

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ELAJİK ASİDİN DOSETAKSEL VE MİTOKSANTRON KEMOTERAPİ
İLAÇLARI KOMBİNASYONLARININ *IN VİTRO* ANTİKANSER
AKTİVİTELERİNİN İNSAN KANSER HÜCRE HATLARI ÜZERİNDE
BELİRLENMESİ, HÜCRE HATLARI VE KOMBİNASYONLARDA
ANTIOKSİDAN VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA

Cuma ZEHİROĞLU

OCAK-2023
GÜMÜŞHANE



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**ELAJİK ASİDİN DOSETAKSEL VE MİTOKSANTRON KEMOTERAPİ
İLAÇLARI KOMBİNASYONLARININ *IN VİTRO* ANTİKANSER
AKTİVİTELERİNİN İNSAN KANSER HÜCRE HATLARI ÜZERİNDE
BELİRLENMESİ, HÜCRE HATLARI VE KOMBİNASYONLARDA
ANTİOKSİDAN VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**DETERMINATION OF *IN VITRO* ANTICANCER ACTIVITIES OF
DOCETAXEL AND MITOXANTRONE CHEMOTHERAPY DRUG
COMBINATIONS OF ELLAGIC ACID ON HUMAN CANCER CELL LINES,
INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ENZYME ACTIVITIES IN CELL
LINES AND COMBINATIONS**

DOKTORA

Cuma ZEİROĞLU

**OCAK-2023
GÜMÜŞHANE**



T.C.

GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ELAJİK ASİDİN DOSETAKSEL VE MİTOKSANTRON KEMOTERAPİ
İLAÇLARI KOMBİNASYONLARININ *IN VİTRO* ANTİKANSER
AKTİVİTELERİNİN İNSAN KANSER HÜCRE HATLARI ÜZERİNDE
BELİRLENMESİ, HÜCRE HATLARI VE KOMBİNASYONLARDA
ANTİOKSİDAN VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

DETERMINATION OF *IN VITRO* ANTICANCER ACTIVITIES OF
DOCETAXEL AND MITOXANTRONE CHEMOTHERAPY DRUG
COMBINATIONS OF ELLAGIC ACID ON HUMAN CANCER CELL LINES,
INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ENZYME ACTIVITIES IN CELL
LINES AND COMBINATIONS

DOKTORA

Cuma ZEİRÖĞLU

Danışman: Prof. Dr. S. Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA

OCAK-2023
GÜMÜŞHANE

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Doktora Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Elajik Asidin Dosetaksel ve Mitoksantron Kemoterapi İlaçları Kombinasyonlarının *In Vitro* Antikanser Aktivitelerinin İnsan Kanseri Hücre Hatları Üzerinde Belirlenmesi, Hücre Hatları ve Kombinasyonlarda Antioksidan ve Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kısıtlara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

06/01/2023

.....

Cuma ZEHİROĞLU

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak hazırlanmıştır. Eğitim hayatım boyunca bilgi ve birikiminin oluşmasında büyük katkıları olan Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalına teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca bilgi, birikim ve tecrübesiyle her daim yanımda olan, akademik hayatımda, çalışma azmi ve başarılarıyla bana örnek olan kadim ve aziz hocam Prof. Dr. Sevim Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA'ya teşekkürü borç bilirim.

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesinde yapmış olduğum hücre kültürü çalışmalarım boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi öğretim üyelerinden Doç. Dr. Ahmet ALTAY'a ve Esmâ Kübra KAĞAN YENİÇERİ'ye teşekkür ederim.

Doktora eğitim hayatım boyunca her daim yanımda olan, desteğini ve sabrını benden esirgemeyen, mutluluk ve huzur kaynağım olan sevgili eşim Songül'e ve kokusunda dinlendiğim dünyadaki en büyük neşe kaynağım olan güzel kızım Gülce'ne sonsuz teşekkür ederim.

Cuma ZEHİROĞLU
GÜMÜŞHANE – 2023

ÖZET

Günümüzün en önemli sağlık sorunlarından birisi olan kansere bağlı ölümler gitgide artmaktadır. Tedavide kullanılan kemoterapi ilaçlarının ise kanser hücrelerini yok ederken yan etkilerin ortaya çıkmasına neden oldukları da bilinmektedir. Günümüzde kemoterapi ilaçlarının etkinliğini arttırmak ve yan etkilerini azaltmak amacıyla, bu ilaçların doğal maddelerle kombinasyonlarına yönelik çalışmalara ilgi artmıştır.

Çalışmamızda fenolik bir asit olan Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçları ile kombinasyonları hazırlanarak MCF-7 meme kanseri ve A549 akciğer kanseri üzerindeki in vitro antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Konsantrasyonların belirlenmesinde compusyn programı kullanılmıştır. Apoptoz testi uygulanarak hücre ölüm oranı belirlenmiştir. En etkin dozların uygulandığı hücre hatlarında antioksidan enzim aktiviteleri (KAT, SOD, GR ve GST) ve karbonik anhidraz enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca madde ve kombinasyonların antioksidan ve antiradikal özellikleri araştırılmış ve CAI, II ve IX enzimleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Çalışma sonunda A549 kanser hücre hattına uygulanan Elajik asit + Mitoksantron (25:1 μ M) ve MCF7 kanser hücre hattına uygulanan Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) kombinasyon konsantrasyonlarının en etkin dozlar olduğu, antikanser çalışmalarında apoptozu indükledikleri, sinerjik etkilerinin bulunduğu ve antioksidan enzim aktivite sonuçlarında bunları destekler yönde olduğu görülmüştür. Hücre hattı dışındaki çalışmalarda ise kombinasyonların antioksidan aktiviteye sahip oldukları ve CA I, II ve IX enzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerinin bulunduğu görülmüştür.

Sonuç olarak elde edilen sonuçlar doğal maddelerin kemoterapi ilaçlarıyla beraber kullanımının uygunluğunu birçok yönüyle destekler nitelikte bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Elajik asit, Enzim, Kanser, Kemoterapi

SUMMARY

Cancer-related deaths, one of the most important health problems of our time, are increasing day by day. It is known chemotherapy drugs cause side effects while destroying cancer cells. Today, to increase the effectiveness of chemotherapy drugs and reduce their side effects, there has been an increased interest in studies on the combination of these drugs with natural substances.

In our study, in vitro anticancer activities on MCF-7 breast cancer and A549 lung cancer were investigated by preparing combinations of Elagic acid, a phenolic acid, with Docetaxel and Mitoxantrone chemotherapy drugs. The compusyn program was used to determine concentrations. Cell death rate was determined by apoptosis test. Antioxidant enzyme activities (CAT, SOD, GR and GST) and carbonic anhydrase enzyme activities were determined in the cell lines where the most effective doses were applied. Additionally, antioxidant and antiradical properties of substances and combinations were investigated and their effects on CAI, II and IX enzymes were investigated.

Lastly, It was seen that the combination concentrations of Elagic acid + Mitoxantrone (25:1 μ M) applied to the A549 cancer cell line and Elagic acid + Docetaxel (50:200 μ M) applied to the MCF7 cancer cell line were the most effective doses, they induced apoptosis in anticancer studies, had synergistic effects and antioxidant enzyme activity results supported them. In studies outside the cell line, the combinations have antioxidant activities and inhibition effects on CA I, II and IX enzymes.

Consequently, the results obtained support the suitability of the use of natural substances with chemotherapy drugs in many ways.

Keywords: Antioxidant, Ellagic acid, Enzyme, Cancer, Chemotherapy

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XVII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XXIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Antioksidanlar	1
1.1.1. Endojen Antioksidanlar	1
1.1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	1
1.1.1.2. Non Enzimatik Antioksidanlar.....	4
1.1.1.2.1. Fenolik Asitler.....	4
1.2. Karbonik Anhidraz Enzimi	6
1.2.1. Karbonik Anhidraz Enzimi I ve II	8
1.2.2. Karbonik Anhidraz Enzimi IX (CAIX)	9
1.3. Kanser	10
1.3.1. Meme Kanseri.....	10
1.3.2. Akciğer Kanseri	12
1.3.3. Kemoterapi Tedavisi.....	13
1.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan Kemoterapi İlaçları.....	14
1.4.1. Dosetaksel.....	14
1.4.2. Mitoksantron.....	16
1.5. Kemoterapi İlaçlarının Yan Etkileri.....	17
1.6. Önceki Çalışmalar.....	19
1.7. Çalışmanın Amacı.....	25
1.8. Çalışmanın Kapsamı	26
2. MATERYAL VE METOT	28
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
2.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar.....	28

2.3. Kullanılan Hücre Hatları	28
2.4. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	28
2.4.1. Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	28
2.4.1.1. <i>In Vitro</i> Antioksidan Çalışmaları İçin Numunelerin Hazırlanması.....	28
2.4.1.2. DPPH [•] Giderme Aktivitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler	29
2.4.1.3. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler.....	29
2.4.1.4. DMPD ^{•+} Giderme Aktivitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler	29
2.4.1.5. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Kapasitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler	29
2.4.1.6. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme (FRAP) Kapasitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler	30
2.4.1.7. Cu ²⁺ - Cu ⁺ İndirgeme Kapasitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler	30
2.4.2. Kemoterapi İlaçları ve Fenolik Maddenin Hazırlanması.....	30
2.4.2.1. Elajik Asit	30
2.4.2.2. Dosetaksiel	31
2.4.2.3. Mitoksantron	31
2.4.2.4. Elajik Asit ile Kemoterapi İlaçlarının Kombinasyonlarının Hazırlanması	31
2.4.3. Hücre Proliferasyonu Testinde (XTT) Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	31
2.4.4. Bisinkoninik Asit (BCA) Testi ile Protein Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	312
2.4.5. Apoptoz Testinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	32
2.4.6. Antioksidan Enzim Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	32
2.4.6.1. Katalaz (KAT) Enzimi	32
2.4.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi	32
2.4.6.3. Glutatyon Redüktaz (GR) Enzimi.....	323
2.4.6.4. Glutatyon S – Transferaz (GST) Enzimi.....	33
2.4.7. Karbonik Anhidraz I, II ve IX Enzim Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	33
2.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	33
2.5.1. DPPH [•] Giderme Aktivitesi	33
2.5.2. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi	34
2.5.3. DMPD ^{•+} Giderme Aktivitesi.....	34
2.5.4. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Aktivitesi	34
2.5.5. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme (FRAP) Kapasitesi	35
2.5.6. Cu ³⁺ -Cu ⁺ İndirgeme Kapasitesi.....	35
2.6. Hücre Kültürü Uygulamaları	35

2.6.1. Hücre Hatları ve Kültürü.....	35
2.6.2. Hücrelerin Çözdürülmesi	35
2.6.3. Besiyeri Değişirme.....	36
2.6.4. Hücrelerin Pasajlanması.....	36
2.6.5. Hücre Sayımı.....	36
2.6.6. Hücre Dondurma	37
2.7. Hücre Proliferasyon Testi (XTT)	37
2.8. Compusyn	38
2.9. Bisinkoninik Asit (BCA) Testi ile Protein Tayini	39
2.10. Apoptoz Testi	39
2.11. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	40
2.11.1. Katalaz Enzim (KAT) Aktivitesi	40
2.11.2. Süperoksit Dismutaz Enzim (SOD) Aktivitesi	41
2.11.3. Glutasyon Redüktaz Enzim (GR) Aktivitesi	42
2.11.4. Glutasyon S-Transferaz Enzim (GST) Aktivitesi.....	44
2.12. Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesi	44
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	45
3.1. Antioksidan Aktivite Bulguları	45
3.1.1. DPPH· Giderme Aktivitesi Bulguları.....	45
3.1.2. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi Bulguları	46
3.1.3. DMPD ^{•+} Giderme Aktivitesi Bulguları.....	48
3.1.4. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Aktivitesi Bulguları	50
3.1.5. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme (FRAP) Kapasitesi Bulguları.....	51
3.1.6. Cu ³⁺ -Cu ⁺ İndirgeme Kapasitesi Bulguları	53
3.2. <i>In Vitro</i> Antioksidan Aktivite Bulgularının Sinerjik Etkilerinin Belirlenmesi	55
3.2.1. DPPH· Giderme Aktivitesi Bulguları	55
3.2.2. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi Bulguları	56
3.2.3. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Aktivitesi Bulguları	58
3.2.4. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme (FRAP) Kapasitesi Bulguları.....	60
3.2.5. Cu ³⁺ -Cu ⁺ İndirgeme Kapasitesi Bulguları	62
3.3. Hücre Proliferasyonu Testi (XTT) Bulguları.....	64
3.4. Compusyn Bulguları	86
3.5. Bisinkoninik Asit (BCA) Testi ile Protein Tayini Bulguları	88
3.6. Apoptoz Testi Bulguları.....	90
3.7. Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları.....	92

3.7.1. Katalaz Enzim (KAT) Aktivitesi Bulguları	92
3.7.2. Süperoksit Dismutaz Enzim (SOD) Aktivitesi Bulguları	93
3.7.3. Glutasyon Redüktaz Enzim (GR) Aktivitesi Bulguları	95
3.7.4. Glutasyon S-Transferaz Enzim (GST) Aktivitesi Bulguları.....	98
3.8. Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesi Bulguları	99
3.8.1. Kombinasyonların (MCF7; EA+DOC (50:200 µM) ve A549; EA+MIIX(25:1 µM)) Hücre Hatlarına Uygulanması Sonrası Hücrelerden Alınan Proteinlerde Karbonik Anhidraz (CA) Enzim Aktivitesi Ölçüm Sonuçları.....	99
3.8.2. Elajik asit, Kemoterapi İlaçları ve Kombinasyonların Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (hCAI, II ve IX) Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi.....	100
4. TARTIŞMA	113
5. SONUÇ	131

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için DPPH [·] giderme aktivitesi IC ₅₀ değerleri.....	46
Tablo 2. Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için ABTS ^{·+} giderme aktivitesi IC ₅₀ değerleri.....	48
Tablo 3. Elajik asit, Mitoksantron, Dosetaksel ve Elajik asit Dosetaksel kombinasyonu için 9 µg/mL konsantrasyonu için hesaplanan % DMPD ^{·+} giderme aktivitesi değerleri.....	49
Tablo 4. Fe ³⁺ - Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi metoduna göre; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için 5 µg/mL’de ölçülen absorbans değerleri.....	51
Tablo 5. Frap Fe ³⁺ - Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi metoduna göre; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için 5 µg/mL’de ölçülen absorbans değerleri	53
Tablo 6. Cu ²⁺ -Cu ¹⁺ indirgeme kapasitesi metoduna göre; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için 5 µg/mL’de ölçülen absorbans değerleri.....	54
Tablo 7. Elajik asit ve Dosetaksel’in DPPH [·] giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	55
Tablo 8. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun DPPH [·] giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri.....	56
Tablo 9. Elajik asit ve Dosetaksel’in ABTS ^{·+} giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	56
Tablo 10. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun ABTS ^{·+} giderme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri.....	57
Tablo 11. Elajik asit ve Mitoksantron’un ABTS ^{·+} giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	57
Tablo 12. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun ABTS ^{·+} giderme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri	58
Tablo 13. Elajik asit ve Dosetaksel’in Fe ³⁺ - Fe ²⁺ indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	58

Tablo 14. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri	59
Tablo 15. Elajik asit ve Mitoksantron'un Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	59
Tablo 16. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri	60
Tablo 17. Elajik asit ve Dosetaksel'in Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme (FRAP) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	60
Tablo 18. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} (FRAP) indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri	61
Tablo 19. Elajik asit ve Mitoksantron'un Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme (FRAP) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	61
Tablo 20. Mitoksantron ve Dosetaksel kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} (FRAP)indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri	61
Tablo 21. Elajik asit ve Dosetaksel'in Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	62
Tablo 22. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri	63
Tablo 23. Elajik asit ve Mitoksantron'un Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri.....	63
Tablo 24. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri	63
Tablo 25. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Dosetaksel'in % inhibisyon değerleri	64
Tablo 26. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Mitoksantron'un % inhibisyon değerleri	66
Tablo 27. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik asidin % inhibisyon değerleri	68

Tablo 28. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik Asit + Dosetaksel kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri	70
Tablo 29. MCF-7 hücre hattı üzerine Uygulanan Elajik Asit + Mitoksantron kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri	73
Tablo 30. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Dosetaksel % inhibisyon değerleri	75
Tablo 31. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Mitoksantron'un % inhibisyon değerleri	77
Tablo 32. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik Asidin % inhibisyon değerleri ...	79
Tablo 33. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik Asit + Dosetaksel kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri	82
Tablo 34. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik asit + Mitoksantron kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri	84
Tablo 35. MCF-7 hücre hattında Elajik asit ve Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri	86
Tablo 36. MCF-7 hücre hattında Elajik asit ve Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri	86
Tablo 37. A549 hücre hattında Elajik asit ve Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri	87
Tablo 38. A549 hücre hattında Elajik asit ve Dosetaksel farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri	87
Tablo 39. Farklı konsantrasyonlardaki standart BSA absorbans değerleri	89
Tablo 40. Protein Konsantrasyonları	89
Tablo 41. MCF-7 kanser hücresi ve EA+DOC (50:200 μ M) apoptotik değerleri	91
Tablo 42. Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için ABTS ⁺ giderme aktivitesi IC ₅₀ değerleri	91
Tablo 43. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μ M)ve A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 μ M)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan katalaz (KAT) aktivitesi (nmol/dak/mL) sonuçları	93
Tablo 44. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μ M); A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 μ M)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan SOD aktivitesi (U/mL) sonuçları	94
Tablo 45. Standart konsantrasyonların i-Slope değerleri	95
Tablo 46. Numunelerin i-Slope değerleri	96

Tablo 47. GR aktivitesini belirlemek amacıyla kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μ M); A549 insan akciğer kanseri; EA+MIX (25:1 μ M)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan GSH konsantrasyonu (μ M) sonuçları	97
Tablo 48. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μ M); A549 insan akciğer kanseri; EA+ MIX (25:1 μ M)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan Glutasyon S-transferaz aktivitesi (nmol/dak/mL) sonuçları	99
Tablo 49. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) ve standart sapma değerleri	101
Tablo 50. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit+Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCAI enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)	102
Tablo 51. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA I enzim aktivite (EU/mL) ve standart sapma değerleri.....	103
Tablo 52. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)	104
Tablo 53. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAII enzim aktivitesi (EU/mL) ve standart sapma değerleri	105
Tablo 54. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCAII enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)	105
Tablo 55. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μ M)	

maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA II enzim aktivite (EU/mL) ve standart sapma değerleri	107
Tablo 56. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 µM), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 µM) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 µM) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)	108
Tablo 57. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50µM), Dosetaksel (200 µM) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 µM) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) ve standart sapma değerleri	109
Tablo 58. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 µM), Dosetaksel (200 µM) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 µM) maddelerinin hCA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)	110
Tablo 59. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 µM), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 µM) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 µM) maddelerinin hCA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA IX enzim aktivite (EU/mL) ve standart sapma değerleri.....	111
Tablo 60. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 µM), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 µM) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 µM) maddelerinin CAIX enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)	112

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Elajik asidin kimyasal yapısı	5
Şekil 2. Dosetaksel'in kimyasal yapısı.....	15
Şekil 3. Mitoksantron'un kimyasal yapısı.....	16
Şekil 4. Süperoksit Dismutaz test şeması.....	42
Şekil 5. GSH geri dönüşüm mekanizması.....	43
Şekil 6. Elajik Asit ve Mitoksantron maddelerinin (1-11 µg/mL) DPPH [•] giderme aktivitesi grafiği	45
Şekil 7. Kombinasyonların (Elajik asit + Mitoksantron ve Elajik asit + Dosetaksel) (2-22 µg/mL) DPPH [•] giderme aktivitesi grafiği	45
Şekil 8. Elajik asit ve Mitoksantron maddelerinin (1-6 µg/mL) ABTS ^{•+} giderme aktivitesi grafiği	47
Şekil 9. Kombinasyonların (Elajik asit + Mitoksantron ve Elajik asit + Dosetaksel) (1,125-6,750 µg/mL) ABTS ^{•+} giderme aktivitesi grafiği	47
Şekil 10. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-11 µg/mL) DMPD ^{•+} giderme aktivitesi grafiği.....	48
Şekil 11. Elajik asit + Dosetaksel kombinasyonunun (2-22µg/mL) DMPD ^{•+} giderme aktivitesi grafiği.....	49
Şekil 12. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-17 µg/mL) Fe ³⁺ -Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi grafiği.....	50
Şekil 13. Kombinasyonların (Elajik asit + Dosetaksel ve Elajik asit + Mitoksantron) (2-34 µg/mL) Fe ³⁺ -Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi grafiği.....	50
Şekil 14. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-17 µg/mL) Frap metoduna göre Fe ³⁺ -Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi grafiği.....	52
Şekil 15. Kombinasyonların (Elajik asit + Dosetaksel ve Elajik asit + Mitoksantron) (2-34 µg/mL) Frap metoduna göre Fe ³⁺ -Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi grafiği ..	52
Şekil 16. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-17 µg/mL) Cu ²⁺ Cu ¹⁺ indirgeme kapasitesi grafiği	53
Şekil 17. Kombinasyonların (Elajik asit + Dosetaksel ve Elajik asit + Mitoksantron) (2-34 µg/mL) Cu ²⁺ -Cu ¹⁺ indirgeme kapasitesi grafiği.....	54
Şekil 18. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel'in 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	65

Şekil 19. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel'in 100 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	65
Şekil 20. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel'in 150 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	65
Şekil 21. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel'in 200 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	66
Şekil 22. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	66
Şekil 23. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron'un 0,0125 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	67
Şekil 24. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron'un 0,025 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	67
Şekil 25. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron'un 0,05 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	67
Şekil 26. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron'un 1 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	68
Şekil 27. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	68
Şekil 28. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	69
Şekil 29. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 100 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	69
Şekil 30. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 150 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	69
Şekil 31. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 200 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	70
Şekil 32. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	70
Şekil 33. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	71
Şekil 34. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+100 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	71
Şekil 35. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+150 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	72
Şekil 36. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+200 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	72
Şekil 37. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	72

Şekil 38. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+0,0125 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	74
Şekil 39. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+0,025 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	74
Şekil 40. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+0,05 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	74
Şekil 41. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+1 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	75
Şekil 42. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	75
Şekil 43. A549 hücre hattında Dosetaksi'ın 5 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	76
Şekil 44. A549 hücre hattında Dosetaksi'ın 10 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	76
Şekil 45. A549 hücre hattında Dosetaksi'ın 25 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	76
Şekil 46. A549 hücre hattında Dosetaksi'ın 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	77
Şekil 47. A549 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	77
Şekil 48. A549 hücre hattında Mitoksantron'un 0,1 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	78
Şekil 49. A549 hücre hattında Mitoksantron'un 0,5 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	78
Şekil 50. A549 hücre hattında Mitoksantron'un 1 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	78
Şekil 51. A549 hücre hattında Mitoksantron'un 5 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	79
Şekil 52. A549 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	79
Şekil 53. A549 hücre hattında Elajik asidin 25 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	80
Şekil 54. A549 hücre hattında Elajik asidin 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	80
Şekil 55. A549 hücre hattında Elajik asidin 100 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	80
Şekil 56. A549 hücre hattında Elajik asidin 150 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	81

Şekil 57. A549 hücre hattında Elajik asidin 200 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	81
Şekil 58. A549 hücre hattının mikroskopik görüntüsü	81
Şekil 59. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	82
Şekil 60. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+10 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	83
Şekil 61. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+25 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	83
Şekil 62. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+50 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	83
Şekil 63. A549 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 25+0,1 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	84
Şekil 64. A549 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 25+0,5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	85
Şekil 65. A549 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 25+1 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	85
Şekil 66. A549 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 25+5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü	85
Şekil 67. BSA standart grafiği	89
Şekil 68. MCF-7 kontrol hücresi ve EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonunun apoptoz değerleri	90
Şekil 69. A549 kontrol hücresi ve EA+MİX (25:1 μ M) kombinasyonunun apoptoz değerleri	91
Şekil 70. Formaldehit standart grafiği.....	92
Şekil 71. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μ M)ve A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 μ M)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen katalaz (KAT) aktivitesi (nmol/dk/mL) sütun grafiği	93
Şekil 72. Süperoksit dismutaz standart grafiği.....	94
Şekil 73. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μ M) ve A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 μ M)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi sütun grafiği	94

Şekil 74. Farklı konsantrasyonlarda (0-16 μM) GSH standardı kullanılarak çizilen absorbens zaman grafiği	95
Şekil 75. GR aktivitesini belirlemek amacıyla kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA + DOC (50:200 μM); A549 insan akciğer kanseri; EA + MİX (25:1 μM)) için çizilen absorbens zaman grafiği	96
Şekil 76. GR enzim aktivitesini belirlemek amacıyla çizilen i-Eğim GSH grafiği	97
Şekil 77. GR aktivitesini belirlemek amacıyla kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μM); A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 μM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen GSH konsantrasyonu (μM) sütun grafiği	97
Şekil 78. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μM); A549 insan akciğer kanseri; EA+ MİX (25:1 μM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen Glutasyon S-transferaz aktivitesi (nmol/dak/mL) sütun grafiği	98
Şekil 79. MCF-7 insan meme kanser hücresine Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonu (50:200 μM) uygulaması sonucu 24 saat sonunda alınan protein örneği için hesaplanan % spesifik aktivite grafiği	99
Şekil 80. A549 insan akciğer kanser hücresine Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonu (25:1 μM) uygulaması sonucu 24 saat sonunda alınan protein örneği için hesaplanan % spesifik aktivite grafiği	100
Şekil 81. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μM), Dosetaksel (200 μM) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μM) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) grafiği	101
Şekil 82. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μM), Dosetaksel (200 μM) ve Elajik asit ve Dosetaksel (50:200 μM) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği	101
Şekil 83. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μM), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μM) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μM) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA I enzim aktivite (EU/mL) grafiği	102
Şekil 84. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μM), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μM) ve Elajik asit ve Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μM)	

maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği.....	103
Şekil 85. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50+200 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) grafiği	105
Şekil 86. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit ve Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği	106
Şekil 87. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA II enzim aktivite (EU/mL) grafiği	106
Şekil 88. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit ve Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği.....	107
Şekil 89. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA IX enzim aktivitesi (EU/mL) grafiği	109
Şekil 90. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit ve Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği	109
Şekil 91. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan CA IX enzim aktivite (EU/mL) grafiği.....	110
Şekil 92. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0,1, 0,5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit ve Mitoksantron (25:0,1, 25:0,5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği.....	111

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Abs	: Absorbans
ABTS	: 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)
A549	: Akciğer kanser hücre hattı
BCA	: Bisinkoninik Asit
BSA	: Bovine Serum Albumin
(CH ₃) ₂ CO	: Aseton
°C	: Santigrat derece
CA	: Karbonik anhidraz
CDNB	: 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin
Cl	: Klor
CI	: Kombinasyon indeksi
CNT	: Karbon nano-tüpçükler
CO ₂	: Karbodioksit
Cu	: Bakır
CuCl ₂	: Bakır (II) klorür
Dak.	: Dakika
DCİS	: Duktal karsinoma in situ
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMPD	: N,N'-dimetil-p-fenilendiamin dihidroklorür
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DOC	: Dosetaksiel
DOX	: Doksorubisin
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5'-Dithiobis 2-nitrobenzoik
€	: Euro
EA	: Elajik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FBS	: Fetal Bovine Serum
FeCl ₃	: Demir(III) klorür
Fa	: Fraksiyonel etki
FAD	: Flavın adenin dinükleotid

Fe	: Demir
G	: Gram
GR	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon S- transferaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSSH	: Oksitlenmiş glutasyon
H ⁺	: Hidrojen
HCl	: Hidroklorik asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
H ₂ O	: Su
HCO ₃ ⁻	: Bikarbonat
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC ₅₀	: Yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyonları
K ₂ O ₈ S ₂	: Potasyum Persülfat
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyum ferrisiyanür
kg	: Kilogram
KAT	: Katalaz
LCİS	: Lobüler karsinoma in situ
LR	: Lineerleştirilmiş oran
M	: Molar
mM	: Milimolar
MCF-7	: Michigan Cancer Foundation-7
Mg	: Miligram
MİT	: Mitoksantron
mL	: Mililitre
Mn	: Manganez
MÖ	: Milattan önce
Na ₂ HPO ₄	: Disodyum Fosfat
NAD(P)H	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
Na	: Sodyum
Nm	: Nanometre
Nmol	: Nanomolar
NSCLC	: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
NP	: Nanoparçacık
O ₂	: Moleküler oksijen

O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH ⁻	: Hidroksit iyonu
PBS	: Fosfat tamponu
PI	: Propidyum iyodür
PLGA	: Poli Laktik-ko-Glikolik Asit
PTX	: Paklitaksel
RBC	: Kırmızı kan hücreleri
RNA	: Ribonükleik asid
Rpm	: Devir sayısı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SS	: Standart sapma
TBARS	: Tiobarbitürik asit reaktif madde
TCA	: Trikloroasetik asit
TEMED	: N,N,N',N'-Tetrametilendiamin
TNB	: Trinitrobenzensülfonik asit
TPTZ	: Trispyridil triazin
µM	: Mikromolar
µL	: Mikrolitre
vb.	: Ve benzeri
v.d.	: Ve diğerleri
Zn	: Çinko
WHO	: Dünya sağlık örgütü
WR	: Çalışma reaktifi
XTT	: 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid

1. GİRİŞ

1.1. Antioksidanlar

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektronu olan kararsız, oldukça reaktif, ömrü kısa ve yüksek enerjili molekül veya atomlar olarak tanımlanmaktadır (Boksha vd., 2017; Phaniendra vd., 2015; Poljsak vd., 2011; Ziech vd., 2010).

Serbest radikaller ile reaksiyona girerek onları zayıf moleküllere çeviren veya bir hidrojen iyonu aktararak onların oluşumunu ortadan kaldıran ya da geciktiren antioksidanlar, serbest radikallerin meydana getirdiği toksik etkileri de yok etmeye çalışarak oluşabilecek biyolojik hasarları önlemeye çalışan bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Ertekin, 2021; Neha vd., 2019; Sharafati vd., 2011; Shirzad vd., 2012; Suleman vd., 2019; Vinita vd., 2013).

Antioksidanlar, eksojen ve endojen olmak üzere iki alt başlık altında gruplandırılabilir. Eksojen ve endojen antioksidanlar, pro-oksidan ve antioksidan dengesini sağlamak, vücudu serbest radikallere karşı korumak ve serbest radikallerin etkilerini azaltmak veya tamamiyle yok etmek amacıyla kullanılırlar (Pham-Huy vd., 2008; Sen, 2011).

Besin ya da takviye yoluyla alınabilen fakat vücutta üretilmeyen eksojen antioksidanlar oksidatif stresi önlemede endojen antioksidanlara destekte bulunurlar (Bouayed ve Bohn, 2010). Eksojen antioksidanlar karotenoidler, A, C ve E vitamini, antosiyaninler, bazı mineral bileşikler doğal flavonoidler veya bütül hidroksianisol, bütülhidroksitoluen, galat vb. gibi sentetik bileşiklerdir (Suleman vd., 2019).

1.1.1. Endojen Antioksidanlar

Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki alt guruba ayrılmaktadır (Aguilar vd., 2016).

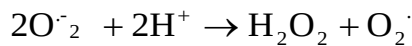
1.1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar, serbest radikalleri parçalamak ve uzaklaştırmak için vücudun ilk savunma hattı olarak görev yaparlar. Antioksidan enzimler, zararlı oksidatif ürünleri hidrojen peroksite ve ardından da suya dönüştürerek dışarı atarlar. Antioksidan enzimlerin oluşması ve aktifleşmesi için selenyum, bakır, manganez ve çinko dahil olmak üzere birçok temel mineral gereklidir. Bu nedenle, bu mineralleri sağlayan

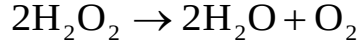
besinler yetersizse, serbest radikallere karşı enzimatik savunmalar bozulabilir (Gupta, 2015; Reena vd., 2018).

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon S- transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimatik savunma hattını oluşturan antioksidanlardır (Ertekin, 2021; Neha vd., 2019).

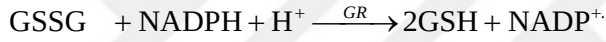
Reaktif oksijen türlerine karşı savunma hattının ilkinin oluşturan süperoksit dismutazlar (SOD), reaktif oksijen türlerini azaltarak ortadan kaldırmada temel olarak kabul edilen ve her canlıda bulunan bir metaloenzimlerdir. Süperoksit dismutaz, aktif merkez bölgelerinde farklı değerliklere sahip metal iyonları bulunduran ve metal kofaktörüne bağlı olarak sitozolik, mitokondriyal Mn-SOD, Cu, Zn-SOD ve hücre dışı-SOD olmak üzere üç izoformu bulunan antioksidan enzimdir. Neredeyse tüm oksijenli solunum yapan hücrelerde ve hücre dışı sıvılarda bulunan, bakır, çinko, manganez ve demir tarafından desteklenen süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) daha kararlı moleküller olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüştürdüğünden dismutasyon reaksiyonunu katalizleyen enzimdir. Katalaz, kendisi için bir substrat olan ve sadece oksijen varlığında oluşan süperoksit anyonlarını hidrojen peroksit'e dönüştürerek hücreleri bu bileşiğin sitotoksik etkilerine karşı korur. Hidrojen peroksit daha sonra süperoksit dismutazın yakın senkronize olarak çalıştığı katalaz ya da glutatyon peroksidaz ile ortamdan uzaklaştırılır (Cecerska-Heryć vd., 2021; George ve Abrahamse, 2020; Gupta, 2015; Karabulut ve Gülay, 2016; Rajput vd., 2021; Salles vd., 2012; Saxena vd., 2022; Sen vd., 2010; Sen vd., 2011).



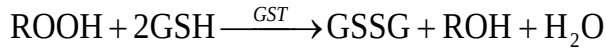
Katalaz, büyük oranda peroksizomlar gibi hücre içi organellerde ve daha az olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunan başlıca birincil antioksidan savunma enzimlerinden birisidir. Memeli hücrelerinin mitokondrilerinde bulunmazlar. Hidrojen peroksitin, H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü demir (Fe) veya manganez (Mn) kofaktörlüğünde katalize eder. Katalazlar işlevsel ve yapısal benzerliklerine göre; tipik veya tek işlevli katalazlar, katalaz-peroksidazlar ve manganez katalazlar olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Tipik katalazlar ve katalaz-peroksidazlar hem prostetik grupları içerirken manganez katalazlar hem grubu olmayan manganez grupları içerirler. Bir katalaz molekülü, 6 milyar hidrojen peroksit molekülünü H_2O ve O_2 'ye dönüştürebilmektedir (Galasso vd., 2021; Gebicka ve Krych-Madej, 2019; George ve Abrahamse, 2020; Gupta, 2015; Ighodaro ve Akinloye, 2018; Monfared vd., 2009; Powers vd., 2010; Sharma vd., 2018; Sotler vd., 2019).



Flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren flavoprotein bir enzim olan glutatyon redüktaz, (GR; EC 1.8.1.7) nikotinamid adenin dinükleotit fosfata (NAD(P)H) bağımlı bir enzimdir ve askorbat-glutatyon yolunun önemli bir bileşenidir. Glutatyon redüktaz, glutatyon ile ilgili bir enzim olup mitokondri ve sitozolde bulunmaktadır. Glutatyon redüktaz, oksitlenmiş glutatyonu (GSSH), indirgenmiş glutatyonla dönüştürerek uygun GSH konsantrasyonlarını korumaktan sorumludur. Aktif bölgesinde iki sistein kalıntısı bulunan glutatyon redüktaz'ın katalize ettiği reaksiyon iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta NAD(P)H tarafından azaltılan indirgenmiş FAD, indirgeme gücünü aktif bölgedeki sistein üzerindeki tiyol gurubuna aktarır. İkinci basamak ise oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) indirgenmesi, dimerik oksitlenmiş glutatyonu indirgenmiş glutatyonla indirgeyen GSSG'nin disülfid bağına nükleofilik bir saldırıyı içeren bir tiyol-disülfid değişim reaksiyonu yoluyla gerçekleşir. Glutatyon redüktaz ayrıca oksijen detoksifikasyonundan sorumlu reaksiyonlara da katılır (Cecerska-Heryć vd., 2021; Gill vd., 2013; Rajput vd., 2021; Sotler vd., 2019).



