310-331.
- Nakagawa-Goto, K., Chen, C. X., Hamel, E., Wu, C. C., Bastow, K. F., Brossi, A. ve ark. (2005). Antitumor agents. Part 236: Synthesis of water-soluble colchicine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15(1), 235-238.
- Nejad Ebrahimi, S., Mirjalili, M. H., Tabefam, M. ve Hamburger, M. (2017). Two new tropolonic alkaloids from *Colchicum speciosum* Steven bulbs. *Research Journal of Pharmacognosy*, (4), 90.
- Neuss, M. N., McCallum, R. M., Brenckman, W. D. ve Silberman, H. R. (1986). Long-term colchicine administration leading to colchicine toxicity and death. *Arthritis & Rheumatism*, 29(3), 448-449.

Nidorf, S. M. ve Thompson, P. L. (2019). Why colchicine should be considered for secondary prevention of atherosclerosis: an overview. *Clinical Therapeutics*, 41(1), 41-48.

Niel, E. ve Scherrmann, J. M. (2006). Colchicine today. *Joint Bone Spine*, 73(6), 672-678.

Nuki, G. (2008). Colchicine: its mechanism of action and efficacy in crystal-induced inflammation. *Current Rheumatology Reports*, 10(3), 218-227.

O'Herron, T. ve Lafferty, J. (2018). Prophylactic use of colchicine in preventing radiation induced coronary artery disease. *Medical Hypotheses*, (111), 58-60.

Önder, E. N. A. O. ve Ertan, P. (2020). Ailesel Akdeniz Ateşi. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(3), 413-417.

Ondra, P., Vicar, J., Simanek, S., Greenaway, W. ve Sutlupinar, N. (1994). Alkaloids and phenolics of *Colchicum kotschyi*. *Fitoterapia-Milano*, (65), 178.

Ondra, P., Vicar, J., Simanek, V., Indrak, P. ve Sutlupinar, N. (1994). Alkaloids and phenolics of *Colchicum macrophyllum*. *Fitoterapia-Milano*, (65), 375.

Özcan, F. (2020). *Cylamen coum*, *Colchicum turcicum* ve *Colchicum bornmuelleri* bitkilerinin antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi.

Özcan, G., Ozsoylemez, O. D., Akman, G., Khalilia, W., Tezel, B., Yetiz, A. K. ve ark. (2016). Screening for antitumor activity of various plant extracts on HeLa and C 4-I cell lines. *J Buon*, 21(6), 1552-60.

Özen, S. (2018). Update on the epidemiology and disease outcome of familial Mediterranean fever. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 32(2), 254-260.

Özkan, E., Okur, Ö., Ekmekçi, A., Özcan, R. ve Tag, T. (1972). A new approach to the treatment of periodic fever, *Medical Bulletin of Istanbul*, (5), 44-49.

Özsöylemez, O. D. ve Ozcan, G. (2018). The Antiproliferative Activity of *Colchicum umbrosum* Plant Extract and Paclitaxel on C-4 I and Vero Cells. *European Journal of Biology*, 77(2), 81-88.

Padeh, S., Bilginer, Y. ve Ozen, S. (2019). Familial Mediterranean Fever. *Textbook of Autoinflammation*, 293-313.

Pandey, D. K. ve Banik, R. M. (2012). Optimization of extraction conditions for colchicine from *Gloriosa superba* tubers using response surface methodology. *Journal of Agricultural Technology*, 8(4), 1301-1315.

Paré, G., Vitry, J., Marceau, F., Vaillancourt, M., Winter, P., Bachelard, H. ve ark. (2020). The development of a targeted and more potent, anti-Inflammatory derivative of colchicine: Implications for gout. *Biochemical Pharmacology*, 180, 114125.

Parra-Medina, R., Sarmiento-Monroy, J. C., Rojas-Villarraga, A., Garavito, E., Montealegre-Gómez, G. ve Gómez-López, A. (2020). Colchicine as a possible therapeutic option in COVID-19 infection. *Clinical Rheumatology*, 39(8), 2485-2486.

Perrone, D., Ardito, F., Giannatempo, G., Dioguardi, M., Troiano, G., Lo Russo, L. ve ark. (2015). Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 10(5), 1615-1623.

Pho, L. N., Eliason, M. J., Regruto, M., Hull, C. M. ve Powell, D. L. (2011). Treatment of chronic urticaria with colchicine. *Journal of Drugs in Dermatology: JDD*, 10(12), 1423-1428.