Geniş reaksiyon aralıklarını kapsayan çok sayıda alternatif substrat ile doğası gereği oldukça çok yönlü olan glutatyon S-transferaz ailesi nükleik asitlerin, proteinlerin sentezinde ve ayrıca ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan kilit antioksidanlardan birisidir. Glutatyonun hidrojen peroksit indirgemesinin bir ürünü olarak oluşan oksitlenmiş GSH'yi uzaklaştırır. Glutatyon S-transferazlar ayrıca endojen doymamış aldehytlerin, peroksitlerin ve epoksitlerin etkisizleştirilmesinden de sorumludur (Cecerska-Heryć vd., 2021; George ve ve Abrahamse, 2020; Rajput vd., 2021).



Hücrelerin sitoplazmasında bulunan ve H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri koruyarak H_2O_2 'den OH^- 'in oluşmasını engelleyen glutatyon peroksidazlar, dört protein alt birimi ve her bir alt birimde maksimum etkinlik için bir selenyum atomu içermektedirler. Hücresel mitokondride, birinci sıra antioksidan olan Glutatyon peroksidaz, indirgenmiş glutatyonun (GSH) H_2O_2 aracılı oksidasyonu yoluyla hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya ve yağ asidi peroksitlerini alkollere dönüştürür (Chen vd., 2013; Kumaran ve Prince, 2010; Murphy, 2012; Sen, 2011; Tkachenko vd., 2014).

1.1.1.2. Non Enzimatik Antioksidanlar

1.1.1.2.1. Fenolik Asitler

Fenolik bileşikler doğrudan bir aromatik halkaya bağlı, bir veya daha fazla hidroksil grubuna sahip olan fenilalanin ve tirozin türevleridir. Özellikle meyve ve sebzelerde yüksek miktarlarda bulunan ve onların duyusal ve besin kalitelerini önemli derecede belirleyen ikincil metabolitler olarak tanımlanırlar (Balasundram vd., 2006; Costa, vd., 2015; Ignat vd., 2011; Kantar, 2019; Lapornik vd., 2005; Popa vd., 2008; Vuolo vd., 2019; Yavuz, 2019).

Fenolik bileşikler, bitkilerin üreme ve gelişme aşamalarında, renklerinin tamamlanması ve pestisitlere karşı direnç sağlanması gibi önemli rollere sahip olmalarının yanı sıra antimikrobiyal, antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antidiyabetik, nöroprotektif, antimitojenik, antialerjik özellikler gibi çeşitli biyoaktiviteleri dolayısıyla insan sağlığı açısından da önemli bir yere sahiptirler. (Barros ve Junior, 2019; Embuscado, 2015; Ferreira vd., 2018; Habtemariam vd., 2014; Kurup vd., 2018; Lattanzio, 2013; Niedzwiecki vd., 2016; Shetty vd., 2016; Singh vd., 2016; Sridharan vd., 2016; Umeno vd., 2016; Veira da Silva, vd., 2016).

Fenolik bileşikler fitokimyasallar içinde en yaygın gruptan birisi olmakla beraber antioksidatif etkisi de hidroksil gruplarının konumuna, sayısına ve konjuge çift bağların sayısına bağlı olarak yükselmekte veya azalmaktadır (Murkovic, 2016).

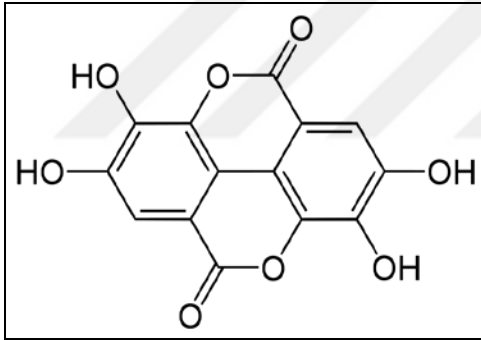
Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Bitkilerde pigmentasyonu, üremeyi, büyümeyi ve patojenlere karşı direnci indükleyen (Hazafa vd., 2022) ve antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-alerjik, immün düzenleyici, anti-alerjik ve anti-kanser aktiviteyi içeren diyet sağlık yararları ve işlevleri nedeniyle dikkat çeken (Anantharaju vd., 2016; Kumar ve Goel, 2019) fenolik asitler, en az bir tane karboksil grubu ve bir fenol halkası içeren en basit fenolik sınıfı olarak; karboksil gruplarının sayısına göre hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Mark vd., 2019; Senica vd., 2016).

Hidroksisinnamik asit C6-C3 yapısında olup, Kafeik, Kumarik, Ferulik ve Sinapik asitlerini içerirken hidroksibenzoik asit ise C6-C1 yapısında olup, p-Hidroksibenzoik asit, Protokateşik, Vanilik, Gallik, Elajik ve Şirinjik asitleri içermektedir (Cong-Cong, vd., 2017; Kubo vd., 2011).

Çeşitli meyve, sebze, içecek ve baklagillerden elde edilen bitkilerin önemli bileşenleri olan aromatik asidik bileşikler olarak kabul edilen ve biyoaktif bileşiklerin en baskın sınıfı olan fenolik asitler, çoğunlukla kayısı, üzüm kiraz, turungiller, mango, şeftali, kıvılcık, yaban mersini, armut gibi meyvelerde ve soğan, patlıcan, brokoli,

domates, lahana, ıspanak gibi sebzelerde, bazı tahıllarda, yağlı tohumlarda, kuruyemişlerde, kahve ve yeşil çayda bulunur (Grgic vd., 2020; Karasawa vd., 2018; Luna-guevera, vd., 2018; Stuper-Szablewska ve Perkowski, 2019).

Elajik asit (2,3,7,8-tetrahidroksibenzopiranol [5,4,3-cde]benzopiran-5,10-dion) polifenolik olarak sınıflandırılan ve genel olarak yeşil çay, çilek, üzüm, nar, kuş üzümü, kızılıçık, okaliptüs kabuğu, ahududu, ceviz, badem ve fındıkta gibi meyvelerde bulunan doğal bir bileşiktir (Aiyer vd., 2012; Garcia-Nino ve Zazueta, 2015; Jaman ve Sayeed, 2018; Kowalczyk vd., 2019; Mathiyazhagan vd., 2020; Rozentsvit vd., 2017; Shakeri vd., 2018; Sharma vd., 2017). 1831'de Braconnot (Malini vd., 2011) tarafından keşfedilen Elajik asit (EA), 4 hidroksil grubu ve hidrofilik bir kısmı temsil eden bazı lakton halkalarından oluşur (Mady ve Shaker, 2017). Serbest formda veya türevler halinde bulunabilen Elajik asitler, esas olarak ellagitanninler adı verilen ince ve kalın bağırsağın farklı bölümlerinde Elajik asit'e kolayca hidrolize edilebilen ve böylece meyve ve sebzelerin alınmasından sonra plazma seviyelerini artıran karmaşık bir polimerdir.



Şekil 1. Elajik asidin kimyasal yapısı (Yoganathan vd., 2021)

Fizikokimyasal açıdan 360 °C'nin üzerinde bir erime noktasına, 796.5 °C bir kaynama noktasına, 302.197 g mol⁻¹ moleküler ağırlığına (Fotie, 2010) sahip olan Elajik asitler, karboksilik asit gruplarının intramoleküler laktonizasyonu ile oksidatif aromatik eşleşme ile Gallik asidin dimerizasyonundan kaynaklanan organik hetero-tetrasiklik bileşiktir (Agrawal ve Kulkarni, 2020). Elajik asitler, krem renkli iğneler veya sarı toz olarak görünürler, kokusuzdurlar, suda az çözünürler, alkalilerde çözünürler, piridin, eterde çözünmezler, ısıtıldığında buruk duman ve tahriş edici buhar yayarlar (Agrawal ve Kulkarni, 2020; Evtyugin vd., 2020).

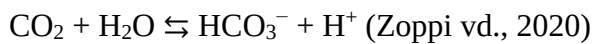
Elajik asitler, antimitojenik, antijenotoksik, antibakteriyel, antiviral, anti-inflamatuar, antiaterojenik, antidiyabetik, antiepileptik, antidepresan, antianksiyete,

pnömoprotektif, nefroprotektif, kardiyoprotektif, hepatoprotektif, antiapoptotik, anti-tümör, antioksidan, ve antikanserojenik dahil olmak üzere birçok biyolojik aktivitelere sahiptirler (Abuelsaad vd., 2013; Baradaran vd., 2020; Chen vd., 2018; Dávalos vd., 2019; Derosa vd., 2016; Dhingra ve Chhillar, 2012; Dhingra ve Jangra, 2014; El-Garhy vd., 2014; El-Shitany vd., 2014; Galano vd., 2014; Girish vd., 2013; Kannan ve Quine, 2012; Kuo vd., 2011; Lee vd., 2014; Ou vd., 2010; Park vd., 2014; Pinto vd., 2010; Pirzadeh-Naeni vd., 2020; Promsong vd., 2014; Rehman vd., 2012; Saba vd., 2013; Umesalma ve Sudhandiran 2011; Zahin vd., 2014; Zeb, 2018; Wu vd., 2020).

Biyolojik olarak aktif bir ikincil metabolit olan Elajik asidin, mide, karaciğer ve kalp koruması ve obezitenin önlenmesi gibi etkileri olduğu belirtilmiştir. Ayrıca antiproliferatif, antianjiyogenik ve anti-metastatik özelliklerinin hücre döngüsünü inhibe ederek, çoklu hücre içi sinyal yollarını ve öncelikle apoptozu indükleyerek düzenlendiğinden (Ceci vd., 2018; Cheshomi vd., 2020) dolayı meme kanseri, cilt kanseri, özofagus kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri ve osteojenik sarkom dahil olmak üzere birçok kanser türünde güçlü önleyici ve tedavi edici etkiler göstermektedir (Ceci vd., 2018; Chen vd., 2018; Cheshomi vd., 2020; Heber, 2008; Ríos vd., 2018; Wang vd., 2012).

1.2. Karbonik Anhidraz Enzimi

Tüm canlı organizmalarda bulunan ve anahtar molekül olarak kabul edilen karbondioksit (CO_2) bikarbonat (HCO_3^-) ile dengede bulunmaktadır. Dünyadaki yaşamın evrimi sırasında, CO_2 ve bikarbonatın birbirine dönüşümünü katalize eden bir metalloenzim süper ailesi gelişmiştir (Hassan vd., 2013; Capasso ve Supuran, 2015; Neri ve Supuran, 2011; Supuran, 2016). Bu da günümüzde karbonik anhidraz (CA) (E.C.4.2.1.1) ailesi olarak bilinmektedir. Karbonik anhidrazlar, CO_2 'nin geri dönüşümlü hidrasyonunu katalizleyerek görev alan, bikarbonat (HCO_3^-) iyonu ve bir proton (H^+) üreten, aktif alan boşluğunda çinko (Zn^{+2}) içeren bir metalloproteindir (Abdel-Mohsen vd., 2022; Alterio vd., 2012; De Simone vd., 2013; Neri ve Supuran, 2011; Singh vd., 2018; Supuran, 2016; Supuran vd., 2019; Zamanova vd., 2019; Zoppi vd., 2020).



Reaksiyonda görüldüğü üzere karbonik anhidrazlar tarafından kullanılan substratlar basit moleküller/iyonlardır (Supuran, 2016). Karbonik anhidrazların aktif bölgesi hidroksit iyonu (OH^-) ile bağlanmış bir çinko (Zn^{+2}) (Zhang vd., 2021) iyonu içermektedir. Karbonik anhidraz enziminde His 94, His 96 ve His 119 olmak üzere üç histidin kalıntısı mevcuttur ve yan zincir kalıntıları Zn^{+2} ile koordinat bağları oluşturur.

Karbonik anhidrazların aktif bölgelerinde karbondioksit (CO_2) için özel bir cep bulunmaktadır. Kataliz eyleminin ilk aşamasını Zn^{+2} bağlı OH^- 'ın CO_2 üzerine nükleofilik saldırısı oluşturur. Bu saldırı neticesinde Zn^{+2} iyonuna zayıf bir şekilde bağlanan bir HCO_3^- oluşur. Bikarbonat (HCO_3^-) iyonu su (H_2O) molekülü tarafından çıkarılana kadar Zn^{+2} iyonuna bağlı olarak kalır. H_2O molekülü (HCO_3^-) iyonunu yerinden çıkardığında bu iyon farklı ağ geçidi kanallarında veya $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ değiştirici, $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ değiştirici ve çeşitli fizyolojik eylemlerde benzersiz roller oynayan diğer birçok kanal gibi taşıyıcılarda rol oynar. HCO_3^- iyonu salındığında, H_2O molekülü OH^- iyonunu yeniden oluşturmak için Zn^{+2} iyonuna bağlanır (Kumar vd., 2021).

Karbonik anhidrazlar yaşam boyunca organizmadaki hemen hemen tüm dokularda vücudun iç ortamının sabit durumunu korumak için pH düzenleme süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır (Alterio vd., 2012; Alyar vd., 2021; Bal vd., 2019; Bayram vd., 2008; Supuran, 2016). pH düzenlemesinin dışında CO_2 homeostazı ile ilgili önemli fizyolojik süreçlerde yer alan karbonik anhidrazlar ayrıca biyosentetik reaksiyonlarda (glukoneogenez, lipogenez ve üreagenez), sıvı salgılanmasında, CO_2 'nin dokulardan akciğerlere (bikarbonat şeklinde) kan yoluyla taşınmasında görev alırlar. Dolayısıyla bu süreçlerin düzenlemesindeki önemli rolleri nedeniyle karbonik anhidrazlar hemolitik anemi, glokom, renal tübüler asidoz, osteoporoz, nöropatik ağrı, kolorektal kanser vb. gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynarlar (Aktas vd., 2020; Gilmour, 2010; Günsel vd., 2020; Karimov vd., 2020; Kumar vd., 2021; Supuran, 2016).

Her biri farklı yapı ve özelliklerle karakterize edilen çeşitli CA türleri mevcuttur (Nocentini ve Tanc, 2019; Sharma vd., 2020). Hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunan ve birçok fizyolojik süreçte rol oynayan karbonik anhidrazların α , β , γ , δ , ζ , η , θ ve ι dahil sekiz farklı genetik ailesi bulunmaktadır. Mevcut genetik ailenin üç sınıfı (η , θ ve ι) yakın zamanda keşfedilmiştir (De Simone vd., 2015; Jensen vd., 2019; Neri ve Supuran, 2011; Ozensoy vd., 2016; Supuran, 2016). İnsanlarda, farklı hücre lokalizasyonu, katalitik aktivite, farklı inhibitör ve aktivatörlerine karşı duyarlılığı olan 16 farklı CA izoenzimi bulunmaktadır (Alim, 2018; Alterio vd., 2012; Köksal vd., 2019; Neri ve Supuran, 2011; Supuran, 2016; Zhang vd., 2021). Bu 16 CA izoenzimlerinden bazıları sitozolik (CA-I, CA-II, CA-III, CA-VII ve CA-XIII), bazıları transmembran ilişkili (CA-IV, CA-IX, CA-XII, CA-XIV ve CA- XV) olup ikisi mitokondriyal (CA-VA ve CA-VB) biri de salgılanmış (CA-VI) formdadır. Öte yandan, katalitik olarak aktif olmayan CA ile ilişkili izoenzimlerde (CARP-VIII, CARP-X ve CA-XI) sitozolik proteinlerdir (Akocak vd., 2017). Bu izoenzimler, enzim aktivitesi ve

CA inhibitörleri ile inhibisyon bakımından farklılık gösterir (Waheed ve Sly, 2017; Mishra vd., 2020). Ayrıca bu toplam 16 hCA izoformundan 12 hCA (hCA I-VA, VB-VII, IX, XII-XIV) katalitik insan izoformları iken geri kalan dördü (hCA VIII, hCA X-XI) katalitik olmayan insan izoformlarıdır (Alterio vd., 2012; Frost, 2014).

Hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunan karbonik anhidrazların her bir sınıfın üyeleri, farklı biyokimyasal özellikler ile karakterize edilen, spesifik doku veya organlarda yerleşim gösteren protein izoformlarına sahiptir. Hayvanlarda bulunan CA'lar α sınıfına aittir. Bitkiler ve alglerde α , β , γ , δ , θ ve ι sınıfları bulunurken; mantarlar α ve β CA'lara sahiptir. Protozoalar α , β ve/veya η CA'ları bulundururken; bakteriler α , β , γ , ve ι CA'ları kodlar (Ozensoy vd., 2016; Supuran, 2016).

1.2.1. Karbonik Anhidraz Enzimi I ve II

CA I nötrofillerde, kornea epiteli, lenste, gözün siliyer cisim epitelinde, ter bezlerinde, yağ dokusu, kalın bağırsak epitelinin miyoepitelyal hücreleri gibi vücut dokularında bulunur. Ayrıca CA II ile birlikte kırmızı kan hücrelerinde (RBC'ler) önemli miktarda bulunur. Bu nedenle, CA II aktivitesinin sadece yaklaşık %15'ine sahip olmasına rağmen, CA I insan eritrositlerinde CA II'den beş ila altı kat daha fazladır. CA I, RBC'lerde en bol bulunan hemoglobin olmayan protein olmasına rağmen, yokluğundan hematolojik anormallikler oluşmaz. Hem CA I hem de CA II, kandaki çözülmüş CO_2/HCO_3 havuzlarının dengelenmesine katkıda bulunur, bikarbonat iyonu üreterek insan kanının fizyolojik pH'sını korur ve dokulardan akciğerlere CO_2 taşınmasını kolaylaştırır (Aggarwal vd., 2013; Kumar vd., 2021; Zamanova vd., 2019).

CO_2 hidrasyonu için difüzyon sınırına yaklaşan bir devir hızına ($K_{cat} = 1.4 \times 10^6 \text{s}^{-1}$) ve vücuttaki en geniş dağılıma sahip olan karbonik anhidraz II, eritrositlerde, nötrofillerde, beyinde, gastrointestinal sistemde, gözlerde, böbreklerde, mide parietal hücrelerinde, duodenum, bağırsak ve kolonun epitel hücrelerinde, pankreas kanal hücrelerinde, uterus endometriyal hücrelerinde, seminal vezikül ve duktus deferens epitel hücrelerinde hemen hemen her doku veya organda en bol bulunan karbonik anhidraz izoenzimidir (Entezari Heravi vd., 2017; Zamanova vd., 2019).

Karbonik anhidraz II, insan vücudunun çeşitli fizyolojik ve patolojik aktiviteleri ile ilgilidir. Karbonik anhidraz II'nin aktivitesini inhibe ederek, glokom, ödem ve epilepsi etkili bir şekilde tedavi edilebilir (Vats vd., 2019). Bu nedenle, karbonik anhidraz II'nin yapısı ve işlevinin araştırılması ve hastalıkların tedavisi için inhibitörlerinin araştırılması giderek daha fazla araştırmacının ilgisini çekmiştir (Zhang vd., 2021). Bu CA izoziminin insan vücudundaki etkisi en iyi örnek, osteopetroz, renal

tübüler asidoz ve serebral kalsifikasyon ile karakterize bir insan otozomal resesif bozukluğu olan CA II eksikliği sendromudur. Bu bozukluktan muzdarip kişiler, gelişimsel gecikme, kısa boy, bilişsel kusurlar ve kemik kırılabilirliği ile karakterize edilir (Zamanova vd., 2019).

Yapılan literatür taramalarında araştırmacılar CA I enziminin, meme (Zamanova vd., 2019), akciğer (Wang vd., 2016) ve prostat (Takakura vd., 2012) kanserlerinde biyobelirteç olarak kullanılabileceklerini öne sürmüşlerdir. Yine literatür taraması sonucu elde edilen bilgiler neticesinde yapılan çalışmalarda meme kanseri (Noor vd., 2018), lösemi (Leppilampi vd., 2002) ve kolorektal (Zhou vd., 2013), gastrointestinal (Parkkila vd., 2010), beyin (Haapasalo, 2020), pankreas (Sheng vd., 2012) ve hepatoselüler karsinom (Zhang vd., 2019) dahil olmak üzere bazı malign hücre tiplerinde hücre içi CA II'nin aşırı ekspresyonunu bildirilmiştir.

1.2.2. Karbonik Anhidraz Enzimi IX (CAIX)

Karbonik anhidraz IX (CA IX), karbonik anhidrazın orta hızlı ($K_{cat} = 3.8 \times 10^5 s^{-1}$), zara bağlı bir izozimidir. Bir N-terminal proteoglikan alana, katalitik alana, tek geçişli bir transmembran bölgesine ve bir hücre içi kuyruğa sahip olan bir transmembran izozim olan (Alterio vd., 2009; Pastorek ve Pastorekova, 2015; Supuran, 2008) CA IX, farklı hücre altı lokalizasyonları ve doku ekspresyon profilleri ile her yerde bulunan çinko metalloenzimleridir. CA IX'lar hücre dışı pH'ın dengelenmesinde önemli bir rol oynayan karbonik anhidraz ailesinin bir izoformlarıdır (Chafe vd., 2021). CA IX, normal dokularda bulunmayan hipoksi ile indüklenebilir faktör-1a'ya yanıt olarak kanser hücrelerinde aşırı eksprese edilir ve kanser hücrelerinin hipoksi ile indüklenen asidoza adapte olmasına yardımcı olarak kanser hücresi ilerlemesini hem katalitik hem de katalitik olmayan olarak teşvik eder (Abdel-Mohsen vd., 2022). CA IX'un fizyolojik ekspresyonu gastrointestinal sistemle sınırlıyken, CA IX'un aşırı ekspresyonu, geniş bir malignite yelpazesinde olduğu belirtilmektedir. CA IX'un aşırı ekspresyonu akciğer, meme, servikal, beyin, böbrek ve boyun kanserlerinde kötü prognozu gösterir (Pastorekova ve Gillies, 2019; Zamanova vd., 2019). CA IX, bu nedenle klinik olarak bir biyobelirteci, antikanser ilaçlarının geliştirilmesi için de bir hedefi temsil eder (Dvoranova vd., 2020).

Seçici olarak CA IX'u hedefleyen inhibitörlerin geliştirilmesi, yoğun bir araştırma konusu olmuştur (Carta vd., 2014; Kazokaite vd., 2017; Supuran ve Winum, 2015).

1.3. Kanser

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından küresel bir sağlık sorunu olarak kabul edilen, dünya genelinde diğer sağlık sorunları arasından en fazla ölüm oranlarından birisine sahip olan kanser, değişime uğrayarak anormalleşen hücrelerin kontrolsüz ve sınırsız olarak çoğalıp büyümesi ve belirli bir primer bölgeden ya da orijinden köken alarak vücuttaki başka bölgelere yayılması ve invazyonu ile karakterize olan kronik bir hastalıktır (American Cancer Society, 2013; Azamjah vd., 2019; de Castro Sant' Anna vd., 2018; Dhupal ve Chowdhury, 2020; Pecorino, 2012; Yarla vd., 2016; Yadigaroglu, 2019).

Genomik anormallikler, çevresel faktörler, sağlıklı beslenme, yaşam tarzı, sigara ve alkol kullanım alışkanlıkları dahil olmak üzere kanserin başlamasının altında yatan birçok neden vardır (Hayes ve Pearson, 2017; Niu vd., 2014). Kanser, dünyanın ikinci önde gelen morbidite nedenidir ve gelecekte daha da baskın hale gelmesi beklenmektedir (Durante vd., 2020). Dünya genelinde 2020 yılında tahmin edilen 19.3 milyon kanser hastası vakalarının 233 834'ü Türkiye'de görülmüştür. Dünya genelindeki bu vakalarda meydana gelen toplam 10 milyon ölümün 126 334'ü Türkiye'de meydana gelmiştir. 2040 yılında kanser prevalansının Dünya genelinde 28.4 milyonlara çıkabileceği tahmin edilmektedir (Dhupal ve Chowdhury, 2020; Sung vd., 2021).

1.3.1. Meme Kanseri

Meme kanserine ait ilk hastalık kaydının, MÖ 2500-3000 yıllarda Imhotep tarafından hiyerarşik yazıyla yazılmış sekiz Mısır tıbbi papirüsünden biri olan Edwin Smith Cerrahi Papirüsünde bulunduğu inanılmaktadır. Yazmalarda tedavisinin olmadığı da belirtilmiştir (Majid, 2019; Mukherjee, 2010).

Dünya genelinde en tehlikeli hastalık yükünü oluşturan farklı kanser türleri arasında meme kanseri, heterojen ve hormona bağlı bir kanser türü olup tüm kanser vakalarının yaklaşık %25'ini ve tüm kanser ölümlerinin %15'ini oluşturarak dünyada geniş bir popülasyonu tehdit etmektedir. Meme kanseri hem kadınlarda hemde erkeklerde görülebilmesine rağmen erkek meme kanseri nadirdir. Yaklaşık 8 kadından biri, her 1000 erkekten biri yaşamları boyunca invaziv meme kanseri geliştireceği bildirilmektedir. Her yıl 1.7 milyon yeni meme kanseri vakası ile akciğer kanserinden sonra en sık görülen meme kanseri, kadınlarda kanserden dolayı ölümlerin ilk nedeni oluşturmaktadır (Ali vd., 2020; Gucalp vd., 2019; Kern ve Schroeder, 2014; Nagaraju vd., 2012; Schnitt ve Lakhani, 2014; Tabassum vd., 2014; Torre vd., 2015).

Metastatik ve genellikle kemik, karaciğer, akciğer, beyin gibi uzak organlara metastaz yapabilen, kadınlarda daha sık bir şekilde görülen kanser türlerinden biri olan meme kanseri, 2020 yılı içerisinde dünya genelinde 2.3 milyon kadına teşhis konulmuş olup 685 000 kadın da bu kanserden dolayı hayatını kaybetmiştir. Hastalığın erken teşhisi, iyi bir prognoz ve yüksek bir hayatta kalma oranı sağlayabilir (Sun vd., 2017; Sung vd., 2021).

Meme kanseri, biyolojik davranış ve mikroskopik görünümüne göre in situ ve invaziv olarak iki ana gruba ayrılmaktadır.

Kendi arasında da duktal karsinoma in situ (DCİS) ve lobüler karsinoma in situ (LCİS) olarak iki gruba ayrılan in situ meme kanserinde tümör hücreleri lobüle veya duktusa sınırlı olup ışık mikroskopunda stomaya invazyon görülmez (Mukama vd., 2020).

Meme kanserlerinin %50-80'ni oluşturan diğer bir meme kanseri türü ise invaziv meme kanseridir. Bu meme kanseri türünde, kanser hücreleri kanal ve lobüler duvarı geçerek memenin çevresindeki bağ ve yağ doklarına yayılabilir veya metastaz yapabilir (Dieci vd., 2014; Sharma vd., 2010).

Dört aşaması bulunan meme kanserinin en erken evresi, evre 0 (in situ karsinoma) olarak adlandırılır. Bu evreler I'den IV'e kadar uzanır. Evre IV, kanserin artık memenin dışına, beyin, karaciğer, akciğerler, ve kemikler gibi vücudun diğer kısımlarına yayıldığını gösterir ve hastalığın en agresif aşamasını oluşturur (Israel vd., 2018; Neuman vd., 2010).

Meme kanserine sebep olarak gösterilen birçok etken bulunmaktadır. Bunların çoğu kişisel ve çevresel olup değiştirilebilir etkenlerdir.

Meme kanserlerinin en yaygın kalıtsal gen mutasyonları BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonlarıdır. Genel olarak meme kanseri vakalarının %5-10'u kalıtsal gen mutasyonları ile bağlantılıdır. Meme kanseri vakalarının yaklaşık %85'ini ise ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan kadınlar oluşturmaktadır (Godet ve Gikes, 2017).

Değiştirilebilir etkenler arasında yer alan alkol ve sigara kullanımı doza bağlı olarak meme kanseri riskini de arttırmaktadır. Sigaranın 15 kanser türü ile ilişkisi olduğuna dair kanıtların yanı sıra Amerika'da kanser ile ilişkilendirilen ölümlerin en az %30'unun sigara ile bağlantılı olduğu tahmin edilmektedir. Alkol kullanım dozuna bağlı olarak günde 5-14.9 g arasında alkol tüketimi, östrojen seviyesini arttırarak meme kanseri riskini büyük oranda arttırmaktadır (Kamińska vd., 2015; Yin vd., 2015; Kang vd., 2016; Papadakis, 2016).

Transyağ asitlerinin diyet kapsamında alınmasının zararlı etkileri, obezite, metabolik süreçler, sinyal yollarında ki bozulmalar, insülin direnci ve artan yüksek glisemik ürün tüketimi meme kanseri riskini artırmaktadır. Yine obezite de meme kanser riski ile ilişkilidir. Aşırı kilo alımı kanser riskinin artırırken normal vücut ağırlığının korunması meme kanseri riskini engellemektedir (Courneya vd., 2008; Hirko vd., 2018; Norat vd., 2015). Ayrıca menopoza öncesi ve sonrası fiziksel aktivitenin meme kanseri riskini fiziksel aktivite göstermeyenlere kıyasla ortalama %25 azalttığı belirtilmiştir (Lynch vd., 2011).

Meme kanseri ile ilişkili maliyetler de bir endişe konusudur. 2009'da meme kanseri, Avrupa'daki tüm kanserler arasında ikinci en yüksek toplam ekonomik maliyeti (15 milyar €) ve en yüksek sağlık bakım maliyetini (6.73 milyar €) oluşturdu (Luengo-Fernandez vd., 2013). Bunlar, hastalık ilerledikçe önemli ölçüde artar ve uzak meme kanserinin sağlık maliyetleri yerel hastalığa kıyasla %165 oranında artar (Sun vd., 2018).

1.3.2. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri en sık teşhis edilen kanserdir, genellikle kötü prognozludur ve dünya çapında bir halk sağlığı sorunudur. Prevalansı vardır. Kadınlarda ve erkeklerde ölüme sebebiyet veren ikinci kanser türüdür. Akciğer kanseri her yıl dünya çapında 1.8 milyondan fazla ölümlerle sonuçlanmaktadır (Brahmer vd., 2015; Bray vd., 2018; Reck vd., 2016; Rointan vd., 2016; Ye vd., 2015; Werner vd., 2013). Akciğer kanseri 2018'de her iki cinsiyet için dünya çapında toplamda 2.093 milyon yeni vaka ile erkek bireylerde en yaygın, kadın bireylerde ise en yaygın üçüncü kanser çeşitidir. Dünya genelinde kansere bağlı toplam ölümlerinin %18'inden fazlası yani 1.76 milyon ölümün akciğer kanserine bağlı olduğu bildirilmektedir. Bu sayının 2035 yılına kadar 3 milyona kadar çıkması beklenmektedir (Bray vd., 2018; Ferlay vd., 2019; Keikha ve Esfahani, 2018). Akciğer kanseri genellikle ileri bir aşamada teşhis edilir ve akciğer kanseri hücreleri hızla lenf veya kan dolaşımından geçerek karaciğer ve beyin gibi diğer organlara taşınır. Bu nedenle akciğer kanseri sıklıkla yüksek ölüm oranlarıyla ilişkilendirilir (Ramalingam ve Belani, 2008).

Akciğer kanseri Rusya, Çin ve Doğu Avrupa'nın çoğu, Orta Doğu ve Güneydoğu Asya dahil 37 ülkede en yaygın olarak görülen kanser türüdür (Global Cancer Observatory, 2020). Kadınlar arasında akciğer kanserinin en çok görüldüğü ülke Kuzey Kore iken Macaristan erkekler arasında akciğer kanseri en yüksek insidansa sahip

ülkedir. Batı, orta ve doğu Afrika, erkekler ve kadınlar arasında en düşük insidansa sahiptir (Bray vd., 2018).

Akciğer kanseri mikroçevresi, tümör hücrelerinin büyümesi ve gelişmesi için uygun olan akciğer kanseri hücreleri, stromal hücreler ve hücre dışı matristen oluşur. Bunlar arasında stromal hücreler, fibroblastları, bağışıklık hücrelerini ve bazı vasküler endotelial hücreleri içerir (Xie vd., 2021).

Akciğer kanseri geliştirmenin ana risk faktörleri arasında tütün içimi ve tütün ürünlerinin kullanımı, hava kaynaklı çevre kirliliğine maruz kalma (radon, pasif sigara içimi gibi), işyeri maruziyeti (asbest ve arsenik gibi) ve epigenetik değişiklikler yer alır (Samet, 2019). Akciğer kanserinin erken belirtileri asemptomatik olarak mevcuttur. Hemoptizi (kan tükürme), kilo kaybı ve yorgunluk ile başvuran hastalar akciğer kanserinin en sık görülen semptomlarıdır (Woodman vd., 2021).

Akciğer kanseri, histolojik görünümüne göre küçük hücreli akciğer kanseri (tüm vakaların ~%13'ü) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (tüm vakaların ~%85'i) olmak üzere iki tipte sınıflandırılabilir. En sık görülen tip, akciğer kanserlerinin %85'inde teşhis edilen küçük hücreli dışı akciğer kanseridir (Molina vd., 2008).

Yüksek sayıda mitotik olay, genomik instabilite, yüksek vaskülarizasyon ve erken uzak metastaz ile karakterize olan küçük hücreli akciğer kanseri tanısı nadiren lokalize olduğundan, tedavisinde cerrahi rezeksiyon küçük bir rol oynar (Bahman vd., 2019; Gazdar vd., 2017). Küçük hücreli akciğer kanseri tanısı alan hastaların çoğu kemoterapi alır (Miller vd., 2019).

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri oldukça heterojendir ve histolojik olarak adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olarak sınıflandırılır ve toplam 5 yıllık rölatif sağkalım oranları sırasıyla %17, %14, ve %9'dur (Bahman vd., 2019). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin en yaygın türü olan adenokarsinom, sigara içmeyenlerde ve kadınlarda daha yaygındır. Evre I ve II küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarının yaklaşık %56'sı ameliyata alınır. Evre III küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarının sadece %18'i cerrahi ile tedavi edilirken, çoğu (% 62) kemoterapi veya radyoterapi almaktadır (Miller vd., 2019).

1.3.3. Kemoterapi Tedavisi

Kemoterapi, kanser hücrelerinin büyümesini, çoğalmasını durdurmak veya kanser hücrelerini yok etmek amacı ile uygulanan ve nüks riskini azaltması, yüksek kür sağlayıcı etkisi ve sağ kalım oranlarını arttırması nedeniyle yaygın olarak kullanılan

sistemik bir kanser tedavi seçeneğidir (Aslan vd., 2006; Baykara, 2016; Derksen vd., 2017; Kurt vd., 2013; Öber vd., 2006; Trayes ve Cokenakes, 2021).

Birçok farklı yolla uygulanmakta olan kemoterapi tedavisinde bu yollar tercih edilirken bazı kurallar çerçevesinde yapılması gerekmektedir. Kemoterapi uygulama yolları intratekal, intravenöz, intramusküler, oral ve subkutandır (Çanga, 2013).

Kemoterapi tedavisi, ameliyat edilemeyen kanser hastalarında kanser hücrelerini küçülterek septomların azaltılması amacıyla palyatif kemoterapi seçeneği olarak, adjuvan tedavi seçeneği olarak, cerrahi tedavi sonrasında kanser dokusu olmayan ancak oluşabilecek muhtemel mikrometastazları önlemek için ayrıca primer kanser dokusunu küçülterek fonksiyonel ve fiziksel yıkımı az olan cerrahi girişime hazırlamak için neoadjuvan tedavi seçeneği olarak da tercih edilmektedir (Cullinane vd., 2021; Eroğlu ve Çiçek, 2014).

1.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan Kemoterapi İlaçları

Kemoterapi, kelime olarak ilaçla tedavi anlamına gelmektedir. Kanser tedavi sürecinde kemoterapi, kanseri iyileştirmek, yaşam süresini uzatmak, yaşam kalitesini arttırmak, yapısal ve fonksiyonel yetersizlikleri azaltmak veya ortadan kaldırmak, metastaz oluşumunu önlemek, kanser tedavisinin önceliklerini ve ulaşılmak istenen hedeflerini oluşturmak amacıyla ilaçların kullanılmasıdır (Aslan vd., 2014; Dolu, 2021; World Health Organization, 2021).

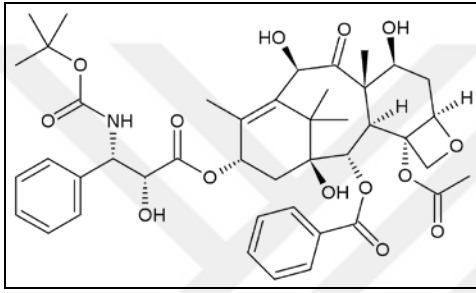
Kanser tedavi yöntemlerinden birisi olan kemoterapide özellikle cerrahi yöntemle tedavi edilemeyen hastalarda önemli bir tedavi metodu olarak kullanılan kemoterapik ilaçları kan dolaşımı ile tüm vücuda yayılıp kanser hücrelerini yok ederek kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasını engellemektedir (Lennan, 2011; Önal, 2020; Papadakis, 2016). Amaç hastayı tedavi etmenin yanı sıra semptomlarını azaltarak yaşam kalitesini yükseltmektir (Dolu, 2021).