Pillinger, M. H. ve Mandell, B. F. (2020, June). Therapeutic approaches in the treatment of gout. In *Seminars in Arthritis and Rheumatism* (50)3, 24-30.

Pırıldar, S. (2006). *Colchicum baytopiorum* C.D. Brickell Üzerinde Farmakognozitik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.

Pırıldar, S., Sütülpınar, N., Atasever, B., Erdem-Kuruca, S., Papouskova, B. ve Šimánek, V. (2010). Chemical constituents of the different parts of *Colchicum baytopiorum* and their cytotoxic activities on K562 and HL60 cell lines. *Pharmaceutical Biology*, 48(1), 32-39.

Polya, G. (2003). *Biochemical targets of plant bioactive compounds: a pharmacological reference guide to sites of action and biological effects*. London: CRC press.

Pourdowlat, G., Saghafi, F., Mozafari, A., Sahebnaasagh, A., Abedini, A., Nabi Meybodi, M. ve ark. (2022). Efficacy and safety of colchicine treatment in patients with COVID-19: A prospective, multicenter, randomized clinical trial. *Phytotherapy Research*, 36(2), 891-898.

Pucci, C., Martinelli, C. ve Ciofani, G. (2019). Innovative approaches for cancer treatment: Current perspectives and new challenges. *Ecancermedalscience*, 13.

Radjabian, T., Memarian, H. ve Ebrahimzadeh, H. (2015, May). Comparison of antioxidant enzyme activities between *Colchicum crocifolium* and *Colchicum kotschyi*. *4th National Congress on Medicinal Plants*.

Rao, T., Tan, Z., Peng, J., Guo, Y., Chen, Y., Zhou, H. ve ark. (2019). The pharmacogenetics of natural products: a pharmacokinetic and pharmacodynamic perspective. *Pharmacological Research*, 146, 104283.

- Ravelli, R. B., Gigant, B., Curmi, P. A., Jourdain, I., Lachkar, S., Sobel, A. ve ark. (2004). Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nature*, 428(6979), 198-202.
- Reaven, P. D., Emanuele, N. V., Wiitala, W. L., Bahn, G. D., Reda, D. J., McCarren, M. ve ark. (2019). Intensive glucose control in patients with type 2 diabetes—15-year follow-up. *New England Journal of Medicine*, 380(23), 2215-2224.
- Robinson, K. P. ve Chan, J. J. (2018). Colchicine in dermatology: A review. *Australasian Journal of Dermatology*, 59(4), 278-285.
- Robinson, P. C., Terkeltaub, R., Pillinger, M. H., Shah, B., Karalis, V., Karatza, E. ve Nidorf, M. (2021). Consensus statement regarding the efficacy and safety of long-term low-dose colchicine in gout and cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine*, 135(1), 32-38.
- Rocchetti, G., Senizza, B., Zengin, G., Okur, M. A., Montesano, D., Yildiztugay, E. ve ark. (2019). Chemical Profiling and Biological Properties of Extracts from Different Parts of *Colchicum szovitsii* subsp. *szovitsii*. *Antioxidants*, 8(12), 632.
- Rodríguez-Carrio, J., Nucera, V., Masala, I. F. ve Atzeni, F. (2021). Behçet disease: from pathogenesis to novel therapeutic options. *Pharmacological Research*, 167, 105593.
- Sadri, S., Aşçı, E., Ergün, G., Icacan, O. C., Celik, S., Bes, C. ve ark. (2020). Low dose colchicine use in familial Mediterranean fever patients whose disease is under control. *Ulusal Romatoloji Dergisi*, 12(2), 30.
- Sahin, E. C., Kaya, E., Tuyel, U., Aydin, Y., Ozhatay, N. ve Uncuoglu, A. A. (2021). An assessment on the floristic variety of *Colchicum* genus of Turkey in terms of morphological characteristics. *Scientia Horticulturae*, 287, 110251.
- Sahin, G., Korkmaz, C. ve Yalcin, A. U. (2008). Which statin should be used together with colchicine? Clinical experience in three patients with nephrotic syndrome due to AA type amyloidosis. *Rheumatology International*, 28(3), 289-291.
- Sahin, Z., Biltekin, S. N., Yurttas, L., Berk, B., Özhan, Y., Sipahi, H. ve ark. (2021). Novel cyanothiouracil and cyanothiocytosine derivatives as concentration-dependent selective inhibitors of U87MG glioblastomas: Adenosine receptor binding and potent PDE4 inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 212, 113125.
- Sambola, A., Luque, I. R., Mercé, J., Alguersuari, J., Francisco-Pascual, J., García-Dorado, D. ve ark. (2019). Colchicine administered in the first episode of acute idiopathic pericarditis: a randomized multicenter open-label study. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 72(9), 709-716.