Kemoterapi protokolleri ve şemaları kanser türü, evresi ve hastanın durumu gibi etkenlere göre farklılık gösterebilmektedir. Bu etkenlerden dolayı kemoterapi ilaçları da tek ya da kombine olarak kullanılabilir. Bu tedavi protokolü kür olarak isimlendirilmekte olup bu kürler 2-3 gün üst üste olabildiği gibi 7 gün, 15 gün, 21 gün ve 28 gün aralıklarla da uygulanabilmektedir (Ayvat, 2019).

1.4.1. Dosetaksel

Dosetaksel (DOC), kanser tedavi yöntemlerinden birisi olan kemoterapide kullanılan bir ilaçtır. Dosetaksel, avrupada yetişen bir porsuk ağacı olan Taxus

Baccata'nın yapraklarından elde edilen taxan ailesine ait ikinci nesil yarı sentetik bir ilaç olup molekül ağırlığı 807.879 g/mol ve moleküler formülü $C_{43}H_{53}NO_{14}$ olan karmaşık bir diterpen alkaloitdir (Masters vd., 2015; Imran vd., 2020; Shekari vd., 2020). Doğada kristal şeklinde ve beyaz ila kirli beyaz renkli olan Dosetaksel 10-deasetilbakatin III bileşiğinden yarı sentetik olarak türetilmiştir (da Silva vd., 2018). Dosetaksel, 232 °C'lik bir erime noktasına sahiptir ve düşük çözünürlük ve geçirgenliğe sahip biyofarmasötik sınıflandırma sisteminin çözünme/geçirgenlik sınırlı ilaç kategorisi olan Sınıf IV aittir (Sohail vd., 2018). Dosetaksel, alfa, beta ve gama fazları için sırasıyla 4.5 dakika, 38.3 dakika ve 12.2 saat yarı ömürleri olan üç bölmeden oluşan iyi tanımlanmış bir farmakokinetik profil ile sunulur.



Şekil 2. Dosetaksel'in kimyasal yapısı (Zhang vd., 2019)

Anti-neoplastik ajanların çeşitli sınıfları arasında taksan ailesi, bir dizi kanserin tedavisinde rolü nedeniyle geniş çapta araştırılan önemli bir sınıftır (Sohail vd., 2018, Zhang ve Zhang, 2013). Taksanlar (Paklitaksel ve Dosetaksel), şu anda mevcut antikanser bileşiklerinin yaklaşık 3.5 milyar ABD Doları (Amerika Birleşik Devletleri Doları) ile en büyük satış hacmine katkıda bulunmaktadır (Sohail vd., 2018).

Mikrotübüller ökaryotik hücre iskeletinin en önemli bileşenleri olan göç, hücre bölünmesi, sinyalleşme ve hücre içi geçişlerde önemli görevler üstlendiği için kanser hücresi proliferasyonu ve metastaz süreçlerinin önemli araçlarıdır. α,β -tubulin heterodimerleri, polimerizasyon işlemi sırasında mikrotübüller olarak adlandırılan 25 nm çapında içi boş silindirik filamentlerle sonuçlanmak üzere kovalent olmayan bir biçimde birbirine bağlanır. Büyüme ve kısalma dönemleri arasında geçiş yapmak için mikrotübül uçlarındaki tübülün alt birimlerinin eklenmesinden veya kaybolmasından sorumlu olan oldukça dinamik yapılardır ve bu dengesiz davranışa "dinamik kararsızlık" denir. Metafaz sırasında kromozomların hizalanması ve mitozda anafaz sırasında ayrılmadan oluşan kromozomların karmaşık ve yakalama hareketleri, esasen bu dinamik mikrotübüller tarafından yönetilir. Esasen, hücrelerin düşük konsantrasyonlarda

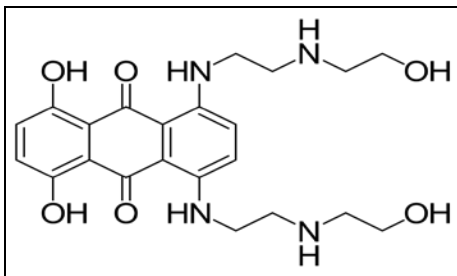
mikrotübül dinamik kararsızlığını baskılayarak çalışan ilaçlara duyarlılığını artırarak hücre bölünmesi süreci için gereklidirler (Azarenko vd., 2014). Dosetaksel, tübüler proteine bağlanarak tümör hücrelerinin ilerlemesini ortadan kaldıran, mitoz sırasında iğ oluşumunu engelleyen, apoptozla ilişkili yolu aktive eden, hücre bölünme döngüsünü engelleyen bir antikanser ilacıdır (Chai vd., 2021; Lim vd., 2017; Sun vd., 2018; Wang vd., 2018). Özetle, Dosetaksel'in bir araya getirilmiş mitotik iğ mikrotübüllerinin kalıcı stabilizasyonuna neden olduğu bilinmektedir, bu da dinamiklerin bozulmasına neden olur ve sonuçta hücre mitozunu ve proliferasyonunu inhibe eder, böylece hücre ölümü ile sonuçlanır (Imran vd., 2020).

Kanser tedavisinde etkili bir antimitotik kemoterapi ilacı olan Dosetaksel, baş ve boyun kanseri, yumurtalık kanseri, meme kanseri, metastatik kastrasyona dirençli prostat kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri dahil olmak üzere birçok katı tümörün tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Alken ve Kelly, 2013; Armstrong ve Gao, 2015; Bellmunt ve Oh, 2010; Hejazi vd., 2017; Lim vd., 2016).

Güçlü antitümör etkinliği olan ikinci nesil bir taksan olan Dosetaksel, kliniklerde ileri meme kanseri tedavisi için yaygın olarak kullanılmasına rağmen (Zhang ve Zhang, 2013) zayıf ilaç dağıtım etkinliği nedeniyle, Dosetaksel'in terapötik etkisi, akut miyeloid lösemi, ateşli nötrojeni, nörotoksisite, kümülatif sıvı tutulması, anemi, gastrointestinal bozukluklar ve aşırı duyarlılık pnömonisi dahil olmak üzere ciddi sistemik toksisite ile büyük ölçüde sınırlıdır (Mager vd., 2019; Zuo vd., 2020).

1.4.2. Mitoksantron

Mitoksantron (MIX) (1,4-dihidroksi-5,8-bis [2-(2-hidroksietilamino) etilamino] antrasen-9,10-dion), kanser tedavi yöntemlerinden birisi olan kemoterapide kullanılan hücre döngüsü ilerlemesini durdurarak programlanmış hücre ölümünü indükleyen spesifik olmayan bir kemoterapötik ajandır (Buczkowski vd., 2019; Xu vd., 2017). Mitoksantron molekülü iki fenol grubu ve dört amin grubu (iki alifatik ve iki anilin) içerir ve sulu çözeltilerde asit-baz dengesine katılmaktadır.



Şekil 3. Mitoksantron'un kimyasal yapısı (Wu vd., 2020)

Trisiklik düzlemselden oluşan kromofor ve iki temel yan zincire sahip simetrik bir ilaç olan Mitoksantronlar, antrasiklinlerin neden olduğu kardiyotoksik etkiyi oluşturduğu düşünülen kinon tipi serbest radikalleri oluşturmadığı ve antineoplastik etkiye sahip oldukları için antrasiklinlere karşı alternatif olmuştur (Al-Otaibi vd., 2018; Delgado vd., 2018). Mitoksantron'un antitümör aktivitesi, Deoksiribo Nükleik asite (DNA) bağlanma ve hem DNA replikasyonunu hem de DNA'ya bağımlı Ribonükleik asit (RNA) sentezini inhibe etmesi ile ilgili yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Enache vd., 2016). Ayrıca Mitoksantron, hasarlı DNA'nın onarımı için önemli bir enzim olan topoizomera II'nin güçlü bir inhibitörü olup tek ve çift zincir kırılmalarına neden olur (Kenneth, 2008; Pommier vd., 2010). Özetle Mitoksantron, DNA lezyonlarını indükleyerek, RNA'ya müdahale ederek ve topoizomera II'yi inhibe ederek çalışır (Evison vd., 2016). Yapısal olarak Mitoksantron simetrik olup iki nitrojen içeren yan zincirle süstitüe edilmiş bir trisiklik düzlemsel kromofor içerir. Düzlemsel antrakion halkası, DNA'nın baz çiftleri arasındaki Mitoksantron molekülü interkalasyonu için anahtar element iken, bazik yan gruplar, negatif yüklü DNA fosfat omurgası ile elektrostatik bağlanmaya katkıda bulunur (Bhattacharyya vd., 2014).

Klinik olarak onaylanmış ve geniş spektrumlu bir antikanser ilacı olarak Mitoksantron, başlıca göğüs kanseri, lösemi, akciğer kanseri, lenfoma ve prostat kanseri dahil farklı kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Al-Otaibi vd., 2018; Basch vd., 2018; Granja vd., 2021; Nastoupil vd., 2017; Yang vd., 2021). Bununla birlikte, Mitoksantron'un terapötik etkinliği, sistemik toksisitesi ve zayıf spesifik hedeflemesi nedeniyle büyük ölçüde sınırlı olup Mitoksantron kemoterapi ilacı tedavisine kardiyotoksikite, miyelosupresyon (kan hücrelerinin yanlış oluşumu), mide bulantısı, kusma ve saç dökülmesi gibi çok sayıda yan etki eşlik eder. Mitoksantron, mutajenik etkiler ve fetal defektler nedeniyle hamilelik sırasında kullanılamaz (Buczkowski vd., 2019; Granja vd., 2021). Ayrıca Mitoksantron vücutta kolayca emilmez, uygulanan herhangi bir Mitoksantron dozunun yaklaşık %31-36'sı basitçe doğrudan atılır (Da Rosa vd., 2019; Stenglova-Netíkova vd., 2018).

1.5. Kemoterapi İlaçlarının Yan Etkileri

Kemoterapi, kanser tedavisine oldukça katkısı olan bir sistematik tedavi yöntemidir. Kemoterapi tedavisinden tam olarak fayda sağlamak için tedavi sürecini olumsuz etkileyen yan etkilerin yönetimi önem arz etmektedir (Arıkan ve Kurt, 2014; Saklı ve Zencirci Demir, 2013; Yıldırım Kuzeyli, 2007; Yoo ve Cho, 2014). Kemoterapi tedavisi, kanser hücreleri üzerinde etki gösterse de normal dokuların

etkilenmesi de kaçınılmaz olduğundan; ciddi mortalite ve morbidite sebebi olmaktadır (Öber vd., 2006).

Kemoterapide kullanılan ilaçların sağlıklı hücreler üzerindeki etkilerine kemoterapinin yan etkileri denilmektedir. Kemoterapi tedavisi kanser hücrelerini yok ederken aynı zamanda kemoterapötik ajanların özelliklerine, doz miktarına ve tedavi süresine bağlı olarak değişmekle birlikte kanser hastalarında depresyon, bulantı, sinirlilik, kusma, lökopeni, tat duyusunda değişiklik, diyare, sistit, göğüs ağrısı, stomatitis, konstipasyon, yorgunluk ve halsizlikler, saç dökülmesi, göz sorunları, cinsel problemler, düşük benlik kaygısı, saldırganlık, kilo alımı, doğurganlık problemleri, hormonal değişiklikler, hafıza-konsantrasyon bozuklukları, libido kaybı, anksiyete, kaşeksi, konfüzyon, nörolojik problemler, lenfödem, nöropati, katılım kısıtlılığı, günlük yaşam aktivite limitasyonları, cilt ve uyku problemleri gibi fiziksel ve psikolojik yan etkilerin yanı sıra gastrointestinal mukoza, gonadlar, kemik iliği, saç folikül hücreleri gibi hızlı bölünen hücrelere etki etmekle birlikte ayrıca bazı organlara doğrudan bir etki göstererek süreç içinde toksisiteye sebebiyet verebilmektedir (American Psychological Association, 2018; Aslan vd., 2014; Cortese, 2020; Kabataş, 2008).

Kemoterapi tedavisine bağlı olarak ortaya çıkan yan etkiler, erken dönem, orta dönem ve geç dönem yan etkileri olmak üzere 3'e ayrılmaktadır. Erken dönemde kemoterapik ilaçlara karşı vücutta alerjik reaksiyonlar oluşur. Bunlar ateş, bulantı, kusma, deride döküntü, ve kızarıklık gibi yan etkilerdir. Orta dönemde oluşan önemli yan etkiler ise kanamaya yatkınlık, bulantı-kusma, kemik iliğinin baskılanmasıyla oluşan anemi, diyare, yorgunluk, konstipasyon, saçlı deride alopesi, mukozitte artış, üritiker ve duygu durum değişikliklerdir. Son olarak kemoterapiye bağlı olarak oluşan geç dönem yan etkileri ise menstrasyonda düzensizlik, libidoda azalma, kalp yetmezliği ve kardiyomiyopati, infertilite ve sterilite, nörolojik problemler, subakut meningeal iritasyonun oluşumu, nefrotoksisite ve hemorajik özellikli sistit gibi üriner sistem reaksiyonlarıdır (Güngör, 2022).

Kemoterapik bir ilaç olan Mitoksantron'un birincil doz sınırlayıcı toksik etkisinin miyelosupresyon olduğu ve antrasiklinlere göre daha az kardiyotoksisite riskine sahip olduğu belirtilmiş olsa da sekonder lösemi gelişme riskinin yüksek olması nedeniyle, Mitoksantron kullanımı, özellikle daha önce antrasiklin tedavisi görmüş hastalarda sınırlandırılmıştır (Evison vd., 2016; Kenneth, 2008). Mitoksantron ilacı ile yapılan tedavilerde amenore, bulantı, flebit, kusma, alopesi, infertilite, üriner ve solunum sistemi enfeksiyonları, geçici lökopeni, anemi, karaciğer fonksiyonlarında bozulma gibi

hafif ve orta şiddetteki yan etkiler sıklıkla görülmektedir (Fox, 2006; Martinelli vd., 2009).

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapik ilaçlardan birisi olan Dosetaksel, saç dökülmesi, düşük tansiyon, kalp krizi, nörosensör ve nöromotor semptomlar, ödem, düşük beyaz kan hücresi seviyesi, kas ağrısı, bulatı, kusma aşırı duyarlılık, iştah azalması, cilt toksisitesi, sıvı tutulması ve kemik iliği baskılanması gibi yaşam kalitesinin düşmesine neden olan yan etkilere neden olmaktadır (Brahmer vd., 2015; Borghaei vd., 2015; Lim vd., 2017; Schutz vd., 2014).

Ne yazık ki, yukarıda bahsettiğimiz yan etkilerin yanı sıra bu iki kemoterapi ilacının uzun süreli kullanılmasının sonucu hastaların büyük bir çoğunluğunda ilaçlara direnç geliştirmesi ve toksisite neden olması endişe uyandırmaktadır (Chai vd., 2021; Hashemi vd., 2021; Park vd., 2018). Bu nedenle, bir çok araştırmacı yan etkilerden kaynaklı olarak düşen yaşam kalitesinin iyileştirilmesi için daha az toksik bir şekilde daha düşük dozlarda kemoterapik ilaçların etkinliğini artırabilecek ve direnci azaltabilecek bazı adayların belirlenmesinin büyük klinik öneme sahip olacağını belirtmişlerdir (Cao vd., 2016; Chai vd., 2021; Lu vd., 2020).

1.6. Önceki Çalışmalar

Elajik asidin antioksidatif etkisinin olduğu literatürde bildirilmiştir. Literatür taramalarında yapılan çalışmalarda Elajik asidin antioksidan aktivitesi, DPPH radikali giderme aktivitesi ABTS radikali giderme aktivitesi, Kuprik iyonları, DMPD, FRAP dahil bir çok antioksidan aktivite belirleme metodu kullanılarak tespit edilmiştir.

Özyürek ve arkadaşları 2009'da Elajik asidin antioksidatif etkisini kuprak metodu kullanarak belirlemişlerdir (Özyürek vd., 2009). Yine Elajik asidin antioksidatif aktivitesini belirlemek Kannan ve Quine'nin 2012'de yapmış oldukları bir araştırma makalesinde DMPD ve FRAP metotlarını kullanarak tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalar neticesinde Elajik asidin farklı konsantrasyonlardaki antioksidatif etkisinin konsantrayona bağlı olarak arttığını ve güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Kannan ve Quine, 2012).

Khanduja ve arkadaşlarının 2006'da ve Mehta ve arkadaşlarının ise 2017'de yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin antioksidatif aktivitesini DPPH radikali giderme aktivitesi kullanarak tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler neticesinde Elajik asidin antioksidatif aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Khanduja vd., 2006; Mehta vd., 2017).

Bir başka çalışmada ise Kılıç ve arkadaşları 2014'te Elajik asidin antioksidatif aktivitesini ABTS ve DPPH radikalleri giderme metodunu göre tespit etmişlerdir. Elde edilen bulgular neticesinde Elajik asidin antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Kılıç vd., 2014).

Çalışmamızda yer alan kemoterapi ilaçları olarak kullanılan Dosetaksel, Mitoksantron ve bu kemoterapi ilaçlarının Elajik asit ile kombinasyonun antioksidan aktiviteleri ile alakalı literatür taramamızda herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Elajik asidin antioksidatif aktivitesinin yanı sıra antikanser, antiproliferatif, antitümör ve antiapoptik gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu literatürde bildirilmiştir. Yapılan literatür taraması sonucunda elde edilen bulgularda Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hatlarında antikanser aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir.

Bu bağlamda Zhang ve arkadaşları 2014'te yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edip etmediğini araştırmışlardır. Yapılan araştırmalar neticesinde Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücre hatlarında konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığını azalttığını tespit etmişlerdir (Zhang vd., 2014). Yine bu bağlamda 2015'te Chen ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde apoptozu indüklediğini tespit etmişlerdir (Chen vd., 2015).

2018'de Liu ve arkadaşları tarafından yapılmış olan bir başka çalışmada ise Elajik asidin farklı konsantrasyonlarda A549 insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) üzerindeki antikanser etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmadan sonuç olarak Elajik asidin hücre proliferasyonunu baskıladığını, hücre döngüsünü durdurduğunu ve PI3K/Akt sinyal yolunu inhibe ederek insan NSCLC A549 hücrelerinde apoptozu indüklediğini tespit etmişlerdir (Liu vd., 2018).

2020'de Duan ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin HOP62 ve H1975 akciğer kanser hücrelerindeki antikanser aktivitesini incelemişlerdir. Yapılan araştırmalardan elde edilen bulgular neticesinde Elajik asidin tümör büyümesini önemli ölçüde baskılayan güçlü antikanser etkileri olduğunu gözlemlemişlerdir (Duan vd., 2020).

2019'da A549 insan akciğer kanser hücre hattında Elajik asidin etkilerini incelemeyi amaçlayan Kutlu ve arkadaşları Elajik asidin uygulanması ile A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki hücre canlılığının konsantrasyon artışına bağlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Kutlu ve arkadaşları elde edilen sonuçlara dayanarak Elajik

asidin farklı kanser hücrelerinde kanser tedavisinde alternatif bir tedavi ajanı geliştirmek amacıyla daha ileri araştırmaları önermişlerdir (Kutlu vd., 2019).

Çalışmamızda kullanılan kemoterapi ilaçlarından birisi olan Dosetaksel'in yapılan literatür taraması sonucunda MCF-7 insan meme kanser hücreleri üzerinde antikanser aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Bu amaçla 2016'da yapılan bir doktora çalışmasında Dosetaksel'in MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki apoptotik ve sitotoksik etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak Dosetaksel'in apoptozunda görevi olan P53 gen ekspresyonunda artış sağlayarak kanser hücrelerini apoptoza yönlendirdiğini, aynı şekilde Sin3A'nın da ekspresyonunun artmasını sağlayarak onu MDM2'nin degradasyonuna karşı savunduğu sonucuna varılabileceğini ileri sürmüştür (Kurt, 2016).

Çalışmamız da yer alan diğer bir kemoterapi ilacı olan Mitoksantron'un A549 insan akciğer kanser hücre hattında antikanser aktiviteye sahip olduğu literatürde bildirilmiştir.

Pawlik ve arkadaşlarının 2016'da yapmış oldukları çalışmada Mitoksantron'un iki insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre dizisi A549 (p53+) ve H1299 (p53-) üzerindeki sitotoksik etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Sonuç olarak Mitoksantron'un antikanser aktivitesinin olduğunu tespit etmişlerdir (Pawlik vd., 2016).

Kanser tedavilerinde kullanılan birçok tedavinin ve özellikle kanser tedavi metotlarından birisi olan kemoterapi tedavilerinde kullanılan kemoterapi ilaçlarının kanser hücreleri üzerindeki olumlu etkilerinin yanısıra birçok olumsuz yan etkilere de sahip oldukları literatürde bildirilmiştir. Günümüzde araştırmacılar, kemoterapi ilaçlarını fenolik asitler, flavonoidler gibi birçok bileşik ile kombine ederek kemoterapi ilaçlarının etkinliğini arttırmayı ve kemoterapi ilaçlarının olumsuz yan etkilerini azaltmayı hedeflemişlerdir.

Bu amaçlarla Ahire ve arkadaşlarının 2017'de yapmış oldukları çalışmada MCF-7 insan meme kanser hücre hattında Elajik asidin radyasyon tedavisi kombinasyon halinde uygulanmasının etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak Elajik asidin, 2Gy ve 4Gy ışınlama tedavisinin neden olduğu normal hücre hasarını azaltarak kanser radyoterapisini iyileştirmek için potansiyel bir ilaç adjuvanı olabileceğini öne sürmüşlerdir (Ahire vd., 2017).

Yine 2017'de yapılan bir diğer çalışmada Moon ve arkadaşları Elajik asidin de bulunduğu fitokimyasalların meme kanseri dahil birçok kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ilacı Siklofosfamid ile kombinasyonlarının MDA MB 231 meme kanseri hücreleri üzerindeki sinerjik etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak Elajik asidin MDA

MB 231 meme kanser hücrelerini öldürmede sinerjik bir yol gösterebileceğini tespit etmişlerdir (Moon vd., 2017).

Bir başka çalışmada ise Badr-Eldin ve arkadaşları 2022’de Elajik asidin meme kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkisini arttırmak için Apamin ile fonksiyonelleştirilmiş Emulzomların insan meme kanser hücre hatları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak MCF-7 hücrelerine karşı önerilen formülasyonun, nemli bir apoptotik aktivite gösterdiğini tespit etmişler ve Elajik asidin sitotoksitesini arttırmak için başarılı bir dağıtım platformu olabileceğini belirtmişlerdir (Badr-Eldin vd., 2022).

Ali ve arkadaşları 2020’de yapmış oldukları bir araştırma makalesinde meme kanseri tedavisinde kullanılan Pemetrexed ile Elajik asidin birlikte verilmesi için laktoferrin bağlı mezogözenekli silika nanoparçacıkları geliştirmişlerdir. Pemetrexed ile Elajik asit kombinasyonunun MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) meme kanseri hücrelerine karşı yüksek sitotoksite sergilediğini gözlemlemişlerdir (Ali vd., 2020).

Kim ve arkadaşlarının 2013’te yapmış oldukları çalışmada Elajik asidin Paraquat kaynaklı oksidatif strese karşı etkisini araştırmışlardır. Çalışma kapsamında Elajik asidin A549 kanser hücrelerine etkisi de incelenmiştir. Sonuç olarak Elajik asidin A549 hücrelerinde Paraquat kaynaklı sitotoksiteyi azalttığını ileri sürmüşlerdir (Kim vd., 2013).

Raza ve arkadaşları 2016’da yapmış oldukları bir araştırma çalışmasında Dosetaksel’in çok duvarlı CNT'lere (MWCNT'ler) eklenerek piperin ile birlikte MCF-7 kanser hücrelerine uygulanmasının antikanser aktivite bakımından araştırmasını yapmışlardır. Yapılan çalışmalar neticesinde oluşturulan bu kombinasyonun tek başına ilaç uygulamasından daha iyi antikanser aktivite sunduğu tespit edilmiştir (Raza vd., 2016).

Lu ve arkadaşlarının 2020’de yapmış oldukları çalışmada Baicalein, Dosetaksel ve Baicalein ve Dosetaksel’in kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak Lu ve arkadaşları sonuç olarak Baicalein ile Dosetaksel kombinasyonunun arttırılmış antitümör etkinliği ve kabul edilebilir güvenlik ile eş zamanlı olarak uygun bir kombinasyon olduğunu ve Akciğer kanserli hastalar için umut verici olduğunu belirtmişlerdir (Lu vd., 2020).

Aygüneş 2014’te yapmış olduğu doktora çalışmasında kemoterapide kullanılan taksan grubu ilaçlardan Dosetaksel, hedefe yönelik tedavide kullanılan Trastuzumab ve destek tedavisinde kullanılan Fukoidanın meme kanseri ve kanser olmayan meme epitel hücre hatlarında, tek ve kombine ajanlar olarak sinerjistik ve/veya antagonistik etkilerini

sitotoksik ve apoptotik olarak belirlemeyi amaçlamışlardır. Aygüneş çalışmanın sonucu olarak Fukoidanın meme kanseri tedavisinde destek terapisi olarak kullanılmaya aday bir madde olduğunu belirtmişlerdir (Aygüneş, 2014).

Wang ve arkadaşlarının 2016'da yapmış oldukları çalışmada Dosetaksel ve E vitaminin yüklü lipozomların insan prostat kanseri PC3 ve insan akciğer kanseri A549 kanser hücre hattındaki etkilerini incelemişlerdir. Dosetaksel ve E vitaminin kombinasyonunun PC3 ve A549 insan akciğer kanser hücre hatlarında sitotoksit etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (Wang vd., 2016).

Hashemi ve arkadaşlarının 2021'de yapmış oldukları farklı bir çalışmada PLGA (Poli Laktik-ko-Glikolik Asit)- Curcumin nanoparçacıklarının (NP'ler) Mitoksantron'un (MIX) meme kanseri hücreleri üzerindeki etkisini güçlendirip güçlendiremeyeceğini araştırmışlardır. Sonuç olarak PLGA (Poli Laktik-ko-Glikolik Asit)- Curcumin nanoparçacıklarının MCF-7 hücre proliferasyonunu inhibe ederek Mitoksantron'un terapötik etkinliğini arttırdığını ifade etmişlerdir (Hashemi vd., 2021).

Guerriero ve arkadaşlarının 2014'te yapmış oldukları çalışmada Mitoksantron ve Vitamin C'nin kombinasyonlarının MDA-MB231 ve MCF7 insan meme kanseri hücrelerindeki etkileri incelemişlerdir. Meme kanserinin tedavisi için klinik uygulamada daha iyi bir araç olup olmadığını kontrol etmek için bu kombinasyonun daha ileri *in vivo* testleri gerekli olduğunu ileri sürmüşlerdir (Guerriero vd., 2014).

Elajik asit ile çalışmamızda kullanılan kemoterapi ilaçlarının kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki antikanser aktivesi ile alakalı yapılan literatür taramasında herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Elajik asidin birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğunun literatürde bildirildiği daha önce de belirtilmiştir. Elajik asidin ayrıca antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdığına dair literatürde bilgiler ve çalışmalar bulunmaktadır.

Türk ve arkadaşlarının 2011'de yapmış oldukları çalışmada erkek sıçanlarda Sisplatin ile indüklenen testiküler apoptoz üzerinde Likopen ve Elajik asidin olası koruyucu etkilerini ve süperoksit dismutaz enzim aktivitesini araştırmışlardır. Sonuç olarak Elajik asidin süperoksit dismutaz aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Türk vd., 2011).

Yine bu bağlamda yapılan bir başka çalışmada Çelik ve arkadaşları 2014'te katalaz, glutatyon S- transferaz, glutatyon peroksidaz antioksidan enzimleri modüle etme potansiyeli açısından sıçanlarda farklı dozlarda Elajik asiti *in vivo* olarak değerlendirmişlerdir. Yapılan değerlendirme sonucunda Elajik asidin katalaz, glutatyon

S- transferaz, glutatyon peroksidaz antioksidan enzim aktivitelerine sahip olduğu bildirilmiştir (Çelik vd., 2014).

Elajik asidin antioksidan enzim aktivitesi arttırarak kemoterapi ilaçlarından kaynaklı nefrotoksisiteye ve hepatotoksisiteye karşı koruma sağladığı literatürde bildirilmiştir.

Bu bağlamda Sepand ve arkadaşlarının 2016'da yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin Gentamisin kaynaklı nefrotoksisiteye karşı olan koruyucu etkisini biyokimyasal araştırmaların da içinde bulunduğu yaklaşımlar kullanarak incelemişlerdir. Sıçanlara Elajik asit (10 mg/kg), Gentamisin (100 mg/kg) ayrı ayrı olarak ve Elajik asit ve Gentamisinin kombinasyonunun uygulanmasıyla elde edilen katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Gentamisinin antioksidan enzim aktiviteleri kontrol grubunun altındayken Elajik asit uygulamasının kontrol grubunun üzerinde aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca Elajik asit ile Gentamisin kombinasyonunun tek başına gentamisinden daha yüksek bir antioksidan enzim aktivitesine sahip olduğunu da tespit etmişlerdir (Sepand vd., 2016).

2019'da yapılan başka bir çalışmada El-shitany ve arkadaşları antioksidan ve antienflamatuar aktiviteleri olan Elajik asidin Sisplatin kaynaklı hepatotoksisiteyi hafifletip hafifletmeyeceğini belirlemek için Elajik asiti tek başına ve Sisplatin ile kombinasyonlarını gruplar halinde ayrılan sıçanlara enjekte ederek glutatyon ve katalaz enzim aktiviteleri dahil olmak üzere birçok parametrede incelemişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda Sisplatin'in kontrol grubuna göre glutatyon ve katalaz aktivitelerinde düşüşe neden olduğunu tespit etmişlerdir. Öte yandan Elajik asidin Sisplatin ile kombinasyonlarının sisplatinin tek başına göstermiş olduğu glutatyon ve katalaz enzimlerinin aktivitesini yükselttiğini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak Elajik asit Sisplatin kaynaklı hepatotoksisiteye karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir (El-shitany vd., 2019).

Literatür taraması sonucu elde edilen bulgularda Kemoterapi tedavisinde kullanılan Dosetaksel ve Mitoksantron ilaçlarının, antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.

Pieniżek ve arkadaşlarının 2013'te yapmış oldukları bir araştırma çalışmasında Wistar sıçanlarına Doksorubisin (DOX), Paklitaksel (PTX) ve Dosetaksel (DOS) ilaçlarının tek başlarına ve doksorubisin ile kombinasyonlarının enjekte edilerek sıçanların karaciğerlerindeki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) aktivitelerini tahmin etmişlerdir.

Sonuçlar incelendiğinde Dosetaksel'in süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol grubu ve Paklitaksel ve Doksorubisin ilaçlarına göre daha düşük aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir (Pieniżek vd., 2013).

Damiani ve arkadaşlarının 2018'de yapmış oldukları bir çalışmada PARP-1 inhibitörü DPQ'nın Doksorubisin ve Mitoksantron aracılı kardiyotoksisite üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada Mitoksantron'un H9c2 hücrelerinde süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerini de incelemişlerdir. Yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara göre kontrol grubunun süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesine göre kıyaslanınca Mitoksantron değerlerinin hemen hemen yarı değerinde olduğunu gözlemlemişlerdir (Damiani vd., 2018).

1.7. Çalışmanın Amacı

Kemoterapi ilaçları kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan ancak birçok negatif yan etkisi bulunan ilaçlardır. Günümüzde bu ilaçların yan etkilerini azaltmak için çalışmalar bulunabildiği gibi doğal maddelerin kombinasyon çalışmalarıyla faydalı etkilerin artırılmasına yönelik çalışmalarda bulunmaktadır.

Çalışmamızda kuvvetli bir antioksidan olan ve bazı enzimlerin inhibitörü olarak hastalıkların tedavisinde önemli bir fenolik asit olan Elajik asit ile kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçlarının kombinasyon etkileri çok yönlü olarak araştırılmıştır. Uygulama MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı ve A549 insan akciğer kanseri hücre hattı üzerinde yapılmıştır. Bu bağlamda fenolik madde ve kemoterapi ilaçlarının kombinasyonlarının en etkin olduğu kanser hücre hatları üzerinde en az konsantrasyon uygulanarak en fazla iyileşme sağlayabilmek ve hücre ölüm oranını etkin olarak gözlemleyebilmek çalışmamız için önemlidir. Ayrıca seçilen kanser hücre hatlarında antioksidan enzim aktiviteleri (KAT, SOD, GR, GST gibi) açısından olumlu değişimlerin gözlenmesi, hücrelerden alınan proteinlerde esteraz yöntemi ile ölçülen karbonik anhidraz enzim aktivitelerinin kombinasyonların uygulandığı hücre hatlarında yükselmemesi, hücre hatları dışında belirlenmiş etkin kombinasyonların antioksidan ve radikal giderme aktivitelerine sahip olmaları ve yine kombinasyonların farklı dokularda görev yapan hCAI, hCAII ve hCAIX gibi enzimler üzerinde inhibitör etkisi göstermeleri durumları da çalışmada elde edilmesi istenilen sonuçlar arasındadır.

Böylece çalışmada seçilen hücre hattı üzerinde pozitif etki gösteren ve farklı etkileriyle de aynı yönde etkiler sağlayan yeni ilaç kombinasyonları elde edilmeye çalışılmıştır.

1.8. Çalışmanın Kapsamı

Çalışma kapsamımızın ana iskeletlerinden ilkinin Elajik asidin, kemoterapi ilaçlarının (Dosetaksel, Mitoksantron) ve kombinasyonların (Elajik asit + Dosetaksel, Elajik asit + Mitoksantron) MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerindeki antikanser aktivitenin belirlenmesiyle ilgili çalışmalar, ikincisini hücre hatları üzerinde yapılan çalışmalarda antioksidan enzim (KAT, SOD, GST ve GR) ve karbonik anhidraz enzim aktivitelerinin incelenmesi amacıyla yapılan çalışmalar, üçüncüsünü ise hücre hatları dışında yapılan antioksidan ve antiradikal aktivite çalışmaları ile karbonik anhidraz I, II ve IX enzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar oluşturmaktadır.

Tez içerisinde yer alan çalışmalar yukarıda anlatılanlar doğrultusunda aşağıda verdiğimiz sıra ile yapılmıştır.

Fenolik madde, kemoterapi ilaçlarının ve etkin konsantrasyonlara sahip kombinasyonlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar;

DPPH[•] giderme aktivitesi

ABTS^{•+} giderme aktivitesi

DMPD^{•+} giderme aktivitesi

Fe³⁺ - Fe²⁺ indirgeme aktivitesi

Fe³⁺ - Fe²⁺ indirgeme (FRAP) aktivitesi

Cu²⁺ - Cu¹⁺ indirgeme (Kuprak) aktivitesi

In vitro antikanser çalışmaları;

Kemoterapi ilaçlarının ve fenolik maddenin uygun kombinasyonlarının hazırlanması

Fenolik ve kemoterapik ajanların kanser hücre hatları üzerinde antikanser etkinin incelenmesi ile ilgili çalışmalar

Hücre Proliferasyonu Testi (XTT Testi)

Apoptoz Testi

Bisinkoninik Asit (BCA) Testi ile Protein Tayini

Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Katalaz (KAT) enzimi aktivite ölçümü

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivite ölçümü

Glutasyon redüktaz enzimi aktivite ölçümü

Glutasyon S - transferaz enzimi aktivite ölçümü

Karbonik anhidraz I, II ve IX enzimlerinin aktivitesinin belirlenmesi

Karbonik anhidraz enzimleri (hCA I, II ve IX) üzerinde Elajik asidin, kemoterapi ilaçlarının ve belirli konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının inhibisyon etkisinin araştırılması.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Trolox, α - tokoferol, BHA, BHT, ABTS, DPPH, DMPD, Etil alkol, Trikloroasetik Asit (TCA), Disodyum Fosfat, Potasyum ferrisiyanür, Demir(III) klorür, Neokuprin, Triton X 100, Amonyum Asetat, Sodyum Asetat, Hidroklorik Asit, 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), Potasyum Persülfat, Sığır Serum Albumin (BSA), Fetal Bovine Serum (FBS), XTT Cell Proliferation Assay Kit, Muse Annexin V Apoptosis Detection Kit, hCAI, hCAII, hCAIX, Aseton, PNF, Formaldehit, Bakır (II) klorür, Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), Hidrojen Peroksit, Fosfat tamponu (PBS), Destile Su, Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Gulutasyon Redüktaz, Glutasyon S- Transferaz, Annexin V Dead Cell Kit, Cell Proliferation Kit II, Mitoksantron, Dosetaksel, N,N,N',N'-Tetrametilendiamin (TEMED), Dimetil sülfoksit (DMSO), Tris(hidroksimetil)aminometan.

2.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

İnkübatör, pH metre, mikroskop, spektrofotometre, hassas terazi, vorteks, su banyosu, -80°C dondurucu, 25 cm²'lik flask, 75 cm²'lik flask, 96 kuyucuklu mikropalak, mikropipet, kabin, +4 °C soğutucu, 96 plate okuyucu, protein kazıyıcı, soğutmalı santrifüj, sıvı azot tankı (-196°C), falkon tüp, eldiveni mikropipet ucu.

2.3. Kullanılan Hücre Hatları

MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı ve A549 insan akciğer kanseri hücre hattı Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. Tezin hücre kültürü deneysel aşamaları Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır.

2.4. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

2.4.1. Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.4.1.1. *In Vitro* Antioksidan Çalışmaları İçin Numunelerin Hazırlanması

Bütün metotlarda Elajik asit ve kemoterapi ilaçlar 1:1 mg/mL konsantrasyonda hazırlanarak kullanılmıştır. Yalnızca ABTS⁺ radikali giderme aktivitesi için yapılan çalışmada Elajik asidin konsantrasyonu 1:8 mg/mL olacak şekilde seyreltilerek kullanılmıştır. *In vitro* hücre hattı çalışmalarında dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılması nedeniyle çözücü olarak DMSO kullanılmıştır.

2.4.1.2. DPPH• Giderme Aktivitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

DPPH• çözeltisi, 10^{-3} molarlık olarak hazırlandı. DPPH radikalinden 39 mg tartıldı ve 100 mL etanolda tamamiyle çözününceye kadar bir gece süresince manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlandı.

2.4.1.3. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

ABTS çözeltisi 2 milimolarlık (mM) olarak hazırlandı. ABTS maddesinden 11 mg tartıldı ve fosfat tamponunda (0.1 Molarlık ve pH'sı 7.4) tamamiyle çözününceye kadar bir gece süresince karıştırıldı. Çözeltinin son hacimi 100 mL'ye destile su ile tamamlanarak hazırlandı.

Potasyum persülfat ($K_2O_8S_2$) çözeltisi 2.45 milimolar olarak hazırlandı. $K_2O_8S_2$ maddesinden 66.25 mg tartıldı ve fosfat tamponunda (0.1 M'lık ve pH'sı 7.4) tamamiyle çözününceye kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak son hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

2.4.1.4. DMPD^{•+} Giderme Aktivitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

Asetat tamponu (CH_3COONa), pH 5.25'de 0.1 molar olarak hazırlandı. CH_3COONa 'dan 2.05 g tartıldı ve 230 mL saf suda çözüldü. pH-metre cihazı ile pH'sı 5.25'e ayarlanarak son hacmi 250 mL'ye destile su ile tamamlandı.

DMPD çözeltisi 0.1 molar olarak hazırlandı. DMPD'den 209 mg tartıldı ve 10 mL destile suda çözülerek hazırlandı.

DMPD^{•+} çözeltisi ise 0.001 molar (M) olarak hazırlandı. 0.1 M olarak hazırlanan DMPD çözeltisinden 1 mL alınarak pH'sı 5.25 ve 0.1 M'lık olan 100 mL'lik asetat tamponuna aktarıldı. Son olarak üzerine 0.05 M'lık demir(III) klorür ($FeCl_3$)'den 0.2 mL ilave edilerek hazırlandı.

0.05 M'lık $FeCl_3$ çözeltisi için de 0.81 g olarak tartılan $FeCl_3$ 100 mL saf suda çözülerek hazırlandı.

2.4.1.5. Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

0.2 molar fosfat tamponu (Na_2HPO_4), pH'sı 6.6 olarak hazırlandı. Na_2HPO_4 'den 6.24 g tartılarak yaklaşık 180 mL destile su içerisinde çözünmesi sağlandı. Fosfat tamponunun pH'sı pH metre cihazı ile 6.6'ya ayarlandı ve son hacimi 200 mL'ye destile su ile tamamlanarak hazırlandı.

$K_3Fe(CN)_6$ 'den 1.5 g tartılarak destile su ile çözünen ve son hacimi 150 mL'ye destile su ile tamamlanan %1'lik Potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$) çözeltisi hazırlandı.

Trikloroasetik asitten (TCA) 15 g tartılarak destile su ile çözünen ve son hacimi 150 mL'ye destile su ile tamamlanan % 10'luk TCA çözeltisi hazırlandı.

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 'dan 165 mg tartılarak destile su ile çözünen ve son hacimi 100 mL'ye destile su ile tamamlanan % 0.1'lik $FeCl_3$ çözeltisi hazırlandı.

2.4.1.6. Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme (FRAP) Kapasitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

pH'sı 3.6 olan 0.3 molarlık sodyum asetat tamponu ($NaCH_3COO$) hazırlamak için 40 g $NaCH_3COO$ tartıldı ve saf su ile 1 litreye tamamlandı.

Hidroklorik asitten (HCl) 0.334 mL alınarak son hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlanan % 37'lik 40 mM'lık HCl çözeltisi hazırlandı.

Trispyridiltriazin'den 0.312 g tartılarak % 37'lik 100 mL HCl içerisinde çözünen 10 mM'lık TPTZ çözeltisi hazırlandı.

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 'den 0.54 g alınarak 100 mL saf suda içerisinde çözünen 20 mM'lık $FeCl_3$ çözeltisi hazırlandı.

FRAP reaktifi: 10 hacim $NaCH_3COO$ tamponu, 1 hacim TPTZ çözeltisi ve 1 hacim $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ çözeltisi karıştırılarak hazırlandı.

2.4.1.7. Cu^{2+} - Cu^+ İndirgeme Kapasitesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

Bakır (II) klorür ($CuCl_2$) çözeltisi 0.01 M olarak hazırlandı. $CuCl_2$ 'den 47 mg tartıldı ve 50 mL destile suda içerisinde çözünerek hazırlandı.

Etanolik neokuprin çözeltisi 7.5×10^{-3} M olarak hazırlandı. 78 mg Neokuprinin 50 mL etanolde çözünmesiyle hazırlandı.

7.7 g amonyum asetat'ın (CH_3COONH_4) 80 mL saf suda çözerek, pH'sı 6.5'e ayarlanılan ve toplam hacmi 100 mL'ye saf su ile tamamlanan 1 M'lık CH_3COONH_4 tamponu hazırlandı.

2.4.2. Kemoterapi İlaçları ve Fenolik Maddenin Hazırlanması

2.4.2.1. Elajik Asit

1 mg Elajik asit tartıldı. 1 mL DMSO'da çözünmesi sağlandı. Daha sonra üzerine 1 mL PBS çözeltisi eklenerek son hacmi 2 mL'ye tamamlandı. 250 μ M'lık ana stok çözeltisi hazırlandı. Elajik asidin bu ana stok çözeltisinden farklı konsantrasyonları (25-200 μ M) hazırlandı.

2.4.2.2. Dosetaksel

1 mg Dosetaksel tartıldı. 50 µL DMSO'da çözünmesi sağlanarak son hacmi 1 mL'ye besiyeri ile tamamlandı. 250 µM'lik ana stok çözeltisi hazırlandı. Dosetaksel'in bu ana stok çözeltisinden farklı konsantrasyonları (5-200 µM) hazırlandı.

2.4.2.3. Mitoksantron

1 mg Mitoksantron tartıldı. 50 µL DMSO'da çözünmesi sağlanarak son hacmi 1 mL'ye besiyeri ile tamamlandı. 250 µL'lik ana stok çözeltisi hazırlandı. Mitoksantron'un bu ana stok çözeltisinden farklı konsantrasyonları (0.0125-5 µM) hazırlandı.

2.4.2.4. Elajik Asit ile Kemoterapi İlaçlarının Kombinasyonlarının Hazırlanması

Elajik asit ve Dosetaksel'in MCF-7 hücre hattı üzerinde belirlenen konsantrasyonlarda (EA:50 + DOC: 50, EA:50 + DOC: 100, EA:50 + DOC: 150, EA:50 + DOC: 200) kombinasyonları hazırlandı.

Elajik asit ve Mitoksantron'un MCF-7 hücre hattı üzerinde belirlenen konsantrasyonlarda (EA:50 + MİX:0.0125, EA:50 + MİX:0.025, EA:50 + MİX:0.05, EA:50 + MİX:1) kombinasyonları hazırlandı.

Elajik asit ve Dosetaksel'in A549 hücre hattı üzerinde belirlenen konsantrasyonlarda (EA:25 + DOC: 5, EA:25 + DOC: 10, EA:25 + DOC: 25, EA:25 + DOC: 50) kombinasyonları hazırlandı.

Elajik asit ve Mitoksantron'un A549 hücre hattı üzerinde belirlenen konsantrasyonlarda (EA:25 + MİX: 0.1, EA:25 + MİX: 0.5, EA:25 + MİX: 1, EA:25 + MİX: 5) kombinasyonları hazırlandı.

2.4.3. Hücre Proliferasyonu Testinde (XTT) Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

XTT solüsyonu, 5 ml XTT içerisine 100 µL aktivatör eklenerek hazırlandı.

2.4.4. Bisinkoninik Asit (BCA) Testi ile Protein Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2 mg/mL Bovine Serum Albumin (BSA) solüsyonlarından seri seyreltme ile diğer standartlar (2, 1.5, 1, 0.75, 0.50, 0.25, 0.125 mg/mL (w/v) ve boş solüsyon) hazırlandı.

Reaktif A ve Reaktif B, 100:1 oranında karıştırıldı.

Standartlar ve numuneler 100 µL çalışma reaktifi (WR) ile karıştırıldı ve karanlıkta 37 °C'de 1 saat su banyosunda bekletildi.

2.4.5. Apoptoz Testinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Muse Annexin V Dead Cell Kiti içerisinde hazır olarak bulunan çözeltiler kullanıldı.

2.4.6. Antioksidan Enzim Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.4.6.1. Katalaz (KAT) Enzimi

2 mL katalaz test tampon konsantresi 18 mL yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) dereceli su ile seyreltildi. Bu pH'sı 7.0 olan 100 mM'lık potasyum fosfat tamponu testte kullanıldı.

5 mL katalaz örnek tampon konsantresini 45 mL HPLC dereceli su ile seyreltildi. 25 mM potasyum fosfat, pH 7.5, 1 mM EDTA ve % 0.1 BSA içeren örnek tamponu, formaldehit standartlarını seyreltmek için kullanıldı.

Liyofilize sığır karaciğeri KAT tozu 2 mL seyreltilmiş örnek tamponu ekleyerek katalazı (kontrol) sulandırıldı. 100 µL sulandırılmış enzim alındı ve 1.9 mL seyreltilmiş numune tamponu ile seyreltildi.

40 mikrolitre (µL) hidrojen peroksiti, 9.96 mL HPLC dereceli su ile seyreltildi.

2.4.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi

3 mL test tampon konsantresi 27 mL HPLC dereceli su ile seyreltildi.

2 mL numune tampon konsantresi 18 mL HPLC dereceli su ile seyreltildi.

Radikal dedektör, 50 µL'si temiz bir diğer şişeye aktarıldı ve 19.95 mL seyreltilmiş test tamponu ile seyreltildi. Daha sonra folyo ile kaplandı.

Ksantin oksidaz, 50 µL'si başka bir şişeye aktarıldı ve 1.95 mL numune tamponu (seyreltilmiş) ile seyreltildi.

2.4.6.3. Glutasyon Redüktaz (GR) Enzimi

GSH tampon (2X), 0.4 M 2-(N-morfolino)etansülfonik asit, pH 6.0, 0.1 M fosfat ve 2 mM etilendiamin tetraasetik asitten (EDTA) oluşmaktadır. Kullanımdan önce 60 mL tampon 60 mL HPLC dereceli su ile seyreltildi.

GSH kofaktör karışımı, 0.5 mL su ile sulandırıldı ve iyice karıştırıldı.

0.2 mL tampon içinde glutasyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz içeriğe sahip GSH enzim karışımı şişeyi kapaktan herhangi bir sıvı dökülmeden dikkatlice

açarak şişeye 2 mL seyreltilmiş MES tamponu eklendi ve kapağı değiştirilerek iyice karıştırıldı.

5,5' ditiobis 2 nitrobenzoik (DTNB) tozu, 0.5 mL su ile sulandırıldı ve iyice karıştırıldı.

2.4.6.4. Glutasyon S – Transferaz (GST) Enzimi

10 mL GST analiz tampon konsantresi 10 mL HPLC dereceli su ile seyreltildi.

5mL GST analiz tampon konsantresi 5 mL HPLC dereceli su ile seyreltildi.

At karaciğeri GST'nin liyofilize toz içerik ilk önce enzimi 0.5 mL mikrodistile su ile sulandırıldı.

1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) solüsyonu hazırlandı.

2.4.7. Karbonik Anhidraz I, II ve IX Enzim Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

pH'sı 7.4 olan 0.05 M'lık esteraz aktivitesinde kullanılan Tris-SO₄ tampon çözeltisini hazırlamak için 6.055 g Tris tartılır ve 950 mL destile su içerisinde çözülerek, 1 N H₂SO₄ ile pH'sı 7.4'e getirildikten sonra hacim destile su ile 1 litreye tamamlandı.

Esteraz aktivitesi ölçümünde kullanılan 3mM'lık 4-Nitrofenil asetat (PNF) substat çözeltisini hazırlamak için 0.027 g PNF tartılır 1 ml asetonda çözülür. Yavaş yavaş 49 mL saf su içine yavaş yavaş ilave edildi. Bu çözelti günlük olarak hazırlanmalıdır.

2.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.5.1. DPPH• Giderme Aktivitesi

Blois metoduna göre yapılan DPPH serbest radikal giderme aktivitesi (Blois, 1958) için DPPH radikalinin 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. 1 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan numuneler stok çözeltisi kullanıldı. Numunelerin farklı konsantrasyonlarında stok çözeltiler aktarıldı ve son hacimleri 3 mL'ye etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir konstrasyondaki tüplere stok DPPH• çözeltisinden 1 mL ilave edilerek 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda inkübe edilerek etanolden oluşan köre karşı 517 nm'deki absorbansları ölçüldü. 3 mL etanol ve 1 mL DPPH• radikalinden oluşan çözelti kontrol olarak kullanıldı. DPPH• çözeltisi miktarını (serbest radikal giderme aktivitesi) azalan absorbansa göre belirlendi.

2.5.2. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi

Re ve diğer çalışma arkadaşlarının çalışmasına göre ABTS radikali giderme aktivitesi belirlendi (Re vd., 1999). İlk olarak 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanarak içerisine 2.45 nM'lık persülfat çözeltisi eklendi. Bununla birlikte ABTS^{•+} radikalleri üretilmiş oldu. ABTS radikal çözeltisi kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 734 nm'de absorbanı 0.1 M ve pH'sı 7.4 olan fosfat tamponu ile 0.700 ± 0.025 nm'ye ayarlandı. ABTS radikal giderme aktivitesi 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 µg/mL konsantrasyonlarda çalışıldı. Bu konsantrasyonlarda da hazırlanan tüplerimizin içerisine 1 mL ABTS^{•+} radikal çözeltisi eklendikten sonra 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Etanolün oluşturduğu köre karşı 734 nm'de absorbanları kaydedildi.

2.5.3. DMPD^{•+} Giderme Aktivitesi

Fogliona ve diğer çalışma arkadaşlarının metoduna göre N,N'-dimetil-p-fenilendiamin dihidroklorür (DMPD) radikali giderme aktivitesi çalışıldı (Foglione vd., 1999). 100 mM'lık ve pH'sı 5.3 olan 100 mL'lik DMPD çözeltisine 0.05 M olacak şekilde 0.2 mL FeCl₃ ilavesiyle renkli radikal katyon (DMPD^{•+}) elde edildi. Bu çözeltinin 1 mL'si için tampon çözeltiden oluşan köre karşı 505 nm'de ölçüm yapıldı. DMPD^{•+} radikal çözeltisi kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 505 nm'de optik dansitesi 0.1 M'lık ve pH'ı 5.3 olan fosfat tamponu ile 0.900 ± 0.100 nm'ye ayarlandı. Farklı konsantrasyonlardaki numune çözeltileri deney tüplerine aktarıldı ve hacim destile suyla 0.5 mL ye tamamlandı. Bunun üzerine 1 mL DMPD^{•+} çözeltisi eklendi. 50 dakikalık bir inkübasyondan sonra absorban değerleri tampon çözeltiden oluşan köre karşı 505 nm'de ölçüldü.

2.5.4. Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme Aktivitesi

Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme aktivitesi Oyaizu belirlemiş olduğu yöntemle çalışıldı. İlk önce stok çözeltiler 1 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Cam tüplere farklı konsantrasyonlarda olacak şekilde hazırlanan stok çözeltilerden eklendi ve son hacmi 1 mL'ye destile su ile tamamlandı. Bir sonraki aşamada ise her bir tüpe pH'sı 6.6 olan 0.2 M'lık fosfat tamponu ve %1'lik potasyum ferrisiyanür'den (K₃Fe(CN)₆) 2.5'şar mL ilave edilerek karışım 50 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra reaksiyon karışımına % 10'luk triklorasetik asit (TCA) çözeltisinden 2.5 mL ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2.5 mL alındıktan sonra bunun üzerine 2.5 mL destile su ve % 0.1'lik 0.5 mL FeCl₃ ilave edildikten sonra

absorbans 700 nm’de destile sudan oluşan köre karşı okundu. Kontrol için ise numune yerine su kullanıldı (Oyauzu, 1986).

2.5.5. Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme (FRAP) Kapasitesi

FRAP metodu, antioksidanların demir 2,4,6-tripiridil-s-triazin kompleksini [Fe³⁺-(TPTZ)₂]³⁺ yoğun mavi renkli demir kompleksine [Fe²⁺-(TPTZ)₂]²⁺ dönüşümü sağladığı bir reaksiyondur (Gülçin, 2012). Farklı konstrasyonlarda hazırlanan numunelerimiz FRAP metoduna göre 20 mM’lık FeCl₃ çözeltisi ve FRAP reaktifi kullanılarak 593 nm’de sodyum asetatdan oluşan köre karşı absorbansları ölçüldü.

2.5.6. Cu³⁺-Cu⁺ İndirgeme Kapasitesi

Cu²⁺- Cu⁺ indirgeme aktiviteleri bakır iyonları indirgeme yönteminin hafif bir şekilde değiştirilmesiyle yapıldı. Farklı konstrasyonlarda hazırlanan numunelerimizin bulunduğu tüplere 0.01 M’lık CuCl₂ çözeltisinden 25 mL 7.5x10⁻³ M’lık etanolik neokuprin çözeltisinden 0.25 mL ve 1 M CH₃COONH₄ tampon çözeltisinden 0.25 mL sırasıyla eklendi. 30 dakika sonunda 450 nm’de destile sudan oluşan köre karşı absorbans değerleri ölçüldü (Apak vd., 2006).

2.6. Hücre Kültürü Uygulamaları

2.6.1. Hücre Hatları ve Kültürü

Meme kanseri hücre hattı (MCF-7) ve akciğer kanseri hücre hattı (A549) Dulbecco’s Modified Eagle Media ve Leibovitzs ortamında kültüre edildi. 37 °C’de % 95 nem % 5 CO₂ inkübatöründe hücre kültürlerinin inkübasyonu gerçekleştirildi. Hücre kültürü çalışmaları Class II Kabininde yapıldı.

2.6.2. Hücrelerin Çözdürülmesi

-80 °C’deki veya sıvı azot içerisinde muhafaza edilen hücreler 37°C’deki su banyosunda ısıtıldı. Daha sonra T-75 flask üzerine hücrenin adını, pasaj numarasını, hangi besiyeri kullanıldığını, işlemi yapan kişinin adı ve işlemin yapıldığı tarih yazıldı. Daha sonra flask içerisine 8 mL besiyerini tek kullanımlık ve 10 mL’lik pipet yardımıyla aktarıldı. Hücrenin içerisinde bulunduğu tüpte pipet yardımıyla çek bırak işlemi yapılarak hücrenin homojen bir şekilde dağılımı sağlandı. Daha sonra hücreyi pipet yardımıyla alarak flask içerisine aktarımı sağlandı. Flask içerisine aktarımı sağlanan hücrenin besiyerinde homojen dağılımını sağlamak amacıyla hafif bir şekilde çalkalama işlemi yapıldı. Hücrenin besiyerine homojen bir şekilde dağılıp dağılmadığını gözlemlemek amacıyla mikroskopta kontrol edildi. En son işlem olarak flask içerisine

aktarılan hücreler 37 °C’de ve % 5 CO₂ içeren inkünatör içerisinde 24 saat inkübasyona bırakıldı. 24 saatin sonunda flask içerisindeki besiyerini DMSO’dan uzaklaştırmak amacıyla yeni besiyeri ile değiştirildi.

2.6.3. Besiyeri Değiştirme

Besiyeri ve hücrenin bulunduğu T-75 flask içerisinde mevcut besiyeri flaskın yan yüzeyinden hücreye zarar vermeden çekildi. Mevcut besiyerini çektikten sonra yıkama solüsyonu olan fosfat tamponundan (PBS) 5 mL alarak flaskın yan yüzeyinden olacak şekilde ekleme yapıldı. Fosfat tamponunu hücre yüzeyinde hafif bir şekilde çalkalama işlemi gerçekleştirildi ve fosfat tamponu flask içerisinden alınarak atıldı. Daha sonra 8 mL besiyeri flaskın içerisine eklenerek besiyeri değiştirme işlemi gerçekleştirildi.

2.6.4. Hücrelerin Pasajlanması

Hücrelerin ve besiyerinin bulunduğu T-75 flask içerisinden besiyeri pipet yardımıyla tahliye edildi. Daha sonra flask içerisine 5 mL yıkama solüsyonu olan fosfat tamponu (PBS) eklendi ve tüm yüzeye etki etmesi için sallandıktan sonra fosfat tamponu tahliye edildi. Daha sonra 3 mL kaldırma solüsyonu olan Tripsin eklenerek flask 5-10 dakika inkübe edildi. İnkübeden sonra alınan flaskın tabanına hücrelerin kalkması için hafifçe vuruldu. Daha sonra 3 mL besiyeri eklenerek pipet yardımıyla 2-3 kez karıştırıldı. Daha sonra 15 mL’lik falkon tüpüne pipet yardımıyla çekilerek aktarıldı ve 800 rpm de 5 dakika santrüfüjleme işlemi yapıldı. Santrüfüjlemeden sonra üste kalan sıvı kısım atıldı. Daha sonra kaç adet pasajlama yapılacaksa o kadar mL besiyeri eklendi ve pipet yardımıyla çek bırak yapılarak karışması sağlandı. Daha sonra 1 mL alınarak flasklara pasajlandı. Son olarak pasajlanan hücre kültürleri kültürleri 37 °C’de, % 5 CO₂ ve % 95 nem ihtiva eden inkübatör içerisinde inkübe edildi.

2.6.5. Hücre Sayımı

Büyüme mediumunda homojen olarak çözünen hücrelerden sayım için 100 µL alındı, 2 mL’lik epondorf tüplerine aktarıldı. İçerisine tripan blue boyasından 100 µL eklendi ve karışmasını sağlandı. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi. Homejenize edilen süspansiyondan 10 µL alındı sayım için hemositometre sayım yöntemini kullanıldı. Inverted mikroskop kullanarak canlı hücre sayısını belirlemek amacıyla cansız hücreler ayırt edilerek hücre sayım işlemi yapıldı. Cansız hücrelerin mikroskop altında boyayı absorbe ederek mavi renkte oldukları, canlı hücrelerin ise boyayı absorbe etmeyerek parlak oldukları gözlemlendi. Hücre sayımı sonrasında, iki odacığın ortalaması alınarak mL’ye düşen hücre sayısı hesaplaması aşağıdaki denkleme göre yapıldı.

Hücre sayısı/mL=iki odacık ortalama hücre sayısı x DF(dilüsyon faktör)x10⁴

2.6.6. Hücre Dondurma

Hücreleri dondurmaya hazırlamak için her cryotüp üzerine adı, tarihi ve kullanılacak pasaj numarası yazıldı. İlk olarak flask içerisindeki ortam tahliye edildi. Flask içerisine 5 mL yıkama solüsyonu olan fosfat tamponu (PBS) eklendi ve hafif bir şekilde çalkalandı. Daha sonra flask içerisindeki yıkama solüsyonu tahliye edildi. Daha sonra hücreleri kaldırmak için flask içerisine 3 mL kaldırma solüsyonu Tripsin eklenerek tüm yüzeye etki etmesi için hafif bir şekilde sallandı. Sonrasında flask 5-10 dakika 37 °C'de CO₂'de inkübe edildi. İnkübe edildikten sonra flask içerisine 3 mL besiyeri eklendi ve pipet yardımıyla 15 mL'lik falkon tüpüne aktarımı sağlandı. 800 rpm de 5 dakika santrüfjü edildi. Santrüfjü edildikten sonra pellete zarar vermeden süpernant tahliye edildi. Pellete 5 mL frozen medium (% 10'luk DMSO, Gliserol) eklendi ve çözünmesi sağlandı. Süspanse edilen hücreler zaman kaybetmeden cryotüplere akatarıldı ve -80 °C'deki soguk hava dolabına kaldırıldı. Aradan 7 günlük bir süre geçtikten sonra, geniş zamanlı depolama yapmak için cryotüplerin -196 °C'deki sıvı azot tankına aktarımı gerçekleştirildi.

2.7. Hücre Proliferasyon Testi (XTT)

Elajik asit, Dosetaksel, Mitoksantron ve Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron ile kombinasyonlarının MCF-7 ve A549 insan kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi için 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid (XTT) testi kullanılmıştır. Tez kapsamında çalışılacak olan fenolik ve kemoterapik ajanların MCF-7 ve A549 insan kanser hücre hatları üzerine antiproliferasyonları etkileri için Roche Cell Proliferation Kit II (XTT) kullanıldı.

96'lık plakın her bir kuyucuğuna, 100 µL (50000 hücre/kuyu) komplet besiyeri içerisindeki hücre süspansiyonu ekildi. Hücrelerin yüzeye yapışmaları için 37 °C ve % 5'lik CO₂ ayarlı inkübatörde bir gece bekletildi.

İnkübasyon sonrasında plak içerisindeki kültür medyumunu uzaklaştırılarak PBS tamponu ile her bir kuyucuk yıkandı ve PBS tamponu uzaklaştırıldı.

96'lık plak içerisine 100 µL test edilecek fenolik madde ve kemoterapi ilaçlarının komplet besiyeri ortamında hazırlanan farklı konsantrasyonlarından (0-200 µM) ilave edildi ve 37 °C de % 5'lik CO₂ ayarlı inkübatörde zaman bağımlı olarak inkübe edildi. Kontrol grubu olarak sadece komplet besiyeri içeren hücreler kullanıldı.

Kuyucuklara 50'şer µL inkübasyon sürelerinden sonra hazırlanan XTT solüsyonundan (5 mL XTT için 100 µL aktivatör) konularak 5 saat % 5'lik CO₂ ayarlı inkübatörde inkübe edildi.

İnkübasyonu yapılan hücrelerin, Bio-Tek Epoch mikropate okuyucu ile 470 nm absorbans değerinde ölçümleri yapıldı (Altay vd., 2019).

Hücre proliferasyonundaki azalma aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplaması yapıldı.

$$\% \text{ proliferasyon} = [\text{Abs(ekstre ile muamele görmüş hücreler)} - \text{Abs(hücretsiz ortamdaki ekstre)}] / [\text{Abs(kontrol grubu hücreler)} - \text{Abs(hücretsiz ortam)}] \times 100$$

2.8. Compusyn

İlaç kombinelerinin ön değerlendirmeleri için kullanılmakta olan Chou-Talalay yöntemi, tekli ve çoklu varlıklar arasındaki ortak bağlantının oluşmasını sağlamakta olan bir teorem olarak, kitlesel eylem yasası yasasından yola çıkılarak türetilen medyan etki eşitliğine dayanmaktadır. Medyan etki denklemi, Michaelis-Menten, Hill, Henderson-Hasselbalch ve Scatchard eşitliklerini içermektedir (Chou, 2010). Kombinasyon indeksi kavramı (CI): Biyolog, Farmakolog ve kanser araştırmacısı olan Ting-Chao Chou tarafından bulunmuştur. Kombinasyon indeksi (CI) teoremine göre ilaç kombinasyonlarının eklenebilir (aditif) etki (CI = 1), sinerjistik etki (CI <1) ve antagonistik etki (CI > 1) için kantitatif tanımlamaları yapılmaktadır. Bu teori ayrıca, CI çiziminde ve izobologramda gösterildiği gibi, herhangi bir etki ve doz seviyesinde sinerjizm ve/veya antagonizm için otomatik bilgisayar simülasyonunda algoritmalar da sağlamaktadır (Chou, 2006). Bu metod ilaç kombinasyon çalışmalarında her ilacın kendi başına ve kombine halindeki kuvvet değeri (D_m değeri) ve doz-etki eğrisinin (m değeri) etkisini baz alır. Bilgisayar programı hesaplamalar neticesinde kombine edilen maddelerin sinerjik bir etki gösterip göstermediğini, herhangi bir etki düzeyinde (Fa – CI grafiği) veya herhangi bir konsantrasyonda (izobologram) ne kadarlık bir sinerjik (CI değeri) etkisinin bulunduğunu ve sinerjik etki gösteren bir kombinasyon elde etmek için belirli bir etkide her ilacın kaç kat doz azaltımına gidebileceğini belirlemektedir. Tek başına her bir ilaç için gerekli olan dozu (Fa-DRI grafiği) ve sinerji için optimal kombinasyon oranını hesaplamaktadır (Chou, 2008).

Elajik asit ile Dosetaksel ve Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının MCF-7 ve A549 insan kanser hücre hatları üzerindeki sinerjik etkilerinin belirlemek için kombinasyon indeks değerleri (CI) CompuSyn programına göre belirlendi.

2.9. Bisinkoninik Asit (BCA) Testi ile Protein Tayini

Numunelerin protein konsantrasyonlarını ölçmek için BCA testi kullanıldı. İlk olarak test kitapçığında belirtildiği gibi farklı standart protein numuneleri hazırlanmıştır. Başlatılan 2 mg/mL Bovine Serum Albumin (BSA) solüsyonlarından seri seyreltme ile diğer standartlar (2, 1.5, 1, 0.75, 0.50, 0.25, 0.125 mg/mL (w/v) ve boş solüsyon) hazırlandı. Standart solüsyonların hazırlanmasından sonra kit kitapçığında belirtildiği gibi çalışma reaktifi (WR) hazırlandı. Reaktif A ve Reaktif B, 100:1 oranında karıştırıldı. 96 oyuklu plakaya üç kopya halinde 100 µL standart BSA ve protein numuneleri eklendi. Standartlar ve numuneler 100 µL WR ile karıştırıldı ve karanlıkta 37 °C'de 1 saat su banyosunda bekletildi. Daha sonra oda sıcaklığına gelmesi için 5 dakika bekletildi ve 96 kuyulu plaka Bio-Tek Epoch mikrolaka okuyucu kullanılarak 562 nm'de ölçüldü. Standart eğriyi oluşturmak için standart değerler kullanıldı ve numune konsantrasyonları standart eğriye göre hesaplandı (Smith vd., 1985).

2.10. Apoptoz Testi

Tez kapsamında çalışılacak olan etkin kombine fenolik-kemoterapik ajanların MCF-7 ve A549 insan kanser hücre hatları üzerindeki apoptotik etkilerini belirlemek için Muse Annexin V Dead Cell Kit'i kullanıldı ve kit prosederüne göre uygulama yapıldı.

6 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğuna 2 şer mL olarak komplet besiyeri içerisinde sayımı yapılan hücreler ekilerek (100 000 hücre/mL) ve 37 °C'de % 5'lik CO₂ ayarlı inkübatörde bir gece bekletildi.

Besiyeri, inkübasyondan sonra uzaklaştırılarak, PBS ile kuyucuklar yıkandı ve PBS tekrar uzaklaştırıldı.

Test edilecek farklı kombinasyonlardaki ajanlar taze komplet besiyeri içerisinde belirlenen konsantrasyonlarında plakalara eklenerek ve 37 °C de % 5'lik CO₂ ayarlı inkübatörde zaman bağımlı olarak (24 saat) inkübe edildi. Kontrol grubu olarak sadece besiyeri içeren hücreler kullanıldı.

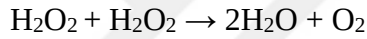
Annexin-V- FITC-PI boyama kiti inkübasyon saatlerinden sonra (Coffey vd., 2012), flow sitometri cihazı kullanılarak apoptotik hücrelerin yüzdesini anlamak amacıyla sonraki basamaklar üreticinin protokolüne göre yapıldı (Altay vd., 2019; Chang vd., 2017, Zheng vd., 2018).

2.11. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Test edilecek farklı kombinasyonlardaki ajanlar (fenolik asit-kemoterapik ilaç) ile muamele edilen ve muamele edilmemiş MCF-7 insan meme kanser hücresi ve A549 insan akciğer kanser hücresi hatlarındaki mevcut antioksidan enzimlerinin nasıl etkilendiğini saptamak amacıyla; katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S- transferaz (GST), ve glutatyon redüktaz (GR) enzimlerinin aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

2.11.1. Katalaz Enzim (KAT) Aktivitesi

Katalaz enzim aktivitesini belirlemek için Cayman's Catalase Assay Kit kullanıldı ve enzim aktivitesinin tespiti için KAT'ın peroksidatik fonksiyonunu kullanıldı. Enzimin optimal bir H₂O₂ konsantrasyonu varlığında metanol ile reaksiyonu yöntemine dayanmaktadır. Üretilen formaldehit, kromojen olarak 4-amino-3-hidrazino 5-merkapt-1,2,4-triazol (Purpald) ile kolorimetrik olarak ölçülür. Purpald spesifik olarak aldehitlerle bisiklik bir heterosik oluşturur ve oksidasyon üzerine renksizden mor renge dönüşür.



Katalaz enzim aktivitesi ölçümü aşağıdaki adımlar izlenerek yapıldı;

Formaldehit standart kuyucukları; plakadaki belirlenmiş kuyucuklara (A-G) her kuyuya 100 µL seyreltilmiş test tamponu, 30 µL metanol ve 20 µL standart eklendi.

Pozitif kontrol kuyuları (sığır karaciğeri KAT); iki kuyucuğa 100 µL seyreltilmiş test tamponu, 30 µL metanol ve 20 µL seyreltilmiş katalaz (kontrol) eklendi.

Numune kuyuları; iki kuyucuğa 100 µL seyreltilmiş test tamponu, 30 µL metanol ve 20 µL numune eklendi.

Kullanılan tüm kuyucuklara 20 µL seyreltilmiş H₂O₂ hızlı bir şekilde eklenerek reaksiyonlar başlatıldı. Reaksiyonun tam olarak ne zaman başladığı not edildi. Plakayı plaka kapağı ile kapatarak çalkalayıcı üzerinde 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

30 µL potasyum hidroksit ve 30 µL katalaz purpald (kromojen) reaksiyonu sona erdirmek için her kuyucuğa sırasıyla eklendi.

Plakayı plaka kapağı ile kapatıp, çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.

Her kuyucuğa 10 µL katalaz potasyum periyodat eklendi. Plaka kapağı ile örtterek çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında beş dakika inkübasyona bırakıldı.

Bio-Tek Epoch mikropilaka okuyucu kullanarak 540 nm'de absorbans okuması yapıldı.

Hesaplama,

Her standart ve numunenin ortalama absorbensları hesaplandı.

Standart A'nın ortalama absorbensı kendisinden ve diğer tüm standartlar ve numunelerden çıkarıldı.

Formaldehit standart eğri grafiği çizildi.

Her numune için düzeltilmiş absorbens değerleri yerine standart eğrinin lineer regresyonundan elde edilen denklem kullanarak numunelerin formaldehit konsantrasyonu hesaplandı.

Formaldehit (μM) = [(Numune Absorbansı)–(y- kesişim)/(Eğim)] x (0.17)/(0.02)

KAT aktivitesi, aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

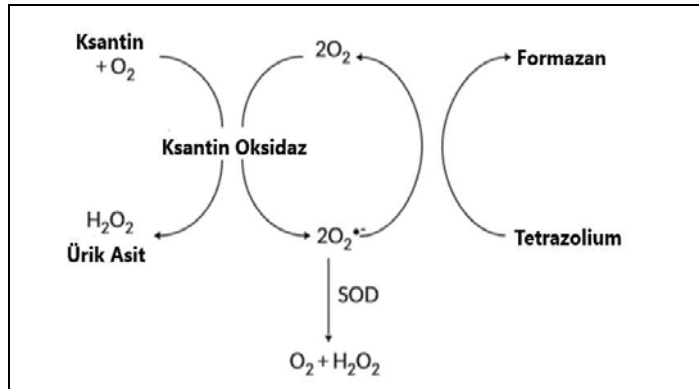
KAT aktivitesi = [μM Numune) / (20 dak.)] = nmol/dak/mL

2.11.2. Süperoksit Dismutaz Enzim (SOD) Aktivitesi

Süperoksit dismutazlar (SOD'lar), süperoksit anyonunun moleküler oksijen ve hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize ederek hücrel antioksidan savunma sisteminin önemli bir parçasını oluşturan metalloenzimlerdir.