Sardana, K., Sinha, S. ve Sachdeva, S. (2020). Colchicine in dermatology: Rediscovering an old drug with novel uses. *Indian Dermatology Online Journal*, 11(5), 693.

Schattner, A. (2021). Colchicine—new horizons for an ancient drug. Review based on the highest hierarchy of evidence. *European Journal of Internal Medicine*.

Schenone, A. L. ve Menon, V. (2018). Colchicine in pericardial disease: from the underlying biology and clinical benefits to the drug-drug interactions in cardiovascular medicine. *Current Cardiology Reports*, 20(8), 1-10.

Schlesinger, N., Firestein, B. L. ve Brunetti, L. (2020). Colchicine in COVID-19: an old drug, new use. *Current Pharmacology Reports*, 6(4), 137-145.

Schreiber, J., Leimgruber, W., Pesaro, M., Schudel, P. ve Eschenmoser, A. (1959). Synthese Des Colchicins. *Angew. Chemie*, (71), 637-640.

Scudamore, C. (1819). *A Treatise on the Nature and Cure of Gout and Rheumatism, Including General Considerations of Morbid States of the Digestive Organs; Some Remarks on Regimen; and Practical Observations on Gravel*. By Charles Scudamore, MD Member of the Royal College of Physicians, Of the Medical and Chirurgical Society of London, &c. &c. Author, By Joseph Mallett, 59, Wardour-street, Soho.

Senizza, B., Rocchetti, G., Okur, M. A., Zengin, G., Yıldızıtugay, E., Ak, G. ve ark. (2020). Phytochemical Profile and Biological Properties of *Colchicum triphyllum* (Meadow Saffron). *Foods*, 9(4), 457.

Sevim, D., Senol, F. S., Budakoglu, E., Orhan, I. E., Sener, B. ve Kaya, E. (2010). Studies on anticholinesterase and antioxidant effects of samples from *Colchicum* L. genus of Turkish origin. *Fabad J. Pharm. Sci*, (35), 195-201.

Shah, P. ve Westwell, A. D. (2007). The role of fluorine in medicinal chemistry. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 22(5), 527-540.

Shah, Z., Gohar, U. F., Jamshed, I., Mushtaq, A., Mukhtar, H., Zia-UI-Haq, M. ve ark. (2021). Podophyllotoxin: history, recent advances and future prospects. *Biomolecules*, 11(4), 603.

Sherbet, G. V. (2020). Combretastatin analogues in cancer biology: A prospective view. *Journal of Cellular Biochemistry*, 121(3), 2127-2138.

Shih, H., Pickwell, G. V. ve Quattrochi, L. C. (2000). Differential effects of flavonoid compounds on tumor promoter-induced activation of the human CYP1A2 enhancer. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 373(1), 287-294.

Shoji, R. ve MAKINO, S. (1966). Preliminary notes on the teratogenic and embryocidal effects of colchicine on mouse embryos. *Proceedings of the Japan Academy*, 42(7), 822-827.

Silvis, N. G. (2001). Antimetabolites and cytotoxic drugs. *Dermatologic Clinics*, 19(1), 105-118.

Sitnikov, N. S. ve Fedorov, A. Y. (2013). Synthesis of allocalchicinoids: a 50 year journey. *Russian Chemical Reviews*, 82(5), 393.

Slobodnick, A. "Update on colchicine, 2017." *Rheumatology* 57.suppl_1 (2018): i4-i11.

Smith, E. R., Chen, Z. S. ve Xu, X. X. (2022). Paclitaxel and cancer treatment: Non-mitotic mechanisms of paclitaxel action in cancer therapy. In *Paclitaxel Academic Press*, 269-286.

Solak, Y., Atalay, H., Biyik, Z., Alibasic, H., Gaipov, A., Guney, F. ve ark. (2014). Colchicine toxicity in end-stage renal disease patients: a case-control study. *American Journal of Therapeutics*, 21(6), e189-e195.

Stanton, R. A., Gernert, K. M., Nettles, J. H. ve Aneja, R. (2011). Drugs that target dynamic microtubules: a new molecular perspective. *Medicinal Research Reviews*, 31(3), 443-481.

Sudhakar, A. (2009). History of cancer, ancient and modern treatment methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 1(2), 1.

Suhail, S., Shakir Jamil, S. ve Jilani, S. (2017). Phytochemical and Pharmacological Review of Suranjan Shireen (*Colchicum autumnale*). *Indo American Journal of Pharmaceutical Res*, 7(4), 8492-6.