Süperoksit dismutaz enzim aktivitesini belirlemek için Cayman'ın Süperoksit Dismutaz Test Kiti kullanıldı. Ksantin oksidaz ve hipoksantince üretilen süperoksit radikallerinin belirlenmesi için tetrazolyum tuzu kullanılmaktadır. Bir birim SOD, 25°C'de ve pH 8'de dakikada absorbens değişikliğinde ölçülen süperoksit radikalının %50 dismutasyonunu sağlamak için gerekli olan enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. SOD tahlili, üç SOD çeşidi (Cu/Zn, Mn ve FeSOD) için de kullanılmaktadır. Test, plazma, serum, eritrosit lizatları, doku homojenatları ve hücre lizatlarında SOD aktivitesinin test edilmesi için basit, tekrarlanabilir ve hızlı bir araç sağlar.



Şekil 4. Süperoksit Dismutaz test şeması (Ezer, 2019)

Süperoksit Dismutaz enzim aktivitesi ölçümü aşağıdaki adımlar izlenerek yapıldı; Plaka üzerinde belirtilen kuyucuklara (A-G) her kuyuya 200 µL seyreltilmiş radikal dedektör ve 10 µL standart eklendi.

Numune kuyularına 200 µL seyreltilmiş radikal dedektör ve 10 µL numune eklendi.

Kullanılan tüm kuyucuklara 20 µL seyreltilmiş ksantin oksidaz hızlı bir şekilde eklenerek reaksiyonlar başlatıldı. Reaksiyonun ne zaman başladığı not edildi.

96 kuyulu plakayı karıştırmak için birkaç saniye dikkatlice sallandı ve plaka kapağı ile örtüldü.

Plaka oda sıcaklığında 30 dakika çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi. Bio-Tek Epoch mikropilaka okuyucu kullanarak 440 - 460 nm'de absorbansı ölçüldü.

Hesaplama,

Her standart ve numunenin ortalama absorbansı hesaplandı. Standart A'nın absorbansı kendi başına bölündü ve standart A'nın absorbansı diğer tüm standartlar ve numune absorbanslarına bölünerek doğrusallaştırılmış hızı (LR) elde edildi.

Lineerleştirilmiş SOD standart oranını (LR) nihai SOD aktivitesinin (U/ml) bir fonksiyonu olarak standart eğri grafiği çizildi.

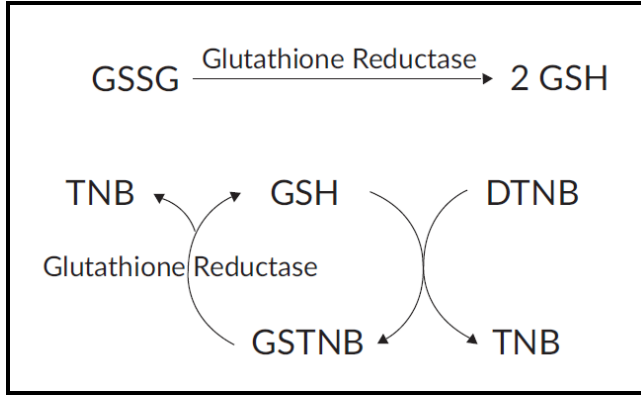
Her numune için doğrusallaştırılmış oranı (LR) ikame eden standart eğrinin doğrusal regresyonundan elde edilen denklem kullanılarak numunelerin SOD aktivitesi hesaplandı.

$$\text{SOD (U/mL)} = [(\text{Numune LR}) / (\text{y-kesişim}) / (\text{Eğim})] \times [(0.23)/(0.01)]$$

2.11.3. Glutasyon Redüktaz Enzim (GR) Aktivitesi

Glutasyon redüktaz enzim aktivitesini belirlemek için Cayman'ın Glutasyon Assay Kit'i kullanıldı. GSH'nin sülfhidril grubu, DTNB ile reaksiyona girer ve sarı renkli bir trinitrobenzensülfonik asit (TNB) üretir. Birlikte üretilen karışık disülfid GSTNB, GSH'yi geri dönüştürmek ve daha fazla TNB üretmek için glutasyon redüktaz tarafından indirgenir. TNB üretim hızı, bu geri dönüşümle doğru orantılıdır ve bu da numunedeki GSH konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. 405-414 nm'de TNB absorbansının ölçümü, numunede doğru bir GSH tahmini sağlar.

GSH, disülfid dimer GSSG'ye kolayca oksitlenir. GSSG, hidroperoksitlerin glutasyon peroksidaz tarafından indirgenmesi sırasında üretilir. GSSG, glutasyon redüktaz tarafından GSH'ye indirgenir ve esas olarak biyolojik sistemde bulunan indirgenmiş formdur.



Şekil 5. GSH geri dönüşüm mekanizması (Ezer, 2019)

Glutatyon redüktaz enzim aktivitesi ölçümü aşağıdaki adımlar izlenerek yapıldı; Plakadaki belirlenmiş kuyulara kuyu başına 50 µL standart eklendi. Numune kuyularının her birine de 50 µL numune eklendi ve plaka kapağı ile kapatıldı.

20 mL'lik bir şişede, MES tamponu (11.25 mL), yeniden oluşturulmuş kofaktör karışımı (0.45 mL), yeniden oluşturulmuş enzim karışımı (2.1 mL), su (2.3 mL) ve yeniden oluşturulmuş DTNB (0.45 mL) karıştırılarak test karışımı hazırlandı.

Çoklu pipet kullanarak standartları ve örnekleri içeren kuyucukların her birine 150 µL hazırlanmış test karışımından eklendi. Plaka kapağını değiştirilerek kapatıldı. Numunelerin GSH konsantrasyonu kinetik yöntemle 30 dakika boyunca beş dakikalık aralıklarla 410 nm'de ölçülerek belirlendi.

Hesaplama,

Her bir standart ve numune için ortalama absorbans değerleri bulundu. Bulunan ortalamaların zamana karşı grafiği çizildi ve eğimi belirlendi. Bu eğime i-slope adı verilir.

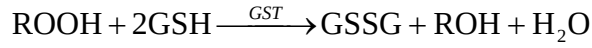
GSH'ın bir fonksiyonu olarak her bir standartın i-slope değerlerine karşılık bir grafik çizildi ve eğimi belirlendi. Bu eğime ise f-slope adı verilir.

Eğime karşı GSH standar eğrisi kullanılarak ilgili eğimlerinden her numune için toplam GSH değerleri hesaplandı.

$$\text{Toplam GSH} = [(\text{Numune için i-slope}) - (\text{y-kesişim noktası}) / (\text{f-slope})]$$

2.11.4. Glutatyon S-Transferaz Enzim (GST) Aktivitesi

Glutatyon S- Transferaz enzim aktivitesini belirlemek için Cayman'ın Glutatyon Assay Kit'i kullanıldı. 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin (CDNB) indirgenmiş glutatyon ile konjugasyonunu ölçelerek toplam GST aktivitesi ölçülür. Konjugasyona 340 nm'deki absorbans artışı eşlik eder. Artış oranı, numunedeki GST aktivitesi ile doğru orantılıdır.



Glutasyon S- Transferaz enzim aktivitesi ölçümü aşağıdaki adımlar izlenerek yapıldı;

Üç kuyucuğa 170 µL deneme tamponu ve 20 µL Glutasyon eklendi.

Pozitif kontrol için üç kuyuya 150 µL deneme tamponu 20 µL glutasyon ve 20 µL sulandırılmış GST (kontrol) eklendi.

Numune için 3 kuyucuğa 150 µL deneme tamponu 20 µL glutasyon ve 20 µL numune eklendi.

Kullanılan tüm kuyucuklara 10 µL CDNB eklenerek reaksiyon başlatıldı ve başlatılan zaman kayıt edildi.

Plaka birkaç saniye karıştırıldı. En az 5 zaman noktası elde etmek için plaka okuyucu kullanılarak 340 nm’de dakikada bir absorbanları okundu.

Hesaplama,

Dakikada absrobanstaki değişimi belirlemek için;

Eğrinin doğrusal kısmında iki nokta seçildi ve aşağıdaki formül kullanılarak bu süre boyunca absorbastaki değişim belirlendi.

$$\Delta A/\text{dak} = (A_{340} (2.\text{dak.})) - (A_{340}(1.\text{dak.})) / (2.\text{dak.}) - (1.\text{dak.})$$

$\Delta A_{340}/\text{dak}$. Oranı belirlendi. Bu oran enzimatik olmayan kuyular için numune kuyucuklarından çıkarıldı.

GST aktivitesini hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{GST aktivitesi} = [(\Delta A_{340}/\text{dak.}) / (0.00503 \mu\text{M}^{-1})] \times [(0.2 \text{ mL}) / (0.02 \text{ mL})]$$

2.12. Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesi

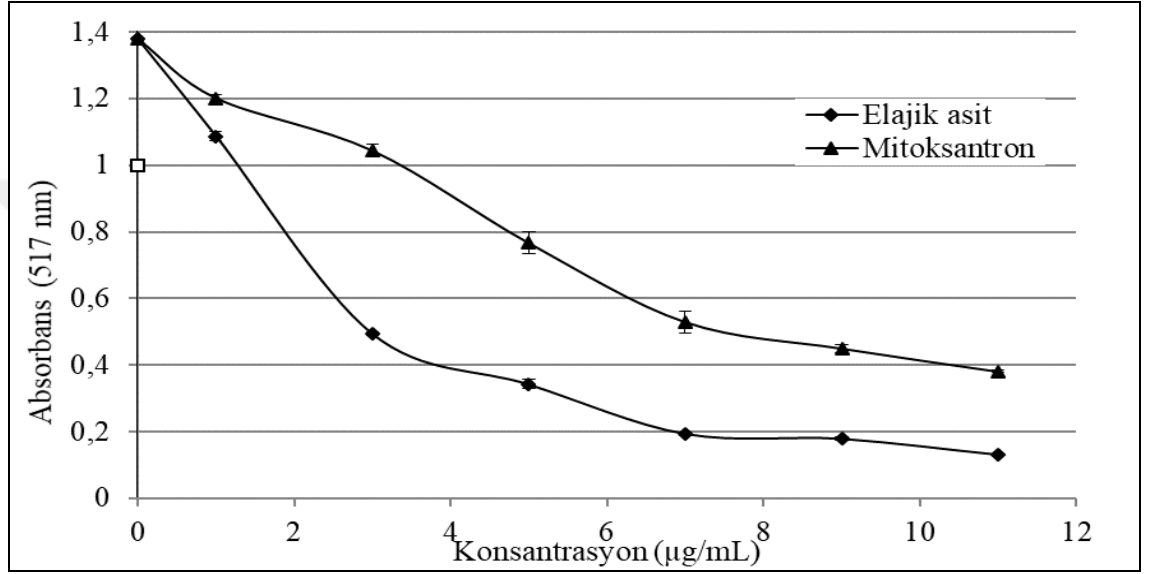
Hücre hatlarından alınan proteinlerde ayrıca Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlar için karbonik anhidraz enzim aktivitesi ölçümleri esteraz aktivite yöntemine göre yapıldı (Öztürk Sarıkaya ve Gülçin 2010). Bu yöntemlere göre karbonik anhidraz enzimi substrat olarak kullanılan p-nitrofenilasetatı 348 nm’de absorbsiyon veren p-nitrofenol veya p-nitrofenolata hidroliz etmektedir. 348 nm’de p-nitrofenol ve p-nitrofenolat’ın her ikisi aynı absorbanı göstermektedir. Bu yüzden fenol grubundaki H^+ iyonunun ayrışıp ayrışmaması ölçümü etkilememektedir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

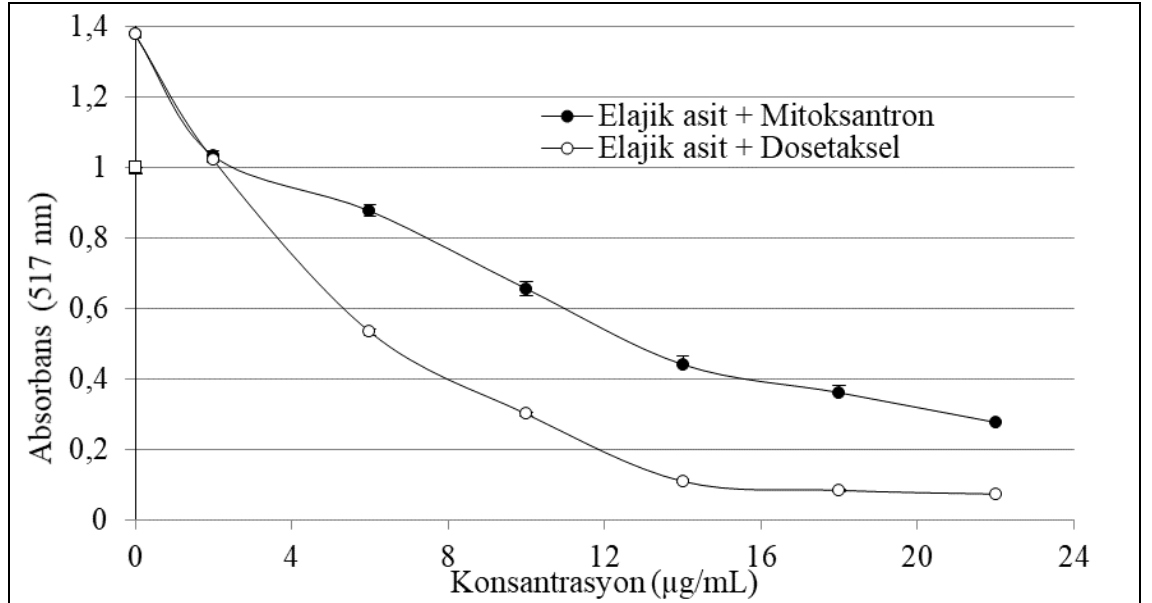
3.1. Antioksidan Aktivite Bulguları

3.1.1. DPPH· Giderme Aktivitesi Bulguları

DPPH· giderme aktivitesi, Blois metodu uygulanıp, Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının 517 nm'deki absorbansları ölçülerek konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans grafikleri çizilerek Şekil 6 ve 7'de verilmiştir.



Şekil 6. Elajik asit ve Mitoksantron maddelerinin (1-11 µg/mL) DPPH· giderme aktivitesi grafiği



Şekil 7. Kombinasyonların (Elajik asit + Mitoksantron ve Elajik asit + Dosetaksel) (2-22 µg/mL) DPPH· giderme aktivitesi grafiği

Şekil 6 ve 7’de görüldüğü gibi madde, ilaç ve kombinasyonların DPPH· giderme aktivitesi konsantrasyon arttıkça artmaktadır. Dosetaksel için konsantrasyon arttıkça absorbansta önemli bir azalma görülmediği için grafik edilmemiştir.

DPPH· giderme aktivitelerini karşılaştırmak üzere; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀) değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler Tablo 1’de verilmiştir.

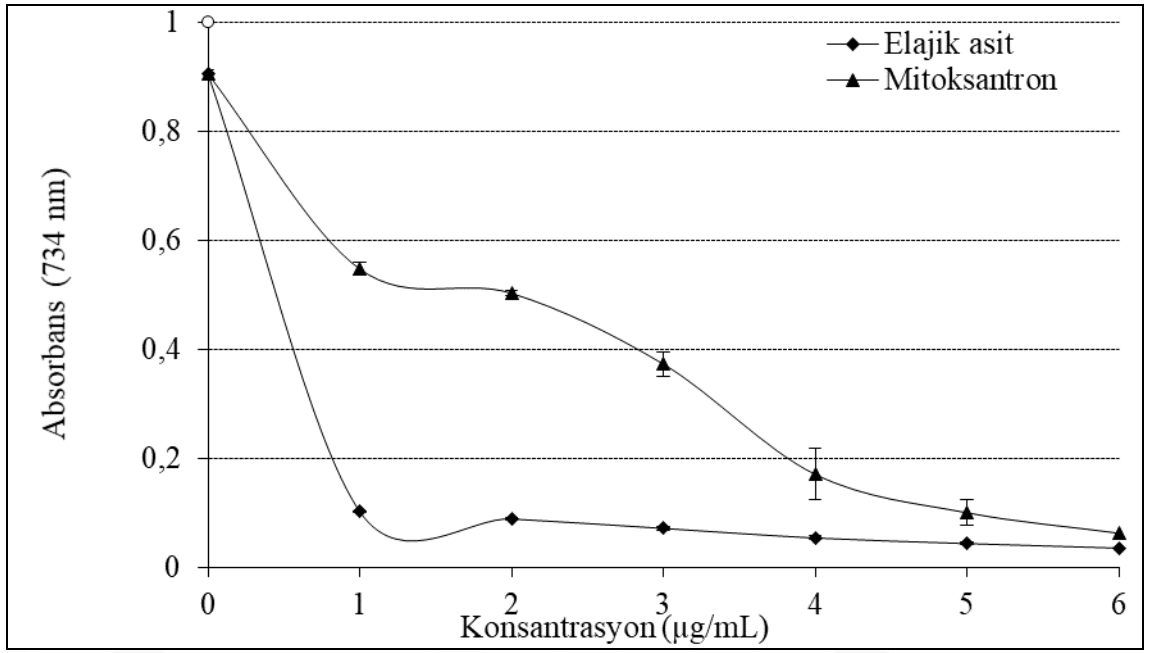
Tablo 1. Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için DPPH· giderme aktivitesi IC₅₀ değerleri

Maddeler ve Kombinasyonları	[IC ₅₀](µg/mL)
Elajik asit	3.797
Mitoksantron	6.556
Dosetaksel	-
Elajik asit+ Mitoksantron	10.999
Elajik asit + Dosetaksel	6.988

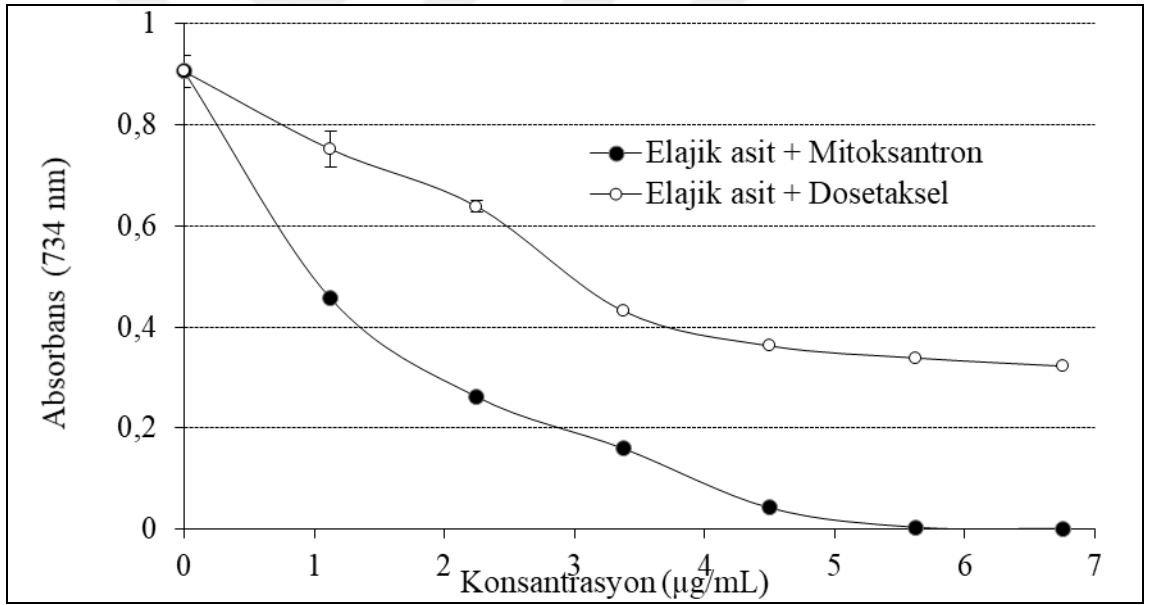
Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için hesaplanan DPPH· giderme aktivitesi IC₅₀ değerleri sıralaması Elajik asit > Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Elajik asit + Mitoksantron olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Dosetaksel’in DPPH· giderme aktivitesi gözlenmediğinden hesaplanabilen IC₅₀ değeri bulunmamaktadır.

3.1.2. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi Bulguları

ABTS^{•+} giderme aktivitesi, Re ve arkadaşlarının metoduna göre Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının 734 nm’deki absorbanları ölçülerek konsantrasyonlara karşılık gelen absorban grafikleri çizilerek Şekil 8 ve 9’da verilmiştir.



Şekil 8. Elajik asit ve Mitoksantron maddelerinin (1-6 µg/mL) ABTS⁺ giderme aktivitesi grafiği



Şekil 9. Kombinasyonların (Elajik asit + Mitoksantron ve Elajik asit + Dosetaksel) (1.125-6.750 µg/mL) ABTS⁺ giderme aktivitesi grafiği

Dosetaksel için konsantrasyon arttıkça absorbansta önemli bir azalma görülmediğinden grafik edilmemiştir.

ABTS⁺ giderme aktivitelerini karşılaştırmak üzere; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler Tablo 2'de verilmiştir. Elajik asit ile 1:8 konsantrasyon oranında çalışıldığından seyreltme değeri dikkate alınarak IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

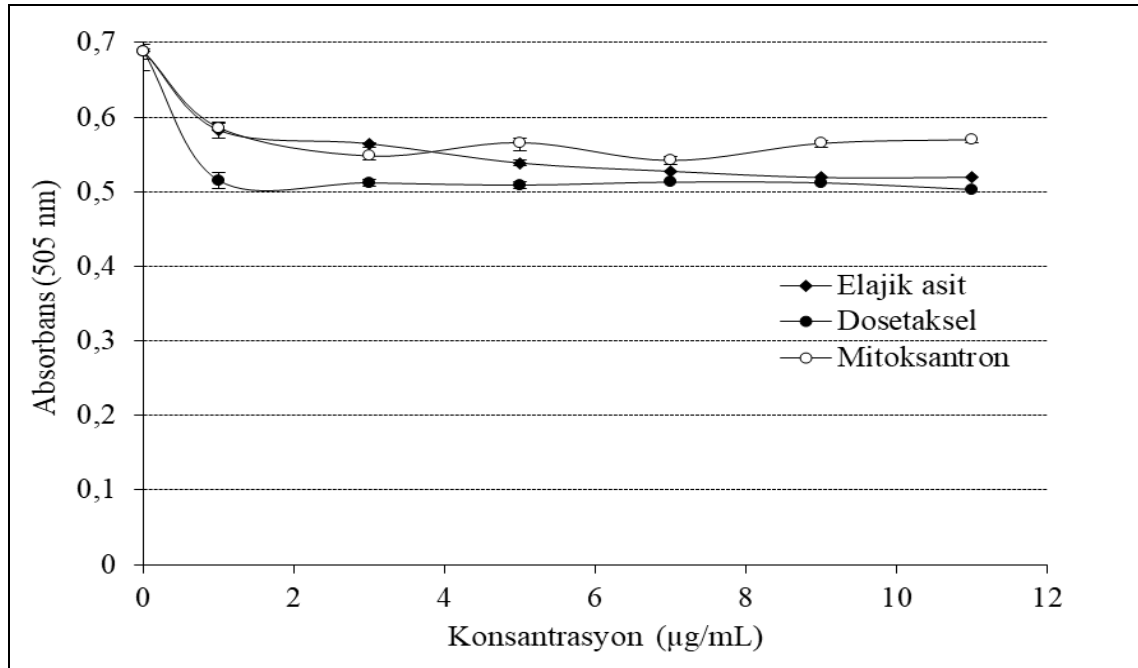
Tablo 2. Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için ABTS⁺ giderme aktivitesi IC₅₀ değerleri

Maddeler ve Kombinasyonları	[IC ₅₀](µg/mL)
Elajik asit	0.524
Mitoksantron	2.461
Dosetaksel	-
Elajik asit+ Mitoksantron	1.804
Elajik asit + Dosetaksel	4.290

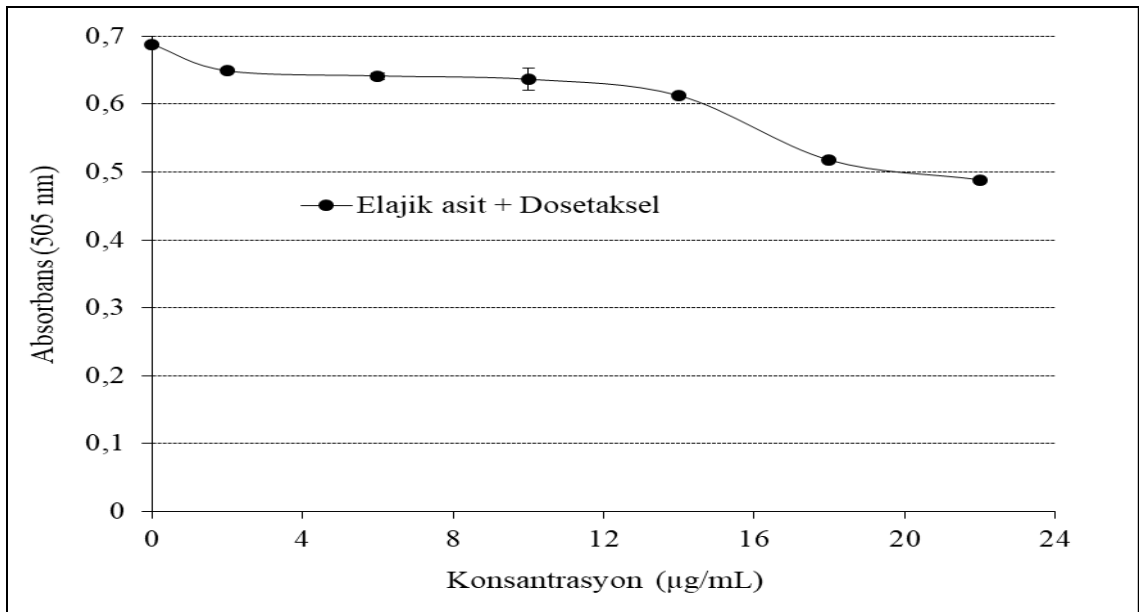
Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için; hesaplanan ABTS⁺ giderme aktivitesi sırasıyla; Mitoksantron > Elajik asit > Elajik asit + Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Dosetaksel'in ABTS⁺ giderme aktivitesi gözlenmediğinden hesaplanabilen IC₅₀ değeri bulunmamaktadır.

3.1.3. DMPD⁺ Giderme Aktivitesi Bulguları

DMPD⁺ giderme aktivitesi, Fogliona ve arkadaşlarının metoduna göre Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının 505 nm'deki absorbansları ölçülerek konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans grafikleri çizilerek Şekil 10 ve 11'de verilmiştir.



Şekil 10. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-11 µg/mL) DMPD⁺ giderme aktivitesi grafiği



Şekil 11. Elajik asit + Dosetaksel kombinasyonunun (2-22 µg/mL) DMPD⁺ giderme aktivitesi grafiği

Elajik asit + Mitoksantron için konsantrasyon arttıkça düzenli bir azalma görülmediğinden grafik elde edilememiştir. Elde edilen absorban değerleri kontrol değerinin yarısının altına inmediğinden grafikte verilen diğer değerler içinde IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 9 µg/mL konsantrasyonda bulunan değerler için % DMPD⁺ giderme aktivitesi hesaplanarak Tablo 3'te verilmiştir.

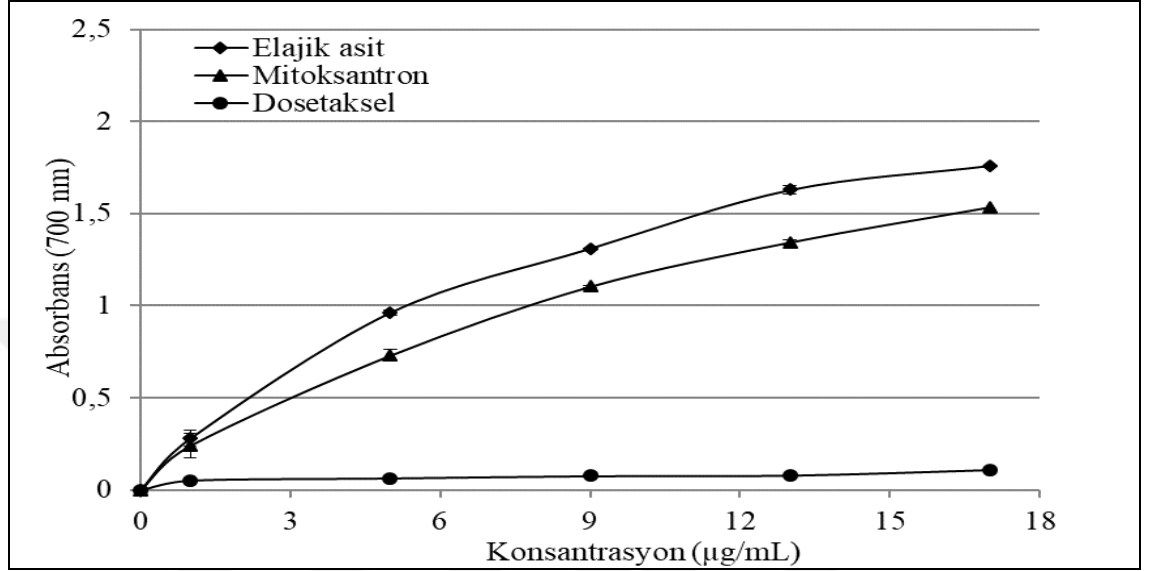
Tablo 3. Elajik asit, Mitoksantron, Dosetaksel ve Elajik asit Dosetaksel kombinasyonu için 9 µg/mL konsantrasyonu için hesaplanan % DMPD⁺ giderme aktivitesi değerleri

Maddeler ve Kombinasyonları	DMPD ⁺ giderme (%)
Elajik asit	24.564
Mitoksantron	17.878
Dosetaksel	25.581
Elajik asit + Dosetaksel	12.355

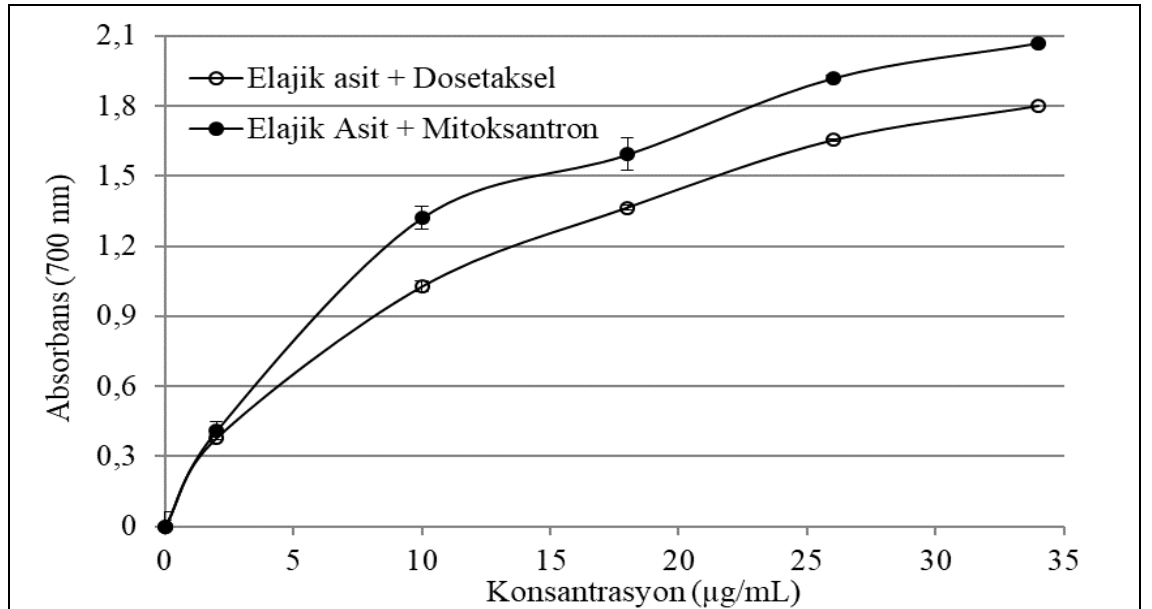
Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için; 9 µg/mL konsantrasyonu için hesaplanan % DMPD⁺ giderme aktivitesi sırasıyla Dosetaksel > Elajik Asit > Mitoksantron > Elajik Asit + Dosetaksel olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Elajik asit + Mitoksantron için DMPD⁺ giderme aktivitesi gözlenmediğinden hesaplanabilen giderme (%) değeri bulunmamaktadır.

3.1.4. Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Aktivitesi Bulguları

Ferrik iyonları (Fe^{3+} - Fe^{2+}) indirgeme kapasitesi, Oyaizu metodunun hafif modifikasyonu ile Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının 700 nm'deki absorbansları ölçülerek konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans grafikleri çizilerek Şekil 12 ve 13'te verilmiştir.



Şekil 12. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-17 µg/mL) Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi grafiği



Şekil 13. Kombinasyonların (Elajik asit + Dosetaksel ve Elajik asit + Mitoksantron) (2-34 µg/mL) Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi grafiği

Dosetaksel'in konsantrasyon artışına bağlı olarak absorbans artışı önemsizmeyecek kadar küçüktür. Diğer tüm maddeler ve kombinasyonları için konsantrasyon ile birlikte absorbans artışı gözlenmektedir.

Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonların 5 µg/mL'deki absorbans değerleri Tablo 4'te verilerek birbirleriyle karşılaştırıldı.

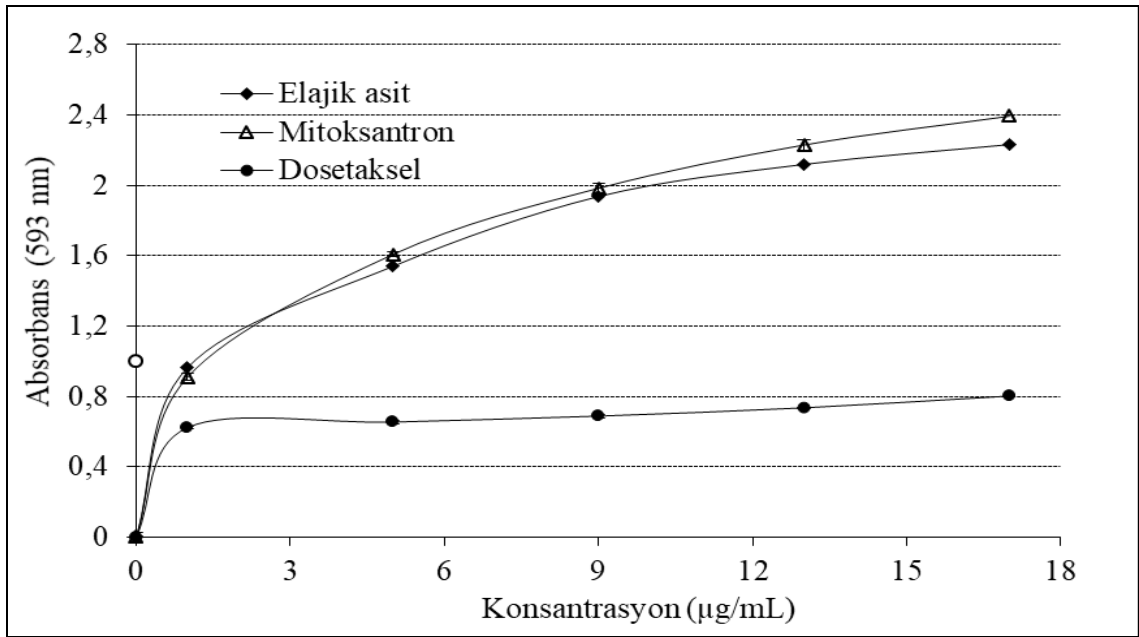
Tablo 4. Fe³⁺- Fe²⁺ indirgeme kapasitesi metoduna göre; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için 5 µg/mL'de ölçülen absorbans değerleri

Maddeler ve Kombinasyonları	Absorbans (700 nm) ± SS
Elajik asit	0.964 ± 0.043
Mitoksantron	0.730 ± 0.067
Dosetaksel	0.064 ± 0.001
Elajik asit + Mitoksantron	0.661 ± 0.038
Elajik asit + Dosetaksel	0.514 ± 0.010

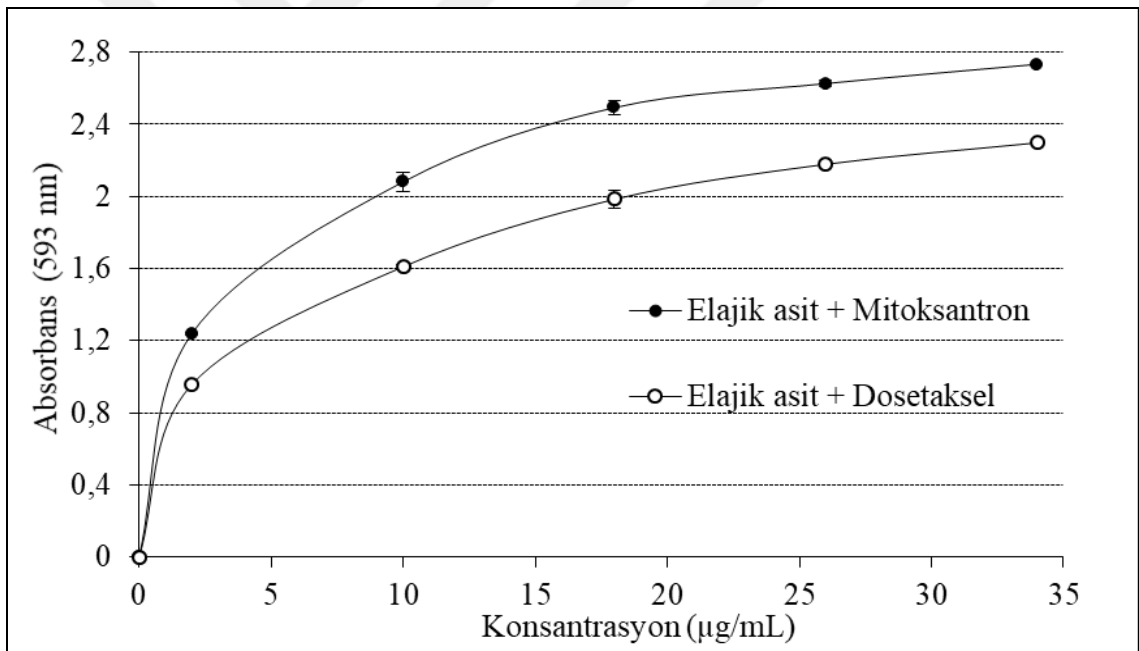
Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için; 5 µg/mL konsantrasyonda Fe³⁺- Fe²⁺ indirgeme kapasitesi sırasıyla Elajik asit > Mitoksantron > Elajik asit + Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Dosetaksel olarak belirlenmiştir (Tablo 4)

3.1.5. Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme (FRAP) Kapasitesi Bulguları

FRAP metoduna göre Fe³⁺- Fe²⁺ indirgeme kapasitesi, Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının 593 nm'deki absorbansları ölçülerek konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans grafikleri çizilerek Şekil 14 ve 15'te verilmiştir.



Şekil 14. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-17 µg/mL) FRAP metoduna göre Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi grafiği



Şekil 15. Kombinasyonların (Elajik asit + Dosetaksel ve Elajik asit + Mitoksantron) (2-34 µg/mL) FRAP metoduna göre Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi grafiği

Dosetaksel'in konsantrasyon artışına bağlı olarak absorbans artışı önemsenmeyecek kadar küçüktür. Diğer tüm maddeler ve kombinasyonları için konsantrasyon ile birlikte absorbans artışı gözlenmektedir (Şekil 14 ve 15).

Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonların 5 µg/mL'deki absorbans değerleri Tablo 5'te verilerek birbirleriyle karşılaştırıldı.

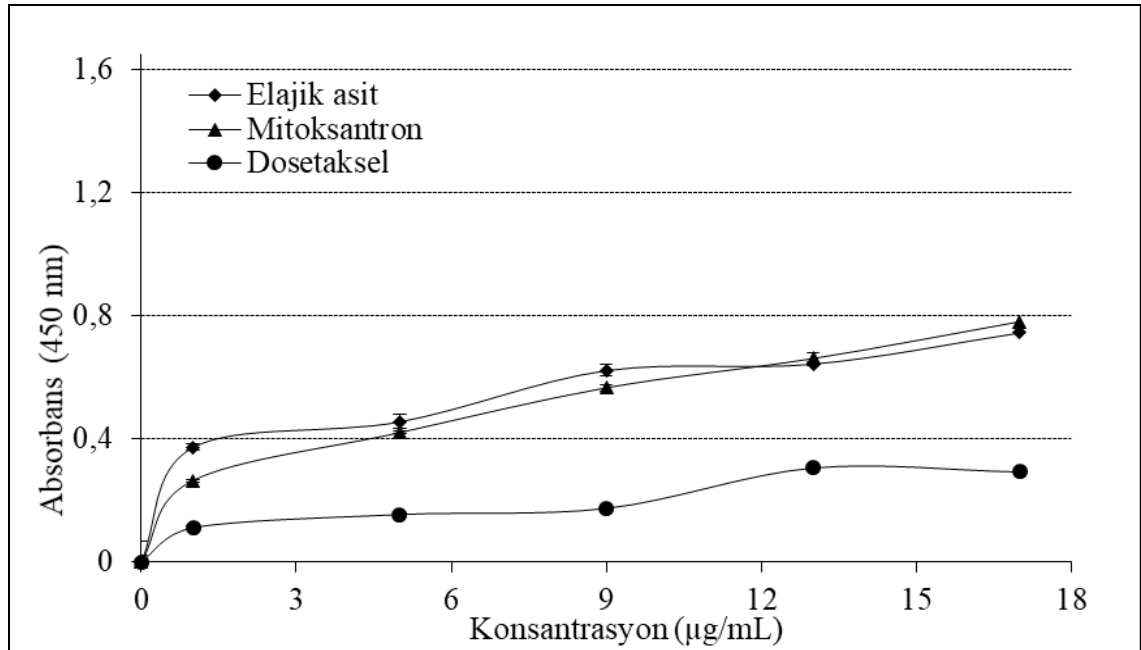
Tablo 5. FRAP Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi metoduna göre; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için 5 $\mu\text{g/mL}$ 'de ölçülen absorbans değerleri

Maddeler ve Kombinasyonları	Absorbans (593 nm) $\pm$ SS
Elajik asit	1.540 $\pm$ 0.004
Mitoksantron	1.607 $\pm$ 0.021
Dosetaksel	0.654 $\pm$ 0.036
Elajik asit + Mitoksantron	1.041 $\pm$ 0.008
Elajik asit + Dosetaksel	0.806 $\pm$ 0.011

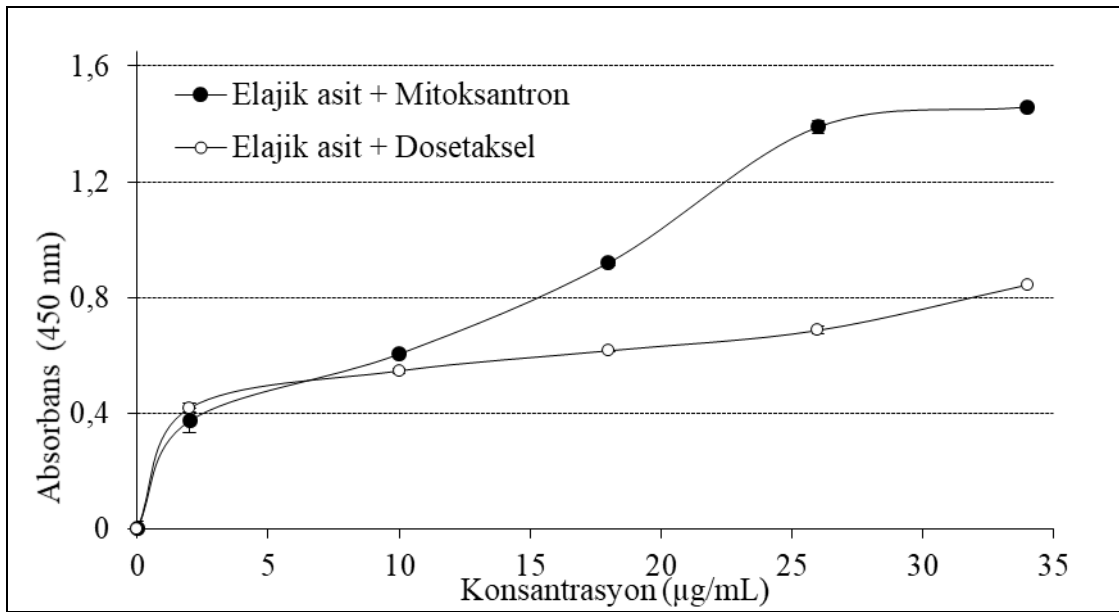
Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için; 5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda FRAP metoduna göre Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi sırasıyla Mitoksantron > Elajik asit > Elajik asit + Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Dosetaksel olarak belirlenmiştir (Tablo 5).

3.1.6. Cu^{3+} - Cu^+ İndirgeme Kapasitesi Bulguları

Kuprik iyonlarını (Cu^{2+} - Cu^{1+}) indirgeme kapasitesi, Apak ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının 450 nm'deki absorbansları ölçülerek konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans grafikleri çizilerek Şekil 16 ve 17'de verilmiştir.



Şekil 16. Elajik asit, Mitoksantron ve Dosetaksel maddelerinin (1-17 $\mu\text{g/mL}$) Cu^{2+} Cu^{1+} indirgeme kapasitesi grafiği



Şekil 17. Kombinasyonların (Elajik asit + Dosetaksel ve Elajik asit + Mitoksantron) (2-34 µg/mL) Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme kapasitesi grafiği

Dosetaksel'in konsantrasyon artışına bağlı olarak absorbans artışı önemsizmeyecek kadar küçüktür. Diğer tüm maddeler ve kombinasyonları için konsantrasyon ile birlikte absorbans artışı gözlenmektedir (Şekil 16 ve 17).

Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonların 5 µg/mL'deki absorbans değerleri Tablo 6'da verilerek birbirleriyle karşılaştırıldı.

Tablo 6. Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme kapasitesi metoduna göre; Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için 5 µg/mL'de ölçülen absorbans değerleri

Maddeler ve Kombinasyonları	Absorbans (450 nm) ± SS
Elajik asit	0.455 ± 0.011
Mitoksantron	0.420 ± 0.004
Dosetaksel	0.154 ± 0.004
Elajik asit + Mitoksantron	0.303 ± 0.042
Elajik asit + Dosetaksel	0.274 ± 0.016

Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonları için; 5 µg/mL konsantrasyonda Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme kapasitesi sırasıyla Elajik asit > Mitoksantron > Elajik asit + Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Dosetaksel olarak belirlenmiştir (Tablo 6).

3.2. *In Vitro* Antioksidan Aktivite Bulgularının Sinerjik Etkilerinin Belirlenmesi

In vitro çalışılan antioksidan metodlarda; kombinasyon indeksini (CI) belirlemek amacıyla compusyn programı kullanılmıştır. Böylece kombinasyonların sinerjik etki gösterdiği metotlar ve kombinasyonlar için etkin dozlar belirlenmiştir. Program 1’den büyük değerleri kabul etmediğinden her metot içerisinde bulunan 1’den büyük olan en büyük değer 0.999 olarak alınarak diğer değerler orantı yoluyla tekrar hesaplanmıştır. 1’den büyük değerler içeren metotlardaki bulgular her metot içerisinde bu şekilde orantı oluşturularak programa uygulanmıştır. Kombinasyon etki değeri (CI) 1’den küçük olmayan sonuçlar önemli olmadığından çalışma sonucunda verilmemiştir.

Tablolarda verilen isimler aşağıdaki şekilde kısaltılarak kullanılmıştır.

Elajik asit: E, Dosetaksel: D, Mitoksantron: M, Elajik Asit + Dosetaksel: E + D, Elajik Asit + Mitoksantron: E + M, Kombinasyon İndeksi: CI, Fraksiyonel etki: Fa

3.2.1. DPPH· Giderme Aktivitesi Bulguları

DPPH· giderme metoduna göre çalışılarak elde edilen sonuçlar Compusyn programına uygulanmıştır. Tablo 7 ve 8’de Elajik asit, Dosetaksel absorbansları, fraksiyonel etki ve kombinasyon indeks değerleri verilmiştir.

Tablo 7. Elajik asit ve Dosetaksel’in DPPH· giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	D	D
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
1.000	0.791	1.000	0.999
3.000	0.359	3.000	0.993
5.000	0.249	5.000	0.987
7.000	0.142	7.000	0.995
9.000	0.131	9.000	0.995
11.000	0.096	11.000	0.992

Tablo 8. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun DPPH[·] giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

	Fa	CI
Doz (µg/mL)	(E+D)	(E+D)
2.000	0.744	0.898
6.000	0.389	0.962
10.000	0.219	0.919
14.000	0.080	0.582
18.000	0.061	0.614
22.000	0.053	0.678

Tablo 8'e göre DPPH[·] giderme metodunda; Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun 6 dozu için CI < 1 olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 14 µg/mL olduğu düşünülmektedir (CI: 0.582). Aynı zamanda 18 µg/mL (CI: 0.614) ve 22 µg/mL (CI: 0.678) dozlarında da etkin sinerjik etkiye sahip oldukları görülmektedir. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunda her doz için CI < 1 değeri bulunmuştur. Bu durum kombinasyondaki yüksek antioksidan aktivitesinin Elajik asitten kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

3.2.2. ABTS⁺ Giderme Aktivitesi Bulguları

ABTS⁺ giderme metoduna göre çalışılarak elde edilen sonuçlar Compusyn programına uygulanmıştır. Tablo 9, 10, 11 ve 12'de Elajik asit, Dosetaksel absorbansları, fraksiyonel etki ve kombinasyon indeks değerleri verilmiştir.

ABTS⁺ giderme metoduna göre çalışılarak elde edilen Elajik asit, Dosetaksel, Mitoksantron ve kombinasyonların absorbansları, dozları ve sonuçların compusyn programına uygulanmasıyla elde edilen etki değerleri verilmiştir.

Tablo 9. Elajik asit ve Dosetaksel'in ABTS⁺ giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	D	D
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
0.125	0.821	1.000	0.903
0.250	0.714	2.000	0.900

Tablo 9. (Devamı)

E	E	D	D
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
0.375	0.575	3.000	0.890
0.500	0.434	4.000	0.872
0.625	0.353	5.000	0.823
0.750	0.285	6.000	0.816

Tablo 10. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun ABTS⁺⁺ giderme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

Doz (µg/mL)	Fa (E+D)	CI (E+D)
1.125	0.752	0.712
2.250	0.639	0.928
3.375	0.432	0.742
4.500	0.353	0.802
5.625	0.339	0.929
6.750	0.323	1.058

Tablo 11. Elajik asit ve Mitoksantron'un ABTS⁺⁺ giderme metoduna göre bulunan ve Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	M	M
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
0.125	0.821	1.000	0.548
0.250	0.714	2.000	0.504
0.375	0.575	3.000	0.374
0.500	0.434	4.000	0.171
0.625	0.353	5.000	0.101
0.750	0.285	6.000	0.063

Tablo 12. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun ABTS⁺ giderme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

	Fa	CI
Doz (µg/mL)	E + M	(E+M)
1.125	0.457	0.856
2.250	0.262	0.990
3.375	0.160	1.003
4.500	0.042	0.532
5.625	0.004	0.150
6.750	0.001	0.076

Tablo 10'a göre ABTS⁺ giderme metodunda; Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun 5 dozu için CI < 1 olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 1.125 µg/mL olabileceği düşünölmektedir (CI: 0.712). Aynı zamanda 3.375 µg/mL (CI: 0.742) ve 4.500 µg/mL (CI: 0.802) dozlarında ki uygulamalarında da etkin olduğu görölmektedir.

Tablo 12'ye göre ABTS⁺ giderme metodunda; Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun 5 dozu içinde CI < 1 olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 6.750 µg/mL olabileceği düşünölmektedir (CI: 0.076). Aynı zamanda 5.625 µg/mL (CI: 0.150) ve 4.500 µg/mL (CI: 0.532) dozlarında ki uygulamalarında da etkin olduğu görölmektedir.

3.2.3. Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme Aktivitesi Bulguları

Fe³⁺- Fe²⁺ indirgeme metoduna göre çalışılarak elde edilen sonuçlar Compusyn progamına uygulanmıştır. Tablo 13, 14, 15 ve 16'da Elajik asit, Dosetaksel absorbansları, fraksiyonel etki ve kombinasyon indeks değerleri verilmiştir.

Tablo 13. Elajik asit ve Dosetaksel'in Fe³⁺- Fe²⁺ indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	D	D
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
1.000	0.136	1.000	0.025
5.000	0.465	5.000	0.031

Tablo 13. (Devamı)

E	E	D	D
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
9.000	0.632	9.000	0.037
13.000	0.786	13.000	0.038
17.000	0.850	17.000	0.053

Tablo 14. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

	Fa	CI
Doz (µg/mL)	(E+D)	(E+D)
2.000	0.183	0.671
10.000	0.496	1.042
18.000	0.659	1.084
26.000	0.774	0.879
34.000	0.869	0.757

Tablo 15. Elajik asit ve Mitoksantron'un Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	M	M
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
1.000	0.136	1.000	0.116
5.000	0.465	5.000	0.352
9.000	0.632	9.000	0.532
13.000	0.786	13.000	0.648
17.000	0.850	17.000	0.837

Tablo 16. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

	Fa	CI
Doz ($\mu\text{g/mL}$)	(E+M)	(E+M)
2.000	0.198	1.130
10.000	0.638	1.118
18.000	0.768	1.197
26.000	0.921	0.613
34.000	0.999	0.021

Tablo 14'e göre Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metodunda; Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun 3 dozu için $CI < 1$ olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 2.000 $\mu\text{g/mL}$ olabileceği düşünülmektedir (CI: 0.671). Aynı zamanda 26.000 (CI: 0.879) ve 34.000 $\mu\text{g/mL}$ (CI: 0.757) dozlarındaki uygulamalarında da etkin olduğu görülmektedir.

Tablo 16'ya göre Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme metodunda; Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun 2 dozu için $CI < 1$ olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 34.000 $\mu\text{g/mL}$ olabileceği düşünülmektedir (CI: 0.021). Aynı zamanda 26.000 $\mu\text{g/mL}$ (CI: 0.613) dozundaki uygulamasında da etkin olduğu görülmektedir.

3.2.4. Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme (FRAP) Kapasitesi Bulguları

Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme (FRAP) metoduna göre çalışılarak elde edilen sonuçlar Compusyn programına uygulanmıştır. Tablo 17, 18, 19 ve 20'de Elajik asit, Dosetaksel absorbansları, fraksiyonel etki ve kombinasyon indeks değerleri verilmiştir.

Tablo 17. Elajik asit ve Dosetaksel'in Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme (FRAP) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	D	D
Doz ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans	Doz ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans
1.000	0.352	1.000	0.228
5.000	0.563	5.000	0.239
9.000	0.707	9.000	0.251

Tablo 17. (Devamı)

E	E	D	D
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
13.000	0.774	13.000	0.269
17.000	0.815	17.000	0.293

Tablo 18. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} (FRAP) indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

Doz (µg/mL)	Fa (E+D)	CI (E+D)
2.000	0.350	0.887
10.000	0.588	1.179
18.000	0.725	0.923
26.000	0.796	0.783
34.000	0.840	0.684

Tablo 19. Elajik asit ve Mitoksantron'un Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme (FRAP) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	M	M
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
1.000	0.352	1.000	0.333
5.000	0.563	5.000	0.587
9.000	0.707	9.000	0.725
13.000	0.774	13.000	0.814
17.000	0.815	17.000	0.874

Tablo 20. Mitoksantron ve Dosetaksel kombinasyonunun Fe^{3+} - Fe^{2+} (FRAP) indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

Doz (µg/mL)	Fa (E+M)	CI (E+M)
2.000	0.350	0.978

Tablo 20. (Devamı)

Doz (µg/mL)	Fa (E+M)	CI (E+M)
10.000	0.588	0.933
18.000	0.725	0.407
26.000	0.796	0.211
34.000	0.840	0.004

Tablo 18'e göre Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme (FRAP) metodunda; Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun 4 dozu için $CI < 1$ olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 34.000 µg/mL olabileceği düşünülmektedir (CI: 0.684). Aynı zamanda 2.000 µg/mL (CI: 0.887) ve 26.000 µg/mL (CI: 0.783) dozlarındaki uygulamalarında da etkin olduğu görülmektedir.

Tablo 20'ye göre Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme (FRAP) metodunda; Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun 5 dozu için $CI < 1$ olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 34.000 µg/mL olabileceği düşünülmektedir (CI: 0.004). Aynı zamanda 26.000 µg/mL (CI: 0.211) ve 18.000 (CI: 0.0407) µg/mL dozlarındaki uygulamalarında da etkin olduğu görülmektedir.

3.2.5. Cu^{3+} - Cu^{1+} İndirgeme Kapasitesi Bulguları

Cu^{2+} - Cu^{1+} İndirgeme (Kuprak) metodu göre çalışılarak elde edilen sonuçlar Compusyn programına uygulanmıştır. Tablo 21, 22, 23 ve 24'te Elajik asit, Dosetaksel absorbansları, fraksiyonel etki ve kombinasyon indeks değerleri verilmiştir.

Tablo 21. Elajik asit ve Dosetaksel'in Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbans değerleri

E	E	D	D
Doz (µg/mL)	Absorbans	Doz (µg/mL)	Absorbans
1.000	0.254	1.000	0.076
5.000	0.311	5.000	0.105
9.000	0.425	9.000	0.120
13.000	0.440	13.000	0.209
17.000	0.509	17.000	0.200

Tablo 22. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

	Fa	CI
Doz ($\mu\text{g/mL}$)	(E+D)	(E+D)
2.000	0.286	0.521
10.000	0.374	0.907
18.000	0.422	0.962
26.000	0.470	0.832
34.000	0.578	0.346

Tablo 23. Elajik asit ve Mitoksantron'un Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz ve absorbens değerleri

E	E	M	M
Doz($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans	Doz($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans
1.000	0.254	1.000	0.181
5.000	0.311	5.000	0.288
9.000	0.425	9.000	0.387
13.000	0.440	13.000	0.452
17.000	0.509	17.000	0.534

Tablo 24. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) indirgeme metoduna göre bulunan Compusyn programına girilen doz, Fa ve uygulama sonucunda elde edilen CI değerleri

	Fa	CI
Doz ($\mu\text{g/mL}$)	(E+M)	(E+M)
2.000	0.256	1.133
10.000	0.414	1.081
18.000	0.630	0.290
26.000	0.951	0.004
34.000	0.999	3.74×10^{-6}

Tablo 22'ye göre Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) metodunda; Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunda 5 doz için $\text{CI} < 1$ olarak bulunmuştur. Kombinasyon için

en etkin konsantrasyon dozunun 34.000 µg/mL olabileceği düşünülmektedir (CI: 0.346). Aynı zamanda 2.000 µg/mL (CI: 0.521) ve 26.000 µg/mL (CI: 0.832) dozlarındaki uygulamalarında da etkin olduğu görülmektedir.

Tablo 24'e göre Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme (Kuprak) metodu için; Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunda 3 doz için $\text{CI} < 1$ olarak bulunmuştur. Kombinasyon için en etkin konsantrasyon dozunun 34.000 µg/mL olabileceği düşünülmektedir (CI: $3.74 \cdot 10^{-6}$). Aynı zamanda 18.000 µg/mL (CI: 0.290) ve 26.000 µg/mL (CI: 0.004) dozlarındaki uygulamalarında da etkin olduğu görülmektedir.

3.3. Hücre Proliferasyonu Testi (XTT) Bulguları

XTT [(2,3-Bis - (2-Metoksi - 4-Nitro - 5-Sülfofenil) - 2H-Tetrazolyum – 5 Karboksanilit)] yöntemi ile hücre proliferasyonundaki değişimler belirlenmiştir. XTT analizi, XTT azalmasına bağlı olarak enzimatik aktivitenin ya da formazan boyalarının kolorimetrik olarak ölçülmesine dayanarak hücre çoğalma miktarının tespit edildiği bir metottur. Söz konusu yöntemde, proliferasyonu artmış hücreler tarafından XTT tuzu kullanılmaktadır ve artan dehidrojenaz enzim aktivitesine bağlı olarak XTT tuzunu turuncu renkli suda çözünebilen formazan ürününe dönüştürmektedir. Elde edilen renk değişimi, ELISA okuyucu ya da spektrofotometre ile ölçülerek hücre proliferasyonundaki değişimler belirlendi.

MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hattına uygulanan Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçlarının ve bir fenolik asit olan Elajik asidin konsantrasyon aralıkları literatür taraması sonucu elde edilmiştir.

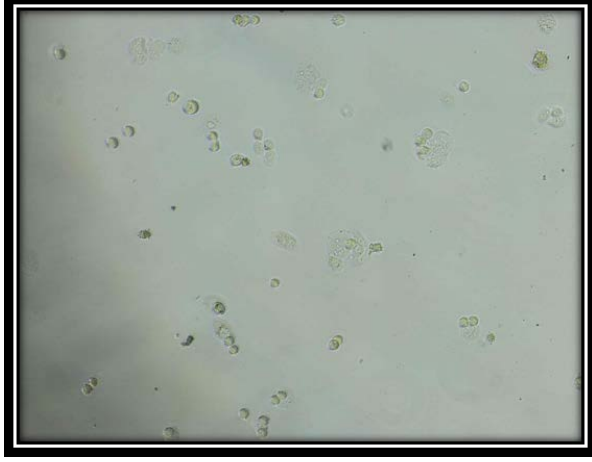
Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlarının (50-200 µM) MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 25'te verilmiştir.

Tablo 25. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Dosetaksel'in % inhibisyon değerleri

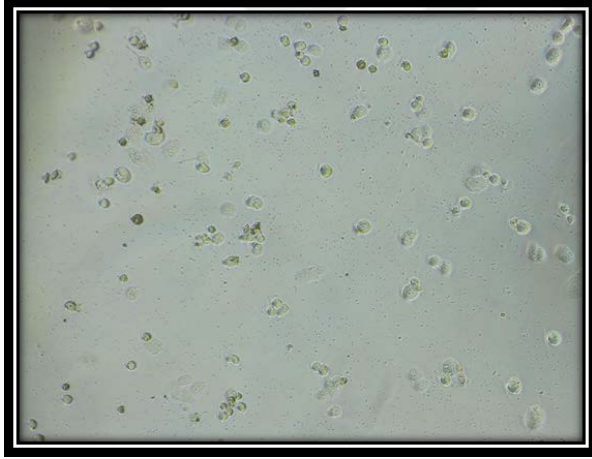
Dosetaksel (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) µM	%İnhibisyon
200	68.051
150	53.087
100	49.093
50	43.607

Dosetaksel'in MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki %inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop

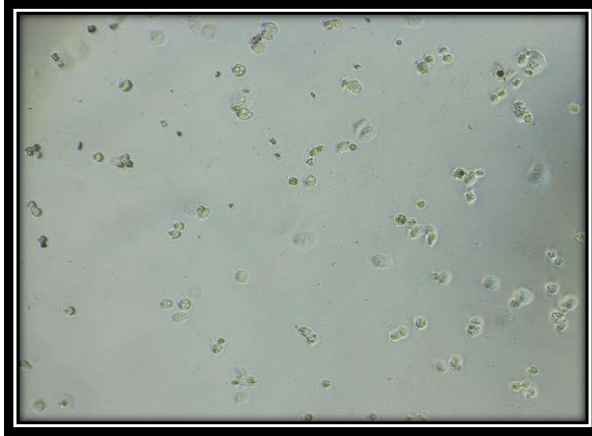
görüntüleri ve MCF-7 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 18 – Şekil 22’de verilmiştir.



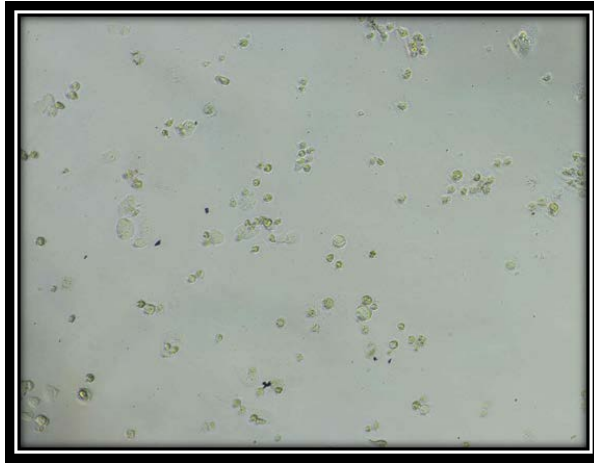
Şekil 18. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel’in 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



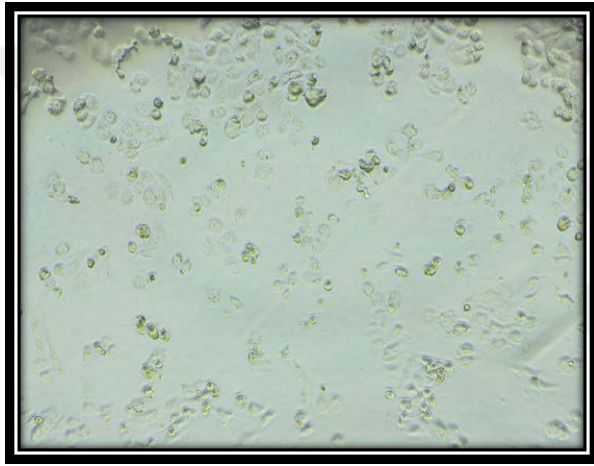
Şekil 19. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel’in 100 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 20. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel’in 150 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 21. MCF-7 hücre hattında Dosetaksel'in 200 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 22. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

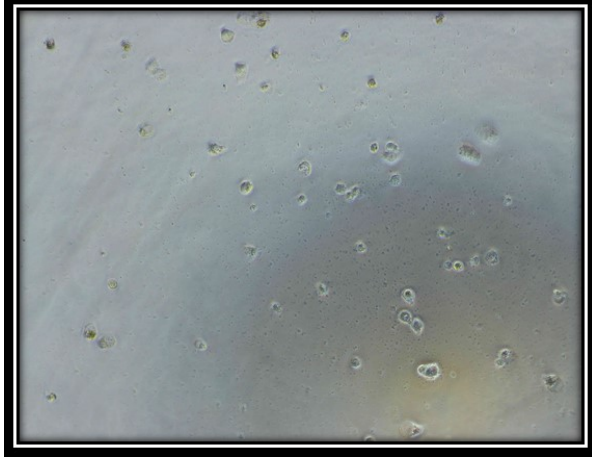
Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlarının (0.0125-1 µM) MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 26'da verilmiştir.

Tablo 26. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Mitoksantron'un % inhibisyon değerleri

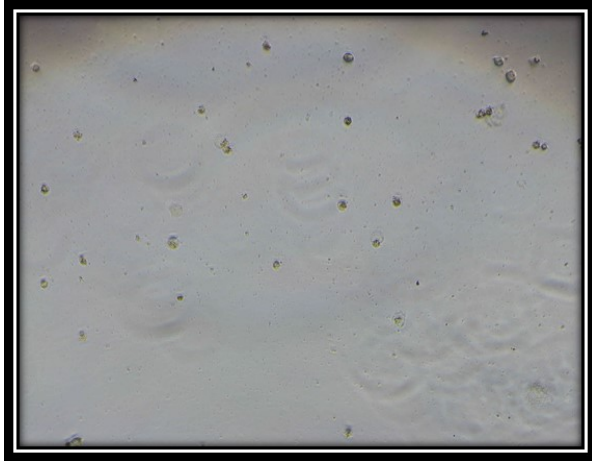
Mitoksantron (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) µM	%İnhibisyon
1	70.39943
0.05	64.55064
0.025	62.26819
0.0125	43.72325

Mitoksantron'un MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile

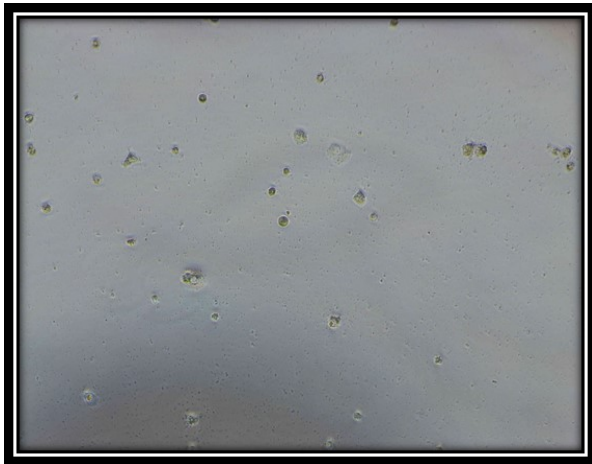
elde edilen mikroskop görüntüleri ve MCF-7 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 23 - Şekil 27’de verilmiştir.



Şekil 23. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron’un 0.0125 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



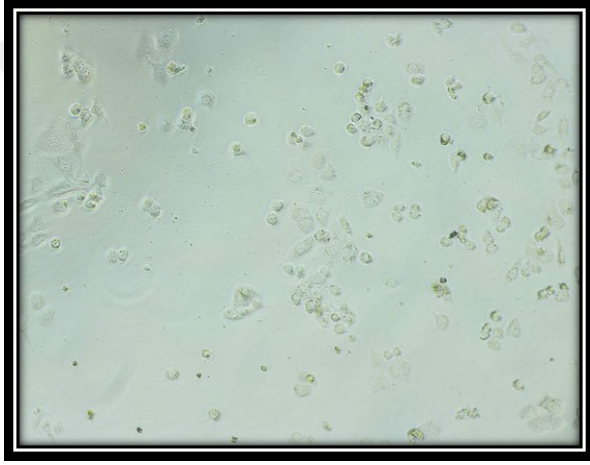
Şekil 24. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron’un 0.025 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 25. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron’un 0.05 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 26. MCF-7 hücre hattında Mitoksantron'un 1 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 27. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

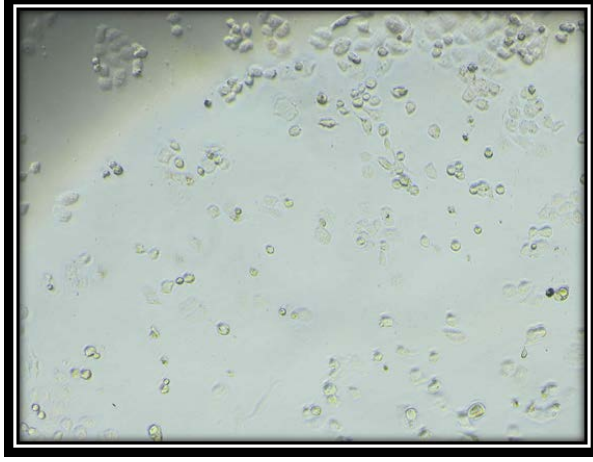
Elajik asidin farklı konsantrasyonlarının (50-200 µM) MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 27'de verilmiştir.

Tablo 27. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik asidin % inhibisyon değerleri

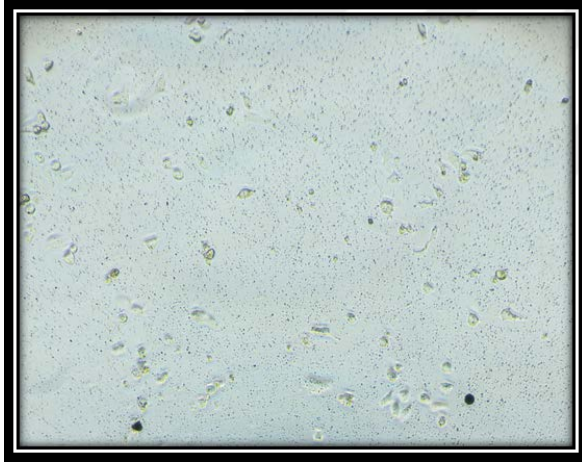
Elajik Asit (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) µM	%İnhibisyon
200	64.529
150	50.681
100	49.050
50	36.738

Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Elajik asidin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop

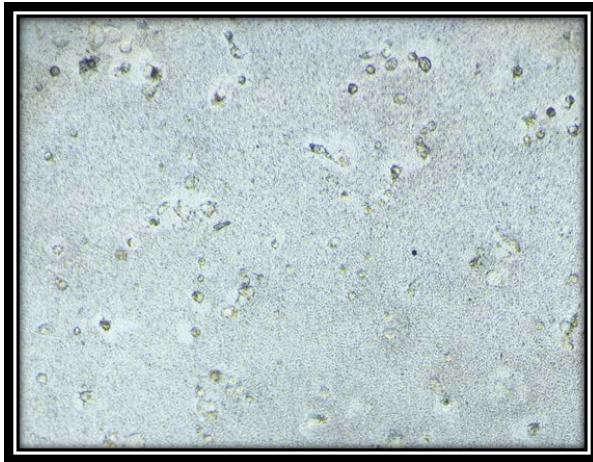
görüntüleri ve MCF-7 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 28 - Şekil 32’de verilmiştir.