Sütlüpinar N. (1985). Türkiye'nin sonbahar *Colchicum* türlerinin demekolsin, kolşikozit ve kolşisin yönünden değerlendirilmesi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Doçentlik tezi.

Sütlüpinar N. (1998). The evaluation of Turkish autumn flowering *Colchicum* species. *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University* (32), 1-8.

Sütlüpinar, N. (1983). Türkiye'nin Sonbaharda Çiçek Açan *Colchicum* Türleri Üzerinde Araştırmalar. *Doğa, Bilim Derg. Temel Bilim*, (7), 355-359.

Sütlüpinar, N. (2002). Investigations on Turkish *Colchicum* and Merendera species. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, 44(3).

Sütlüpinar, N., Kılınçlı, T. ve Meriçli, A. H. (2015). Colchicinoids from the Seeds of *Colchicum umbrosum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 51(3), 512-514.

Swamy, M. K. ve Vasamsetti, B. M. K. (2022). Taxol: Occurrence, chemistry, and understanding its molecular mechanisms. In *Paclitaxel*, 29-45.

Swamy, M. K., Purushotham, B. ve Sinniah, U. R. (2021). Camptothecin: Occurrence, Chemistry and Mode of Action. In *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*, 311-327.

Taher, M. A., Nyeem, M. A. B., Billah, M. M. ve Ahammed, M. M. (2017). Vinca alkaloid-the second most used alkaloid for cancer treatment-A review. *Inter J Physiol Nutr Phys Educ*, (2), 723-727.

Tanker, M. ve Tanker, N. (1990). *Farmakognozi*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 65(2), 301-302.

Tarighi, P., Eftekhari, S., Chizari, M., Sabernavaei, M., Jafari, D. ve Mirzabeigi, P. (2021). A review of potential suggested drugs for coronavirus disease (COVID-19) treatment. *European Journal of Pharmacology*, 895, 173890.

Terkeltaub, R. A., Furst, D. E., DiGiacinto, J. L., Kook, K. A. ve Davis, M. W. (2011). Novel evidence-based colchicine dose-reduction algorithm to predict and prevent colchicine toxicity in the presence of cytochrome P450 3A4/P-glycoprotein inhibitors. *Arthritis & Rheumatism*, 63(8), 2226-2237.

Thompson, P. L. (2019). Colchicine in cardiovascular disease: repurposing an ancient gout drug. *Clinical Therapeutics*, 41(1), 8-10.

Toader, M. P., Esanu, I. M., Taranu, T., Mocanu, M. ve Toader, S. (2021). Colchicine in the treatment of refractory aphthous ulcerations: Review of the literature and two case reports. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21(3), 1-1.

Tojo, E., Önür, M. A., Freyer, A. J. ve Shamma, M. (1990). Two trioxygenated phenethylisoquinoline alkaloids from *Colchicum szovitsii*. *Journal of Natural Products*, 53(3), 634-637.

Toplan, G. G., Gürer, Ç. ve Mat, A. (2016). Importance of *Colchicum* species in modern therapy and its significance in Turkey. *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, 46(2), 129-144.

Tufan, A. ve Lachmann, H. (2020). Familial Mediterranean fever, from pathogenesis to treatment: a contemporary review. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 50(2), 1591-1610.

Turker, A. U. ve Usta, C. (2008). Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities. *Natural Product Research*, 22(2), 136-146.

Van der Houwen, T. B., van Hagen, P. M. ve van Laar, J. A. M. (2022, January). Immunopathogenesis of Behçet's disease and treatment modalities. In *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 151956.

Vitiello, A. ve Ferrara, F. (2021). Colchicine and SARS-CoV-2: management of the hyperinflammatory state. *Respiratory Medicine*, (178), 106322.