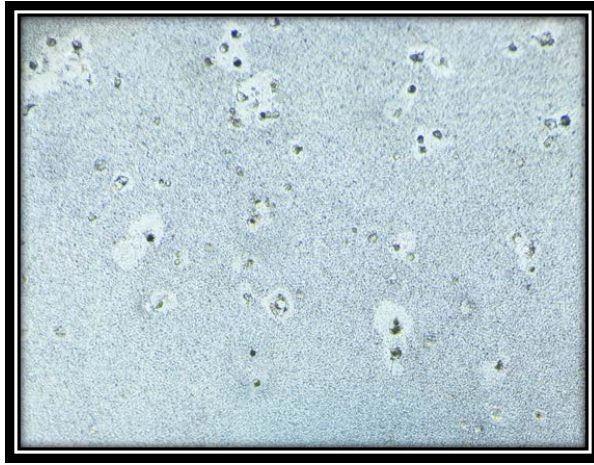
Şekil 28. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



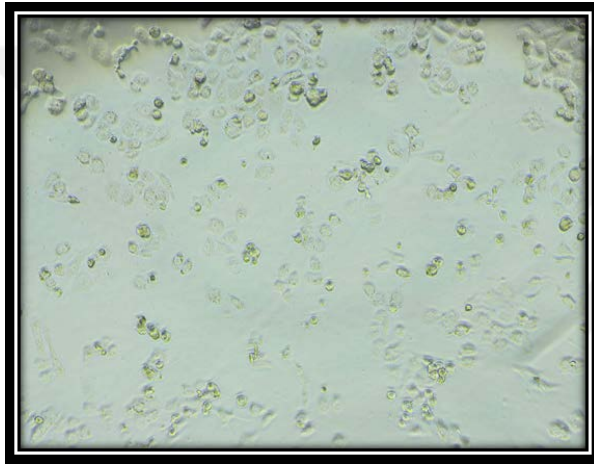
Şekil 29. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 100 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 30. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 150 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 31. MCF-7 hücre hattında Elajik asidin 200 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 32. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

MCF-7 insan meme kanser hücre hattında Elajik asit ve Dosetaksel'in kombinasyon konsantrasyonları için Elajik asidin en düşük konsantrasyonu (50 µM), Dosetaksel'in ise farklı konsantrasyonları (50, 100, 150, 200 µM) kullanıldı.

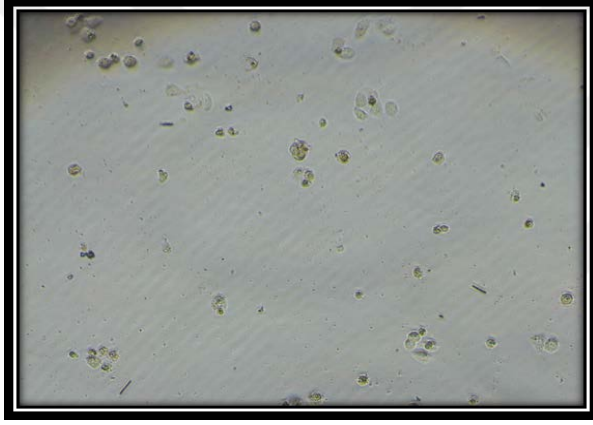
Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 28'de verilmiştir.

Tablo 28. MCF-7 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik Asit + Dosetaksel kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri

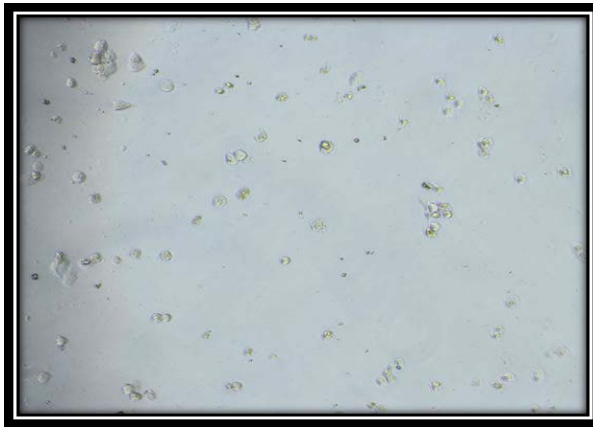
Elajik Asit + Dosetaksel Kombinasyonu (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) µM	%İnhibisyon
50+200	70.542
50+150	63.267
50+100	56.419
50+50	52.425

Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop görüntüleri ve MCF-7 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 33 - Şekil 37'de verilmiştir.

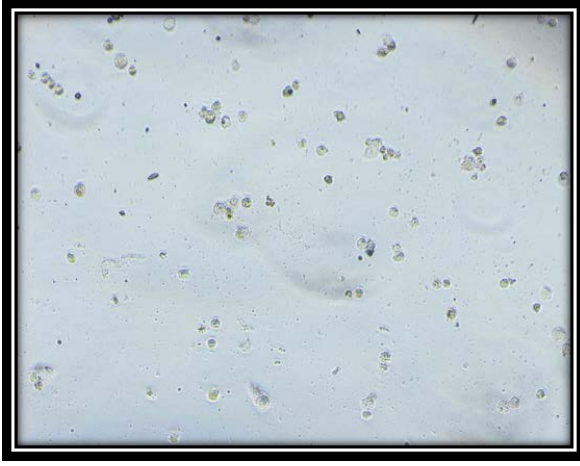
Elajik asit + Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının (50:50, 50:100, 50:150, 50:200 μM) MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerlerinin, tek başına uygulanan Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlarının (50, 100, 150, 200 μM) ve Elajik asidin farklı konsantrasyonlarının (50, 100, 150, 200 μM) % inhibisyon değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.



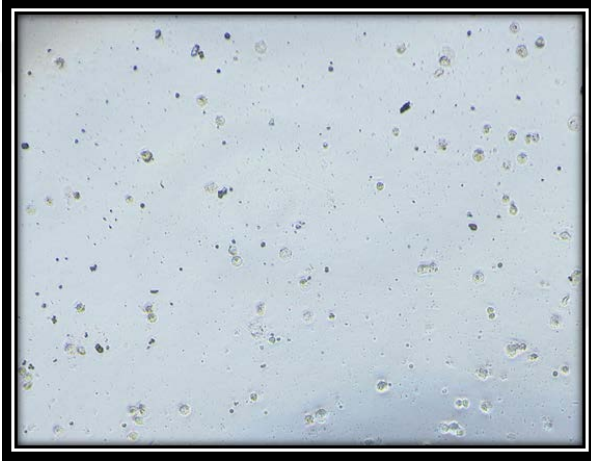
Şekil 33. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+50 μM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



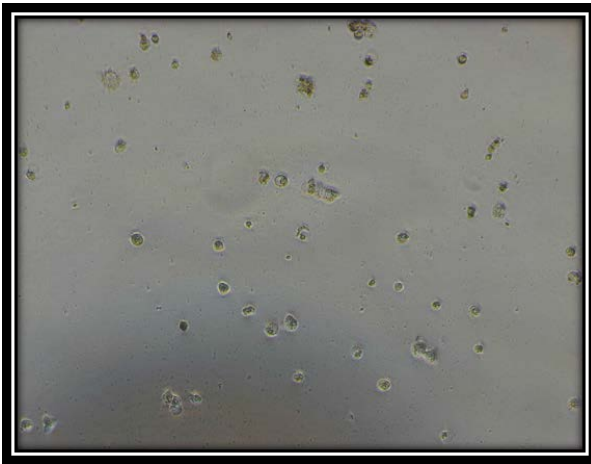
Şekil 34. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+100 μM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 35. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+150 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 36. MCF-7 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 50+200 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 37. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

MCF-7 insan meme kanser hücre hattında Elajik asit ve Mitoksantron'un kombinasyon konsantrasyonları için Elajik asidin en düşük konsantrasyonu (25 μ M), Mitoksantron'un ise farklı konsantrasyonları (0.0125, 0.025, 0.05, 1 μ M) kullanıldı.

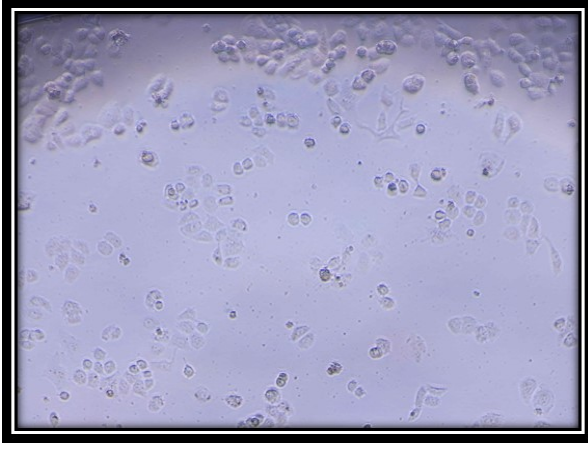
Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 29'da verilmiştir.

Tablo 29. MCF-7 hücre hattı üzerine Uygulanan Elajik Asit + Mitoksantron kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri

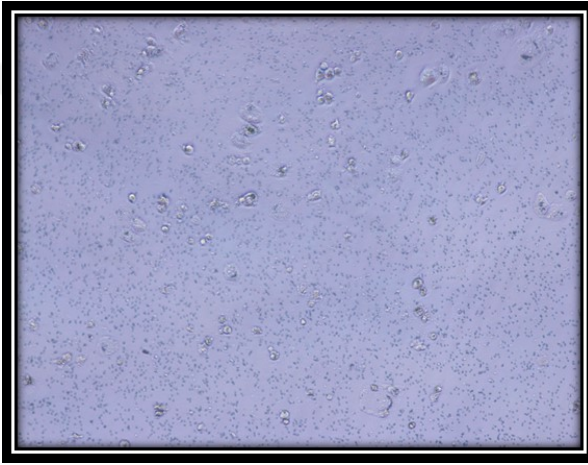
Elajik Asit + Mitoksantron Kombinasyonu (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) μ M	%İnhibisyon
50+1	60.606
50+0.05	40.798
50+0.025	42.537
50+0.0125	36.734

Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki % inhibisyon değerlerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak artmadığı farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop görüntüleri ve MCF-7 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 38 - Şekil 42'de verilmiştir.

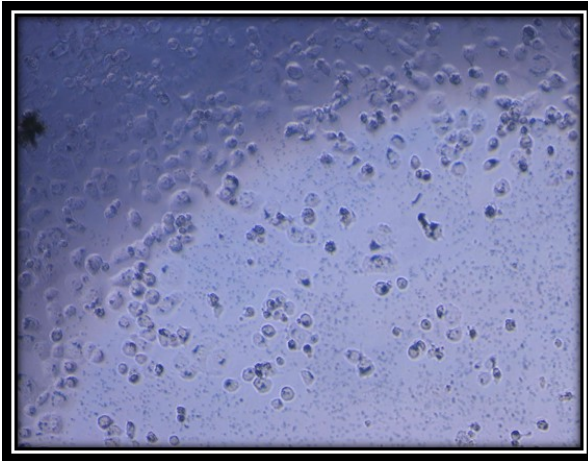
Elajik asit + Mitoksantron'un farklı kombinasyonlarının (50:0.0125, 50:0.025, 50:0.05, 50:1 μ M) MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerlerinin, tek başına uygulanan Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlarının (0.0125, 0.025, 0.05, 1 μ M) % inhibisyon değerlerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.



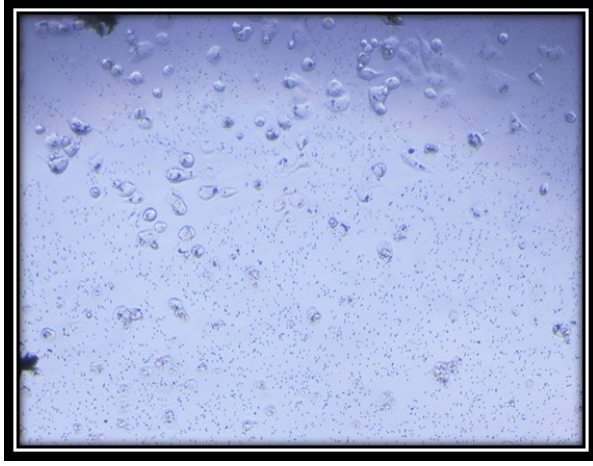
Şekil 38. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+0.0125 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



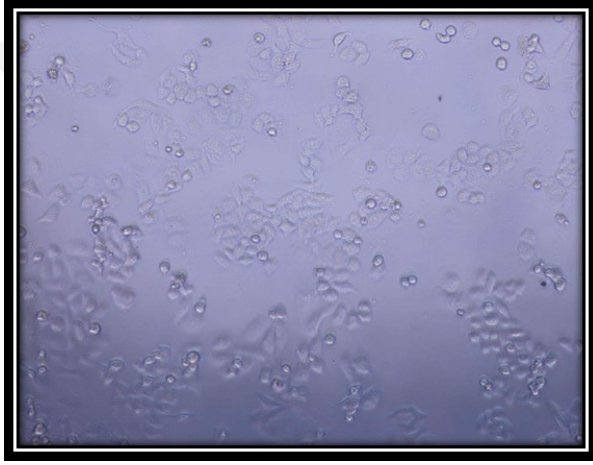
Şekil 39. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+0.025 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 40. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+0.05 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 41. MCF-7 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 50+1 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 42. MCF-7 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlarının (5-50 µM) A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 30'da verilmiştir.

Tablo 30. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Dosetaksel % inhibisyon değerleri

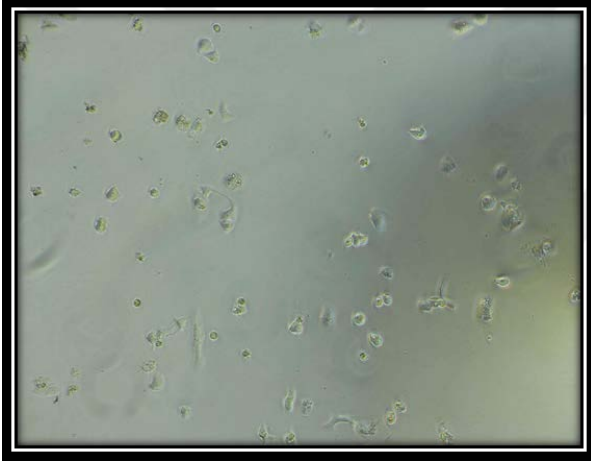
Dosetaksel (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) µM	%İnhibisyon
50	65.241
25	63.325
10	62.5
5	58.522

Dosetaksel'in A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki %inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop

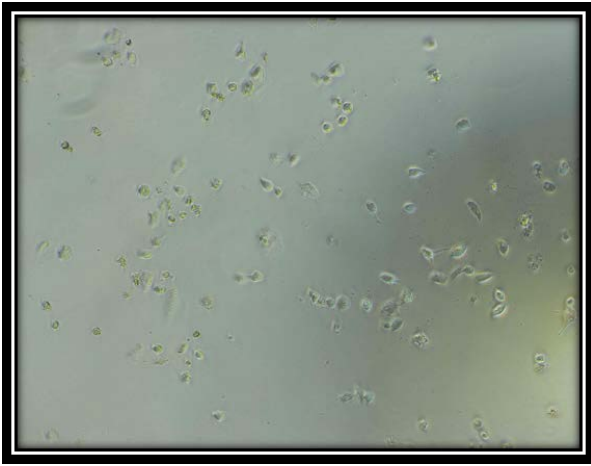
görüntüleri ve A549 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 43 – Şekil 47’de verilmiştir.



Şekil 43. A549 hücre hattında Dosetaksel’in 5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 44. A549 hücre hattında Dosetaksel’in 10 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 45. A549 hücre hattında Dosetaksel’in 25 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 46. A549 hücre hattında Doksetaksel'in 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 47. A549 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

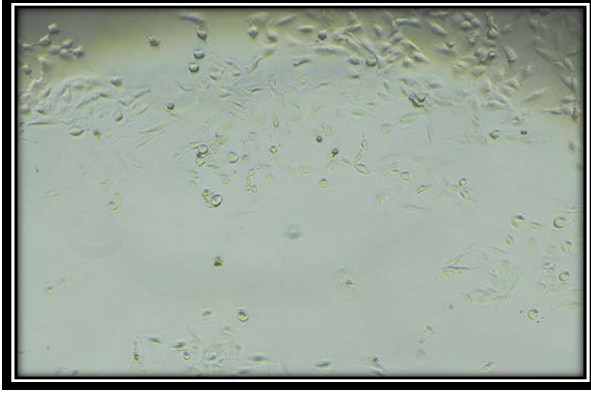
Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlarının (0.1-5 µM) A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 31'de verilmiştir.

Tablo 31. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Mitoksantron'un % inhibisyon değerleri
Mitoksantron (470 nm)

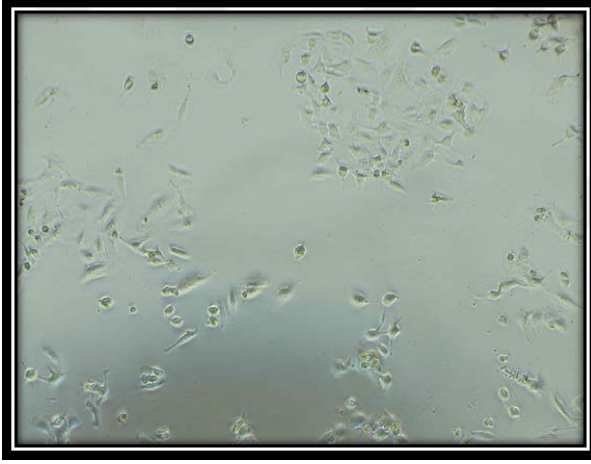
Doz (Konsantrasyon) µM	%İnhibisyon
5	56.266
1	53.040
0.5	45.181
0.1	41.882

Mitoksantron'un A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki %inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile

elde edilen mikroskop görüntüleri ve A549 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 48 – Şekil 52’de verilmiştir.



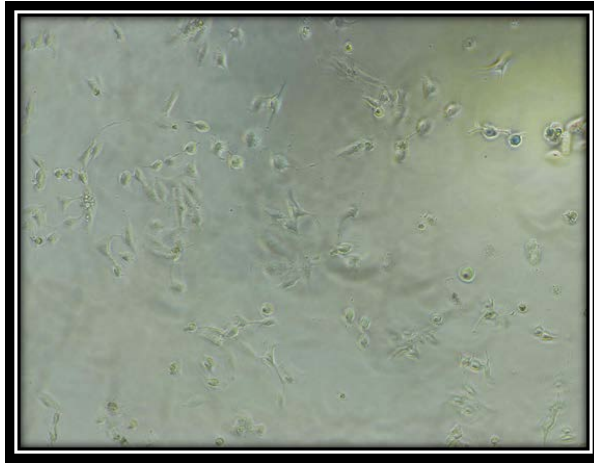
Şekil 48. A549 hücre hattında Mitoksantron’un 0.1 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



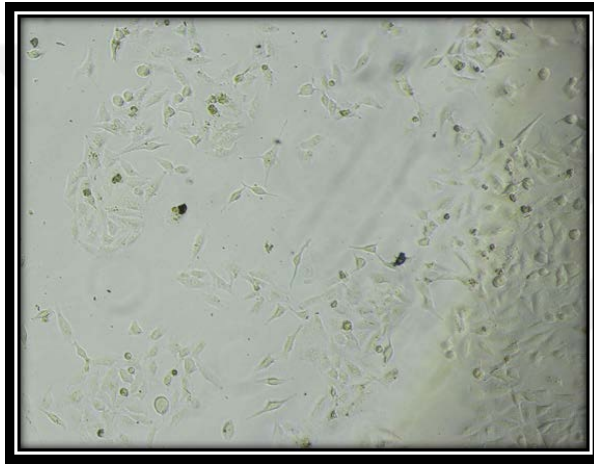
Şekil 49. A549 hücre hattında Mitoksantron’un 0.5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 50. A549 hücre hattında Mitoksantron’un 1 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 51. A549 hücre hattında Mitoksantron'un 5 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 52. A549 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

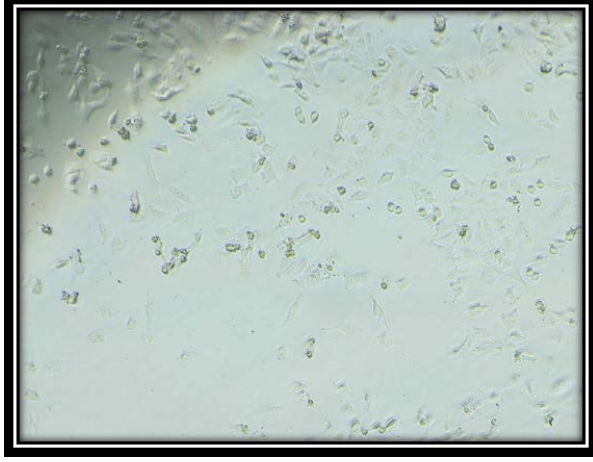
Elajik asidin farklı konsantrasyonlarının (25-200 µM) A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 32'de verilmiştir.

Tablo 32. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik Asidin % inhibisyon değerleri
Elajik Asit (470 nm)

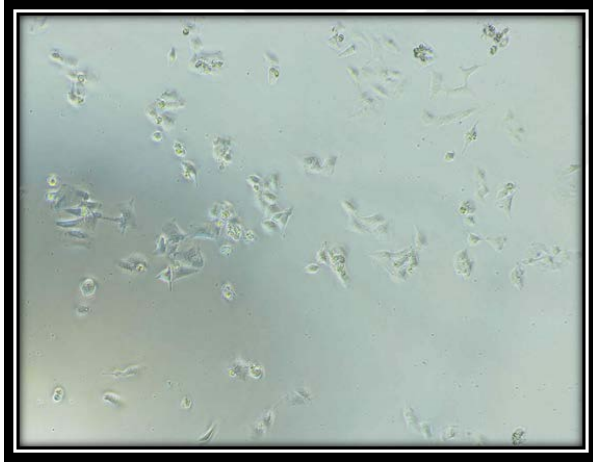
Doz (Konsantrasyon) µM	%İnhibisyon
200	65.863
150	61.408
100	60.757
50	48.363
25	43.838

Elajik asidin A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki %inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Elajik asidin farklı konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop

görüntüleri ve A549 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 53 – Şekil 58’de verilmiştir.



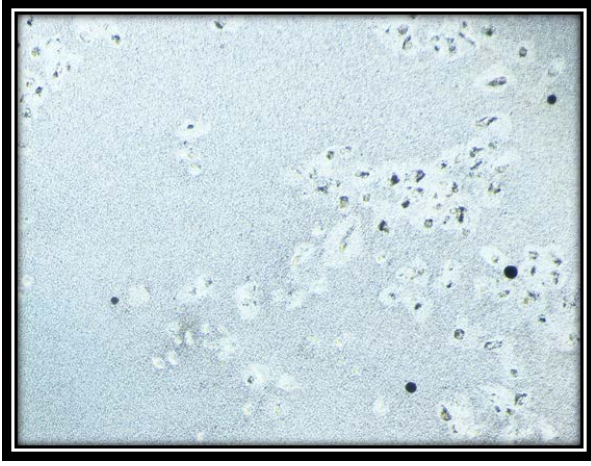
Şekil 53. A549 hücre hattında Elajik asidin 25 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



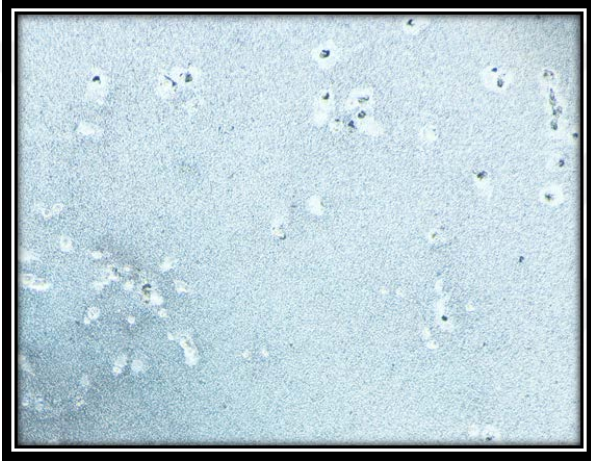
Şekil 54. A549 hücre hattında Elajik asidin 50 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 55. A549 hücre hattında Elajik asidin 100 µM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 56. A549 hücre hattında Elajik asidin 150 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 57. A549 hücre hattında Elajik asidin 200 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 58. A549 hücre hattının mikroskopik görüntüsü

A549 insan akciğer kanser hücre hattında Elajik asit ve Dosetaksel'in kombinasyon konsantrasyonları için Elajik asidin en düşük konsantrasyonu (25 μ M), Dosetaksel'in ise farklı konsantrasyonları (5, 10, 25, 50 μ M) kullanıldı.

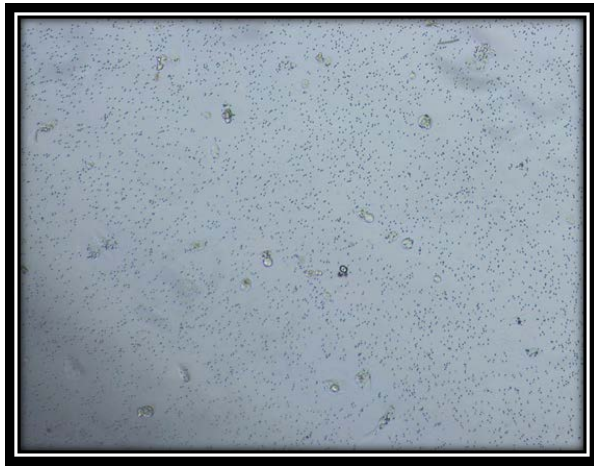
Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 33'te verilmiştir.

Tablo 33. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik Asit + Dosetaksel kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri

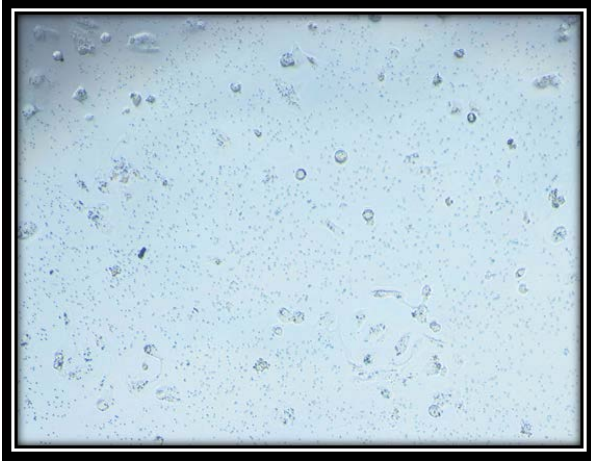
Elajik Asit + Dosetaksel Kombinasyonu (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) μ M	%İnhibisyon
25+50	55.984
25+25	50.621
25+10	65.179
25+5	45.427

Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki % inhibisyon değeri konsantrasyon artışına bağlı olarak artmadığını, farklılıklar gösterdiği tespit etmiştir. Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop görüntüleri ve A549 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 59 - Şekil 62'de verilmiştir.

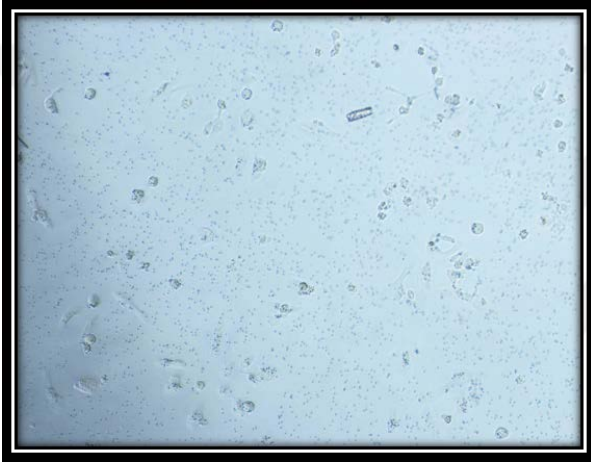
Elajik asit + Dosetaksel'in farklı kombinasyonlarının (25:5, 25:10, 25:25, 25:50 μ M) A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerlerinin, tek başına uygulanan Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlarının (5, 25, 50 μ M) % inhibisyon değerlerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.



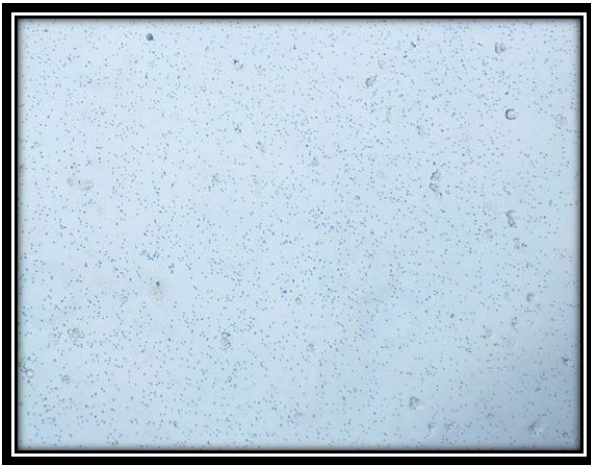
Şekil 59. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 60. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+10 μM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 61. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+25 μM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 62. A549 hücre hattında EA+DOC kombinasyonunun 25+50 μM konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü

A549 insan akciğer kanser hücre hattında Elajik asit ve Mitoksantron'un kombinasyon konsantrasyonları için Elajik asidin en düşük konsantrasyonu (25 μ M), Dosetaksel'in ise farklı konsantrasyonları (0.1, 0.5, 1. 5 μ M) kullanıldı.

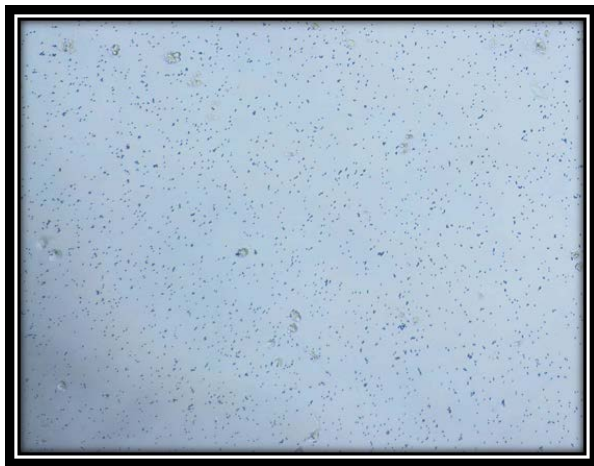
Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri Tablo 34'te verilmiştir.

Tablo 34. A549 hücre hattı üzerine uygulanan Elajik asit + Mitoksantron kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri

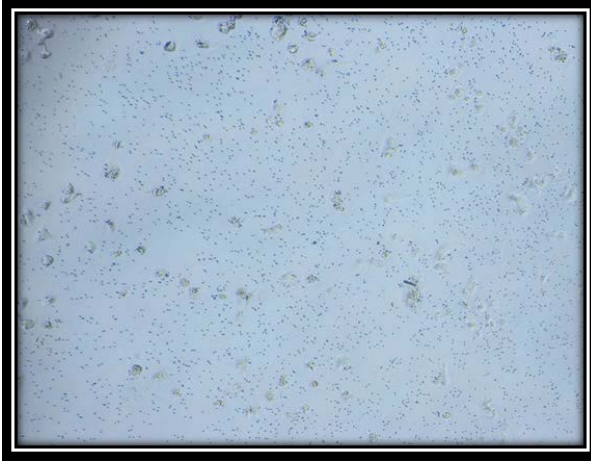
Elajik Asit + Mitoksantron Kombinasyonu (470 nm)	
Doz (Konsantrasyon) μ M	%İnhibisyon
25+5	69.819
25+1	66.414
25+0.5	61.007
25+0.1	61.561

Elajik asit + Mitoksantron'un farklı kombinasyonlarının (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerlerinin, tek başına uygulanan Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlarının (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) % inhibisyon değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

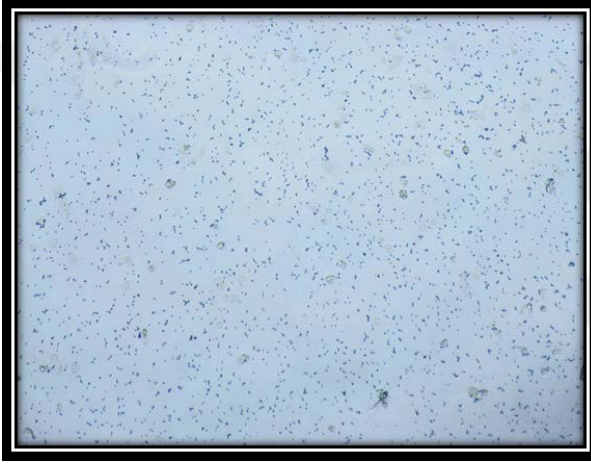
Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen mikroskop görüntüleri ve A549 kontrol hücresinin mikroskop görüntüleri Şekil 63 - Şekil 66'da verilmiştir.



Şekil 63. A549 hücre hattında EA+MIX kombinasyonunun 25+0.1 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 64. A549 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 25+0.5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 65. A549 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 25+1 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü



Şekil 66. A549 hücre hattında EA+MİX kombinasyonunun 25+5 μ M konsantrasyondaki mikroskopik görüntüsü

3.4. Compusyn Bulguları

Tez kapsamında, MCF-7 ve A549 insan kanser hücre hatlarında kombine edilen ilaçların en uygun konsantrasyonunun tespit edilmesi için öncelikle Elajik asidin Mitoksantron ve Dosetaksel ile farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının XTT testleri yapıldı. Daha sonra XTT testinde alınan absorbans ölçümleri uygun bir biçimde Compusyn programına girilerek kombinasyon indeks değeri hesaplandı.

MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hatlarında Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron ile kombinasyonlarının en etkin olduğu doz aralığını belirlemek için Ting-Chao Chou tarafından geliştirilmiş olan program CompuSyn programı (Chou, 2006) kullanıldı. Buna göre Tablo 35, Tablo 36, Tablo 37 ve Tablo 38’de MCF-7 ve A549 insan kanser hücre hatlarına uygulanan EA+DOC’in ve EA+MIX’in farklı konsantrasyonlarındaki kombinasyonlarının kombinasyon indeks (CI) değerleri verilmiştir.

Tablo 35. MCF-7 hücre hattında Elajik asit ve Dosetaksel’in farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri

EA+DOC	Absorbans (470 nm) $\pm$ SS	CI
Konsantrasyon (μ M)		
50+50	0.3495 $\pm$ 0.0165	1.556
50+100	0.3095 $\pm$ 0.0045	1.694
50+150	0.2605 $\pm$ 0.0035	1.341
50+200	0.2065 $\pm$ 0.0005	0.864

Tablo 36. MCF-7 hücre hattında Elajik asit ve Mitoksantron’un farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri

EA+MIX	Absorbans (470 nm) $\pm$ SS	CI
Konsantrasyon (μ M)		
50+0.0125	1.292 $\pm$ 0.005	28.2685
50+0.025	1.1735 $\pm$ 0.0955	16.6782
50+0.05	1.209 $\pm$ 0.084	46.6342
50+1	0.8045 $\pm$ 0.0085	15.9976

Tablo 37. A549 hücre hattında Elajik asit ve Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri

EA+MIX	Absorbans (470 nm) $\pm$ SS	CI
Konsantrasyon (μ M)		
25+0.1	0.844 $\pm$ 0.018	0.047
25+0.5	0.916 $\pm$ 0.024	0.106
25+1	0.789 $\pm$ 0.027	0.044
25+5	0.709 $\pm$ 0.021	0.043

Tablo 38. A549 hücre hattında Elajik asit ve Dosetaksel farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının CI değerleri

EA+DOC	Absorbans (470 nm) $\pm$ SS	CI
Konsantrasyon (μ M)		
25+5	1.282 $\pm$ 0.003	149.599
25+10	1.147 $\pm$ 0.063	38.6028
25+25	1.16 $\pm$ 0.016	116.898
25+50	1.034 $\pm$ 0.023	34.3096

Sinerjizm, bir ilacın başka bir ilaç ile kombine edildiğinde etkisinin artmasıdır. Başka bir ifadeyle sinerjizm; iki ilacın kombinasyonun uygulanması ile elde edilen etkinin ilaçların ayrı ayrı tek başına uygulanması ile elde edilen etkiden daha fazla bir etkiye sahip olması durumu olarak tanımlanabilir. İki ilacın kombinasyonun etkisinin, kombinasyonu oluşturan ilaçların tek başlarına uygulanmasıyla elde edilen etkiden az olması ise antagonistik etki olarak tanımlanır. Additif etki ise iki ilacın kombinasyonu ile elde edilen etkinin kombinasyonu oluşturan ilaçların tek başlarına gösterdikleri etkiye eşit olması durumu olarak tanımlanır (Le, 2014).