- Wahba, A. ve Cohen, H. (1980). Therapeutic trials with oral colchicine in psoriasis. *Acta Dermato-Venereologica*, 60(6), 515-520.
- Wen, Y., Wang, Y., Liu, X., Zhang, W., Xiong, X., Han, Z. ve ark. (2017). Camptothecin-based nanodrug delivery systems. *Cancer Biology & Medicine*, 14(4), 363.
- Weng, L. M., Su, X. ve Wang, X. Q. (2021). Pain symptoms in patients with coronavirus disease (COVID-19): A literature review. *Journal of Pain Research*, (14), 147.
- Wessler, J. D., Grip, L. T., Mendell, J. ve Giugliano, R. P. (2013). The P-glycoprotein transport system and cardiovascular drugs. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(25), 2495-2502.
- West, C. M. ve Price, P. (2004). Combretastatin A4 phosphate. *Anti-cancer Drugs*, 15(3), 179-187.
- Winter, S., Penker, M. ve Kriechbaum, M. (2011). Integrating farmers' knowledge on toxic plants and grassland management: a case study on *Colchicum autumnale* in Austria. *Biodiversity and Conservation*, 20(8), 1763-1787.
- Xu, H., Lv, M. ve Tian, X. (2009). A review on hemisynthesis, biosynthesis, biological activities, mode of action, and structure-activity relationship of podophyllotoxins: 2003-2007. *Current Medicinal Chemistry*, 16(3), 327-349.
- Yang, L. P. (2010). Oral colchicine (Colcris®). *Drugs*, 70(12), 1603-1613.
- Yasar, O., Iskender, C., Kaymak, O., Taflan Yaman, S., Uygur, D. ve Danisman, N. (2014). Retrospective evaluation of pregnancy outcomes in women with familial Mediterranean fever. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 27(7), 733-736.
- Yasobu, N., Kitajima, M., Kogure, N., Shishido, Y., Matsuzaki, T., Nagaoka, M. ve ark. (2011). Design, synthesis, and antitumor activity of 4-halocolchicines and their pro-drugs activated by cathepsin B. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2(5), 348-352.
- Yazici, H., Seyahi, E., Hatemi, G. ve Yazici, Y. (2018). Behçet syndrome: a contemporary view. *Nature Reviews Rheumatology*, 14(2), 107-119.
- Yeşiltepe, B. ve Sütülpınar N. (2006). *Colchicum bivonae* Guss. tohumlarının alkaloidleri üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Yu, X., Che, Z. ve Xu, H. (2017). Recent advances in the chemistry and biology of podophyllotoxins. *Chemistry—A European Journal*, 23(19), 4467-4526.

Yusupov, M. K. ve Aslanov, K. A. (1975). Structure of szovitsidine. *Chemistry of natural compounds*.

Yusupov, M. K. ve Sadykov, A. S. (1978). Tropolone alkaloids. *Chemistry of Natural Compounds*, 14(1), 1-19.

Zachariae, H., Kragballe, K. ve Herlin, T. (1982). Colchicine in generalized pustular psoriasis: clinical response and antibody-dependent cytotoxicity by monocytes and neutrophils. *Archives of Dermatological Research*, 274(3), 327-333.

Zhang, D. ve Kanakkanthara, A. (2020). Beyond the paclitaxel and vinca alkaloids: Next generation of plant-derived microtubule-targeting agents with potential anticancer activity. *Cancers*, 12(7), 1721.

Zhang, W., Doherty, M., Pascual, E., Barskova, V., Guerne, P. A., Jansen, T. L. ve ark. (2011). EULAR recommendations for calcium pyrophosphate deposition. Part II: management. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(4), 571-575.

Zhang, X., Rakesh, K. P., Shantharam, C. S., Manukumar, H. M., Asiri, A. M., Marwani, H. M. ve ark. (2018). Podophyllotoxin derivatives as an excellent anticancer aspirant for future chemotherapy: a key current imminent needs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(2), 340-355.

Zhao, W., Cong, Y., Li, H. M., Li, S., Shen, Y., Qi, Q. ve ark. (2021). Challenges and potential for improving the druggability of podophyllotoxin-derived drugs in cancer chemotherapy. *Natural Product Reports*, 38(3), 470-488.

Zhou, Q., Ching, A. K. K., Leung, W. K. C., Szeto, C. Y. Y., Ho, S. M., Chan, P. K. S. ve ark. (2011). Novel therapeutic potential in targeting microtubules by nanoparticle albumin-bound paclitaxel in hepatocellular carcinoma. *International Journal of Oncology*, 38(3), 721-731.

Zuberbier, T., Aberer, W., Asero, R., Bindslev-Jensen, C., Brzoza, Z., Canonica, G. W. ve ark. (2014). The EAACI/GA 2 LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update. *Allergy*, 69(7), 868-887.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

COLCHICUM VARIEGATUM L. ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR-2

ORJİNALLIK RAPORU

% 14	% 13	% 3	% 2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 8
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
3	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
4	journals.tubitak.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	www.optima-bot.org İnternet Kaynağı	% 1
6	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	Yun Wei, Tianyou Zhang, Guoqing Xu, Yoichiro Ito. "Application of CCC for the Separation of Lutein from a Crude Extract of Marigold Flower Petals", Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2007	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