CompuSyn programından elde edilen CI değerlerine göre MCF-7 insan kanser hücre hattında Elajik asit ile Dosetaksel'in 50:200 μ M kombinasyonunun sinerjik etki gösterdiği saptanmıştır. Elajik asit ile Dosetaksel'in diğer konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının ise antagonistik etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bir diğer kombinasyonumuz olan Elajik asit Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlardaki

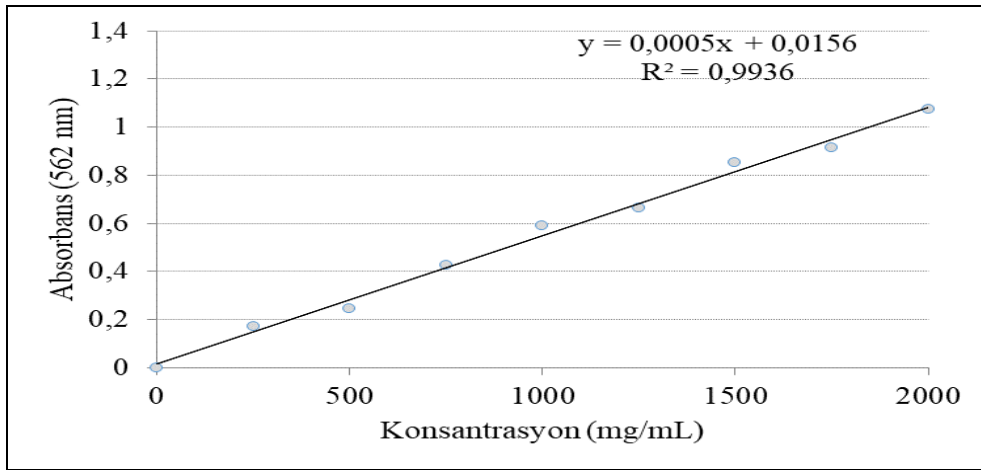
kombinasyonlarının sinerjik etki göstermediği antagonistik etki gösterdiği belirlenmiştir.

CompuSyn programına göre elde edilen CI değerlerine göre A549 insan kanser hücre hattında Elajik asit ile Mitoksantron'un uygulanan tüm kombinasyonlarda sinerjik etki gösterdiği sapntanmıştır. Fakat Elajik asit ile Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlardaki hiçbir kombinasyonu sinerjik etki göstermemiş olup aksine antagonistik etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

3.5. Bisinkoninik Asit (BCA) Testi ile Protein Tayini Bulguları

Toplam protein miktarının kolorimetrik olarak belirlenmesi ve nicelendirilmesi için bisinkoninik asit (BCA) yöntemi kullanılmıştır (Smith vd., 1985). Bir bakır iyonu ile iki BCA molekülünün şelatlanmasıyla yöntemin mor renkli reaksiyon ürünü oluşturulur. Suda çözünür olan mor renkli kompleks 562 nm'de geniş bir çalışma aralığında artan protein konsantrasyonları ile lineer olarak güçlü bir absorbans göstermektedir. Proteinin makromoleküler yapısının peptit bağlarının sayısı ve sistein, sistin, triptofan ve tirozin amino asitlerinin varlığı BCA ile renk oluşumundan sorumlu oldukları rapor edilmiştir. Buna göre, genellikle sığır serum albümini (BSA) gibi ortak bir proteinin standartlarına referans protein konsantrasyonları belirlenir ve raporlanır. Bilinen konsantrasyondaki proteinden bir dizi dilüsyon hazırlanarak bilinmeyen örnek konsantrasyonlarının standart eğriye göre belirlenmesi prensibinden faydalanılır.

Protein konsantrasyonları için kullanılan sığır serum albümini (BSA) farklı konsantrasyonlardaki absorbans değerleri sonuçları Tablo 39'da ve BSA standart eğri grafiği Şekil 67'de verilmiştir. Buna göre MCF-7 insan meme kanser hücre hattında Elajik asit ve Dosetaksel'in (50:200 μ M) kombinasyonunun protein konsantrasyonları, ve A549 insan akciğer kanser hücre hattında Elajik asit ve Mitoksantron'un (25:1 μ M) kombinasyonunun protein konsantrasyonları sığır serum albümin (BSA) standartları (1 mg/mL) ile çizilen standart grafiğinden elde edilen denkleme göre hesaplanarak sonuçları tablolar halinde Tablo 40'da verilmiştir.



Şekil 67. BSA standart grafiği

Tablo 39. Farklı konsantrasyonlardaki standart BSA absorbans değerleri

BSA Konsantrasyon (µg/mL)	Absorbans ± SS
2000	1.076 ± 0.017
1750	0.915 ± 0.01
1500	0.853 ± 0.008
1250	0.6634 ± 0.0034
1000	0.589 ± 0.011
750	0.4275 ± 0.0115
500	0.244 ± 0.0175
250	0.1695 ± 0.0055

Tablo 40. Protein Konsantrasyonları

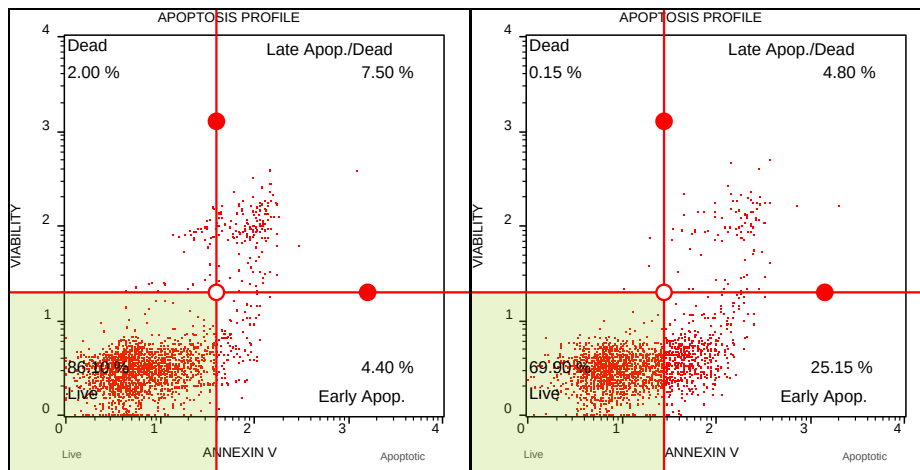
Örnek Adı	Absorbans (µg/mL) ± SS	Protein Konsantrasyonu (µg/mL)
MCF-7 Kontrol	1.3315 ± 0.0115	2631.80
EA+ DOC (50:200 µM) (MCF-7)	1.1650 ± 0.0080	2298.80
A549 Kontrol	1.6755 ± 0.0175	3319.80
EA+MİX (25:1 µM) (A549)	1.6430 ± 0.0040	3254.80

Tablo 40'da görüldüğü üzere Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonunun (50:200 μ M) MCF-7 insan meme kanser hücre hattına uygulanması ile elde edilen protein konsantrasyonunun, MCF-7 insan meme kanser hücresi kontrolünün protein konsantrasyonu ile yakın değerlere sahip olduğu görülmüştür.

Yine Tablo 40'da görüldüğü üzere Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonunun (25:1 μ M) A549 insan akciğer kanser hücre hattına uygulanması ile elde edilen protein konsantrasyonunun, A549 insan akciğer kanser hücresi kontrolünün protein konsantrasyonu ile hemen hemen aynı olduğu tespit edilmiştir.

3.6. Apoptoz Testi Bulguları

Annexin-V FITC-PI kiti, hücrelerde meydana gelebilecek apoptotik olayların belirlenmesi amacıyla kullanıldı. Hücrede apoptoza bağlı hücre zarının dış yüzeyine transloke olan fosfatidilserine annexin V boyası bağlanarak apoptotik hücreleri görünür hale getirirler. Annexin V boyasının nekrotik hücrelerde bağlanma olasılığı bulunduğu söz konusu hücrelerin ayırt edilebilmesi için ikinci boya olarak propidyum iyodür kullanılmaktadır. Sadece sızdıran nekrotik hücrelerin DNA'sını boyayan ve apoptotik ve nekrotik hücreler arasında bir ayrım yapmayı propidyum iyodür (PI) boyası sağlar. Kitte belirtilen talimatlar doğrultusunda hücreler Annexin V ve PI boylarıyla boyandı ve flow (akım) sitometresiyle hücrelerin hangi oranda apoptoza gittiği tespit edildi. Çalışmamızda erken ve geç apoptotik evrelerdeki hücreleri belirlemek için uygulama gruplarından elde edilen hücre materyallerine, Annexin V FITC testi uygulanmıştır. Flow sitometrede elde edilen veriler karşılaştırılmıştır.

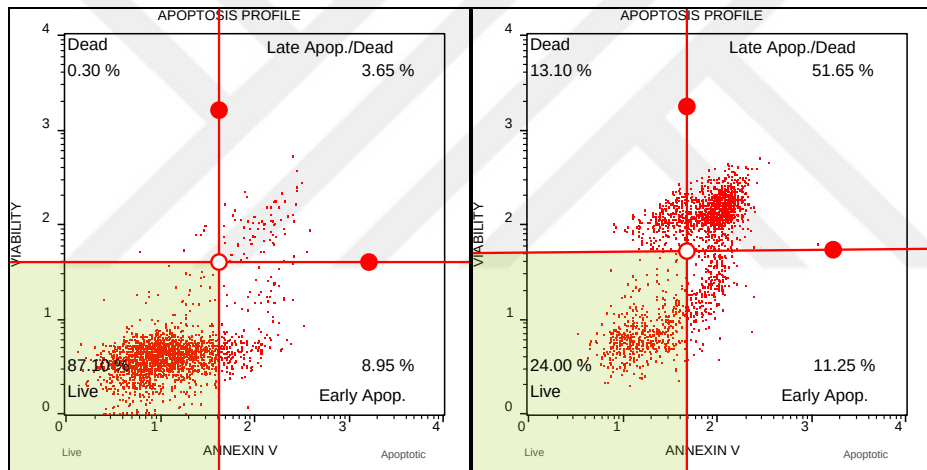


Şekil 68. MCF-7 kontrol hücresi ve EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonunun apoptoz değerleri

Tablo 41. MCF-7 kanser hücresi ve EA+DOC (50:200 μ M) apoptotik değerleri

	MCF-7 Kontrol	EA+DOC (50:200 μ M)
Canlı Hücre (%)	86.10	69.90
Erken Apoptoz (%)	4.40	25.15
Geç Apoptoz (%)	7.5	4.8
Hücre apoptozu (%)	2	0.15

Tablo 41’de görüldüğü üzere EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki apoptoz oranları verilmiştir. Bu sonuçlara göre EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresindeki canlı hücre, erken apoptoz, geç apoptoz ve hücre apoptoz yüzdeleri sırasıyla 69.90, 25.15, 4.8 ve 0.15 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 69. A549 kontrol hücresi ve EA+MIX (25:1 μ M) kombinasyonunun apoptoz değerleri

Tablo 42. A549 kanser hücresi ve EA+MIX (25:1 μ M) apoptotik değerleri

	A549 Kontrol	EA+MIX (25:1 μ M)
Canlı Hücre (%)	87.10	24
Erken Apoptoz (%)	8.95	11.25
Geç Apoptoz (%)	3.65	51.65
Hücre apoptozu (%)	0.30	13.10

Tablo 42’de ise EA+MIX (25:1 μ M) kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hatlarındaki apoptotik oranları verilmiştir. Bu sonuçlara göre EA+MIX

(25:1 μM) kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücresindeki canlı hücre, erken apoptoz, geç apoptoz ve hücre apoptoz yüzdeleri sırasıyla 24, 11.25, 51.65 ve 13.10 olarak tespit edilmiştir.

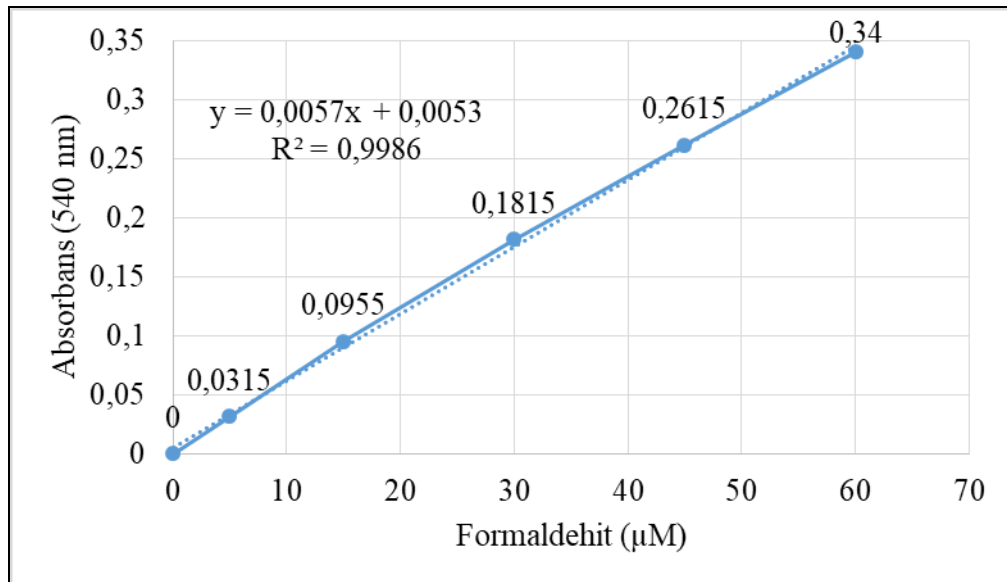
Yukarıdaki apoptoz sonuçları MCF-7 kontrol hücresine kıyasla Elajik asit ve Dosetaksel'in (50:200 μM) kombinasyonunun canlılık oranını azalttığını göstermektedir. Aynı şekilde A549 kontrol hücresinin apoptoz sonuçlarına kıyasla Elajik asit ve Mitoksantron'un (25:1 μM) kombinasyonunun canlılık oranını azalttığı gözlemlenmiştir.

3.7. Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları

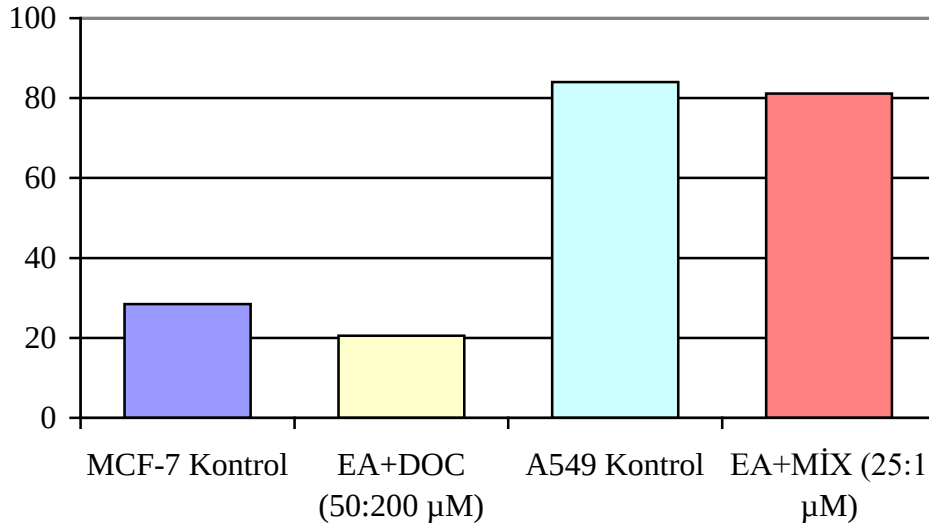
3.7.1. Katalaz Enzim (KAT) Aktivitesi Bulguları

Katalaz aktivitesini hesaplamak için formaldehit standart eğri grafiği elde edilmiştir (Şekil 70). Çizilen formaldehit standart eğri grafiğine göre Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μM) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki 24 saatlik uygulamasının katalaz aktivitesi hesaplanmıştır. Katalaz aktivitesi hesaplanan diğer bir kanser hücresi olan A549 insan akciğer kanser hücre hattında Elajik asit + Mitoksantron (25:1 μM) kombinasyonunun 24 saat uygulanması ile katalaz aktivitesi hesaplanmıştır (Şekil 71 ve Tablo 43).

Formaldehit standardı için belirtilen konsantrasyonların ölçümü yapılarak standart eğri grafiği elde edilmiştir.



Şekil 70. Formaldehit standart grafiği



Şekil 71. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 µM)ve A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 µM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen katalaz (KAT) aktivitesi (nmol/dk/mL) sütun grafiği

Tablo 43. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 µM)ve A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 µM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan katalaz (KAT) aktivitesi (nmol/dak/mL) sonuçları

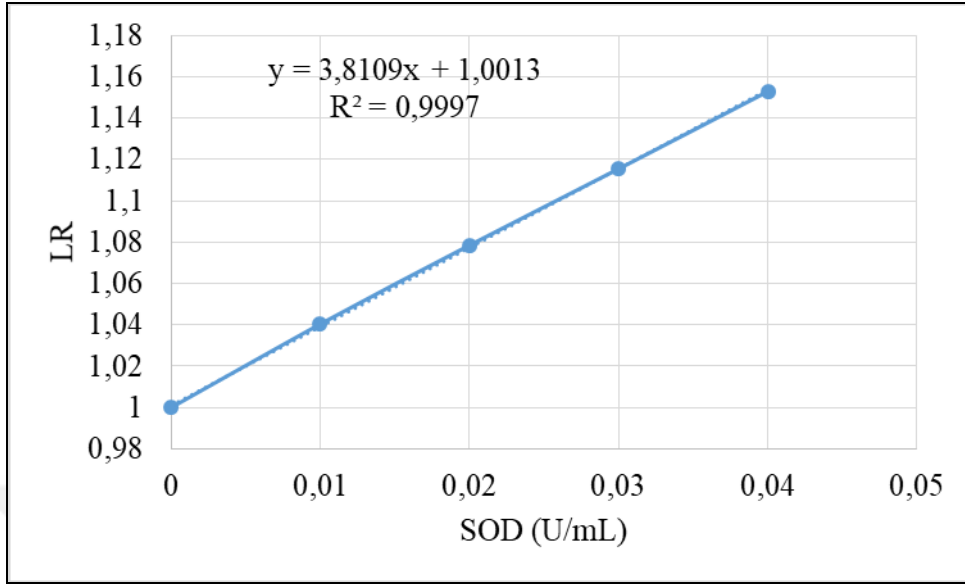
Gruplar	KAT Aktivite (nmol/dak/mL)
MCF-7 Kontrol	28.423
EA+DOC (50:200 µM)	20.557
A549 Kontrol	84.041
EA+MİX (25:1 µM)	81.138

Elde edilen sonuçlarla spesifik enzim aktiviteleri hesaplandığında ise MCF-7 kontrol değeri 0.0107 EU/mg, EA+DOC (50:200 µM) 0.00894 EU/mg, A549 kontrol 0.0253 EU/mg, MİX+EA (1:25 µM) 0.0249 EU/mg olarak bulunmuştur.

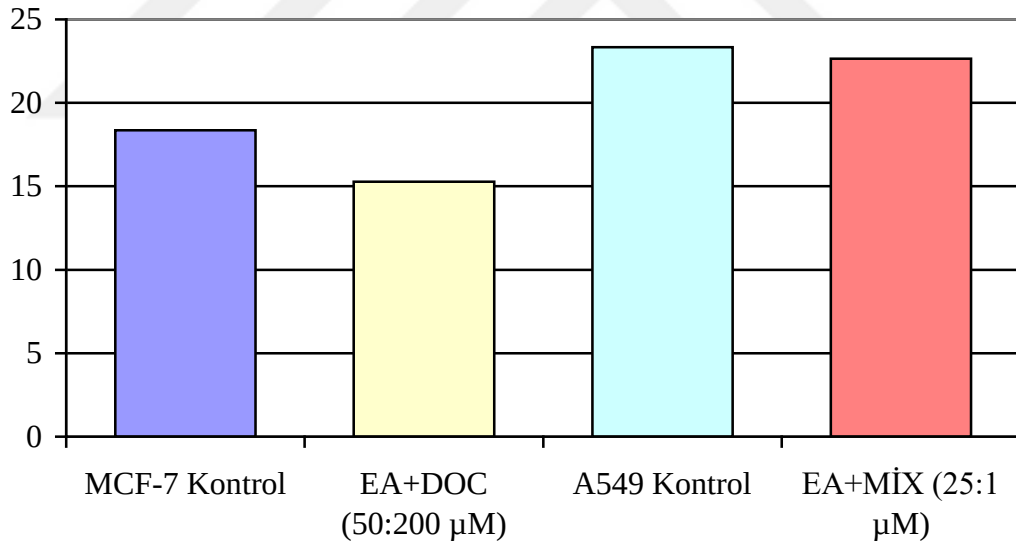
3.7.2. Süperoksit Dismutaz Enzim (SOD) Aktivitesi Bulguları

Süperoksit dismutaz için stok çözeltiden, belirtilen dilisyonların absorbanslarının LR değerleri hesaplanarak süperoksit dismutaz standart eğri grafiği elde edilmiştir (Şekil 72). Elde edilen süperoksit dismutaz standart eğri grafiğine göre Elajik asit + Dosetaksel (50:200 µM) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki 24 saatlik uygulamasının süperoksit dismutaz aktivitesi hesaplanmıştır. Süperoksit dismutaz aktivitesi hesaplanan diğer bir kanser hücresi olan A549 insan akciğer kanser

hücre hattında Elajik asit + Mitoksantron (25:1 μM) kombinasyonunun 24 saat uygulanması ile süperoksit dismutaz aktivitesi hesaplanmıştır (Şekil 73 ve Tablo 44).



Şekil 72. Süperoksit dismutaz standart grafiği



Şekil 73. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μM) ve A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 μM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi sütun grafiği

Tablo 44. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μM); A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 μM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan SOD aktivitesi (U/mL) sonuçları

Gruplar	SOD Aktivite (U/mL)
MCF-7 Kontrol	18.335

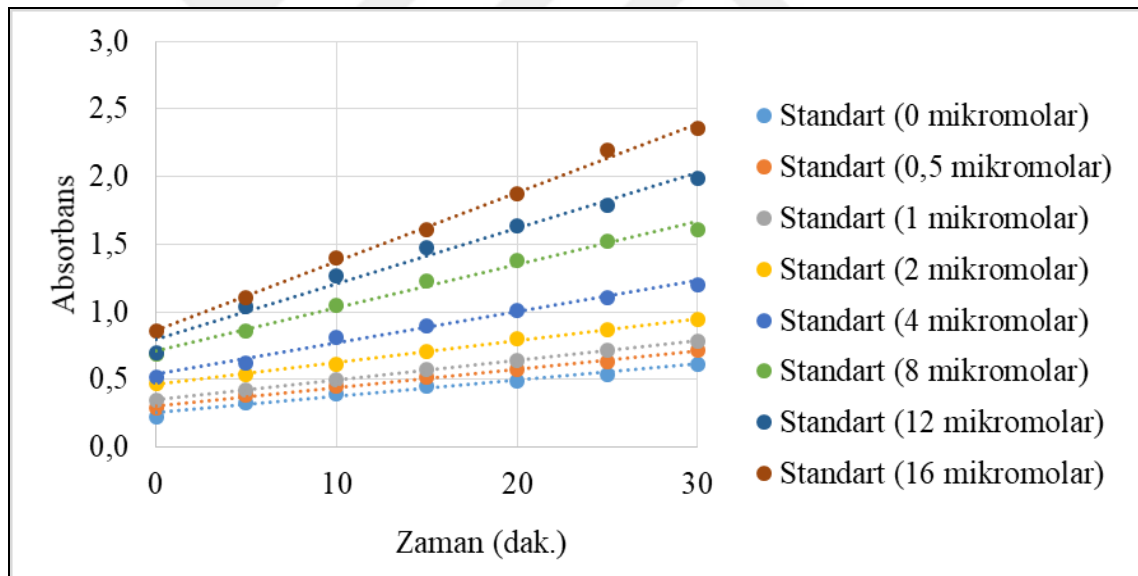
Tablo 44. (Devamı)

Gruplar	SOD Aktivite (U/mL)
EA+DOC (50:200 μ M)	15.270
A549 Kontrol	23.326
EA+MI $\ddot{X}$ (25:1 μ M)	22.648

Elde edilen sonuçlarla spesifik enzim aktiviteleri hesaplandığında ise MCF-7 kontrol değeri 6.966 EU/mg, EA+DOC (200:50 μ M) 6.642 EU/mg, A549 kontrol 7.026 EU/mg, EA+MI $\ddot{X}$ (25:1 μ M) 6.958 EU/mg olarak bulunmuştur.

3.7.3. Glutasyon Redüktaz Enzim (GR) Aktivitesi Bulguları

Glutasyon redüktaz aktivitesini hesaplamak için GSH standartlarının ve numunelerin zamana karşı absorbansları ölçülerek grafiği çizildi. Çizilen grafikten her standart ve numune için i-eğim değerleri bulundu. GSH standartlarına karşı i-eğim grafiği çizilerek numunelerin glutasyon redüktaz aktiviteleri hesaplandı.



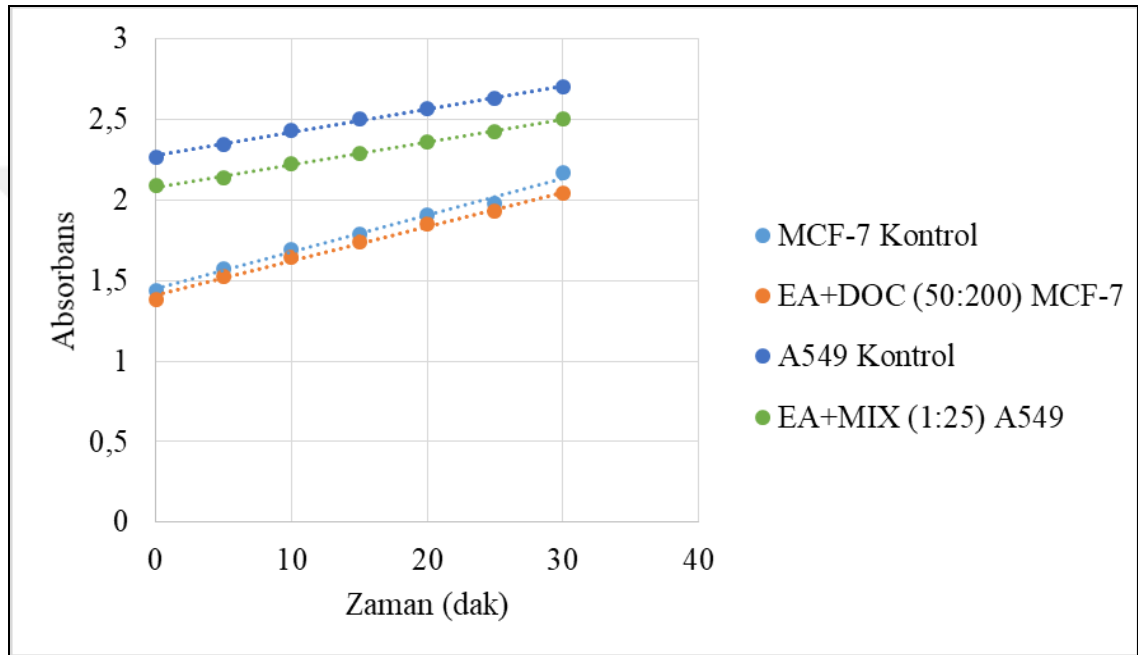
Şekil 74. Farklı konsantrasyonlarda (0-16 μ M) GSH standardı kullanılarak çizilen absorbans zaman grafiği

Tablo 45. GSH standardı konsantrasyonlarına (0-16 μ M) karşılık hesaplanan i-eğim değerleri

Standart Konsantrasyon (μ M)	i-Slope
0	0.0121
0.5	0.0136
1	0.0146

Tablo 45. (Devamı)

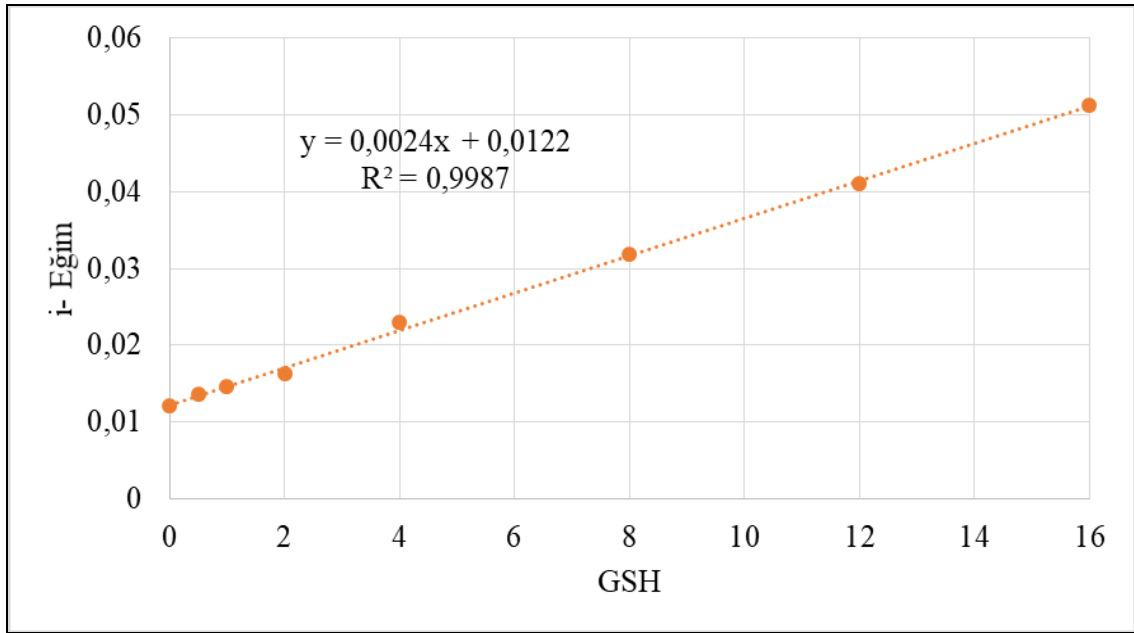
Standart Konsantrasyon (μM)	i-Slope
2	0.0163
4	0.0230
8	0.0318
12	0.0410
16	0.0512



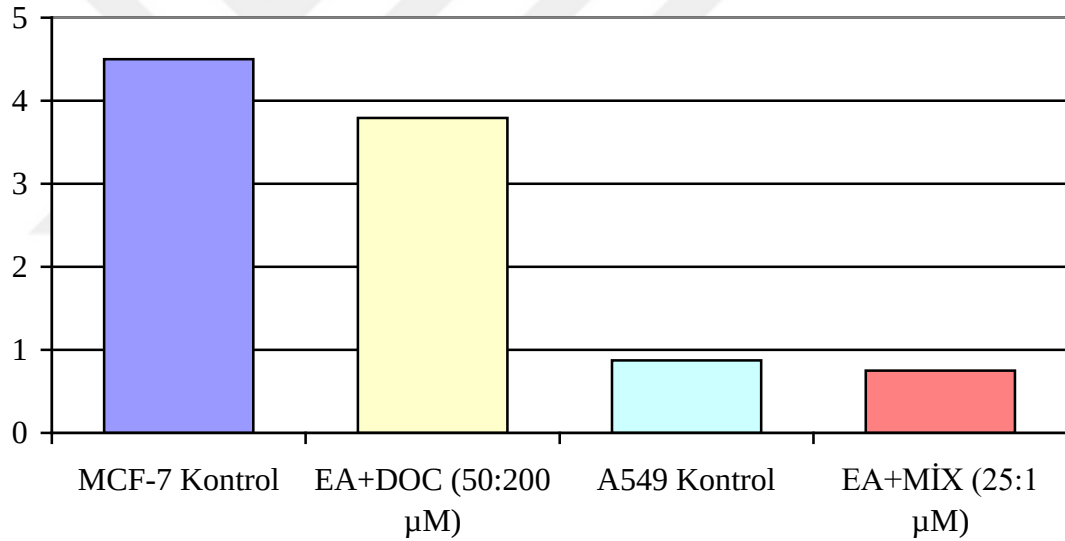
Şekil 75. GR aktivitesini belirlemek amacıyla kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA + DOC (50:200 μM); A549 insan akciğer kanseri; EA + MİX (25:1 μM)) için çizilen absorbans zaman grafiği

Tablo 46. Numunelerin i-eğim değerleri

Gruplar	i-eğim
MCF-7 Kontrol	0.0230
EA+DOC (50:200 μM)	0.0213
A549 Kontrol	0.0143
EA+MİX (25:1 μM)	0.0140



Şekil 76. GR enzim aktivitesini belirlemek amacıyla çizilen i-Eğim GSH grafiği



Şekil 77. GR aktivitesini belirlemek amacıyla kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 µM); A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 µM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen GSH konsantrasyonu (µM) sütun grafiği

Tablo 47. GR aktivitesini belirlemek amacıyla kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 µM); A549 insan akciğer kanseri; EA+MİX (25:1 µM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan GSH konsantrasyonu (µM) sonuçları

Gruplar	GSH Konsantrasyonu (µM)
MCF-7 Kontrol	4.500
EA+DOC (50:200 µM)	3.792

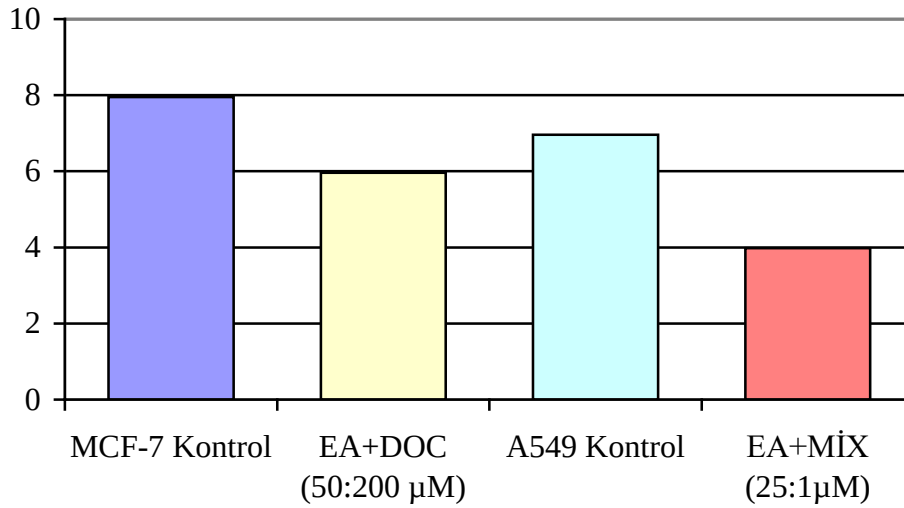
Tablo 47. (Devamı)

Gruplar	GSH Konsantrasyonu (μM)
A549 Kontrol	0.875
EA+MİX (25:1 μM)	0,750

Elde edilen sonuçların miligram protein başına GSH konsantrasyonları hesaplandığında ise MCF-7 kontrol değeri 1.709 $\mu\text{M}/\text{mg}$, EA+DOC (50:200 μM) değeri 1.649 $\mu\text{M}/\text{mg}$, A549 kontrol değeri 0.263 $\mu\text{M}/\text{mg}$ ve EA+MİX (1:25 μM) değeri ise 0.225 $\mu\text{M}/\text{mg}$ olarak bulunmuştur.

3.7.4. Glutasyon S-Transferaz Enzim (GST) Aktivitesi Bulguları

Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μM) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki 24 saatlik uygulamasının glutasyon S-transferaz aktivitesi hesaplanmıştır. Glutasyon S-transferaz aktivitesi hesaplanan diğer bir kanser hücresi olan A549 insan akciğer kanser hücre hattında Elajik asit + Mitoksantron (25:1 μM) kombinasyonunun 24 saat uygulanması ile glutasyon S-transferaz aktivitesi hesaplanmıştır (Şekil 78 ve Tablo 48).



Şekil 78. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μM); A549 insan akciğer kanseri; EA+ MİX (25:1 μM)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu çizilen Glutasyon S-transferaz aktivitesi (nmol/dak/mL) sütun grafiği

Tablo 48. Kombinasyonların (MCF-7 insan meme kanseri; EA+DOC (50:200 μ M); A549 insan akciğer kanseri; EA+ MİX (25:1 μ M)) hücre hatları üzerine uygulanması sonucu hesaplanan Glutasyon S-transferaz aktivitesi (nmol/dak/mL) sonuçları

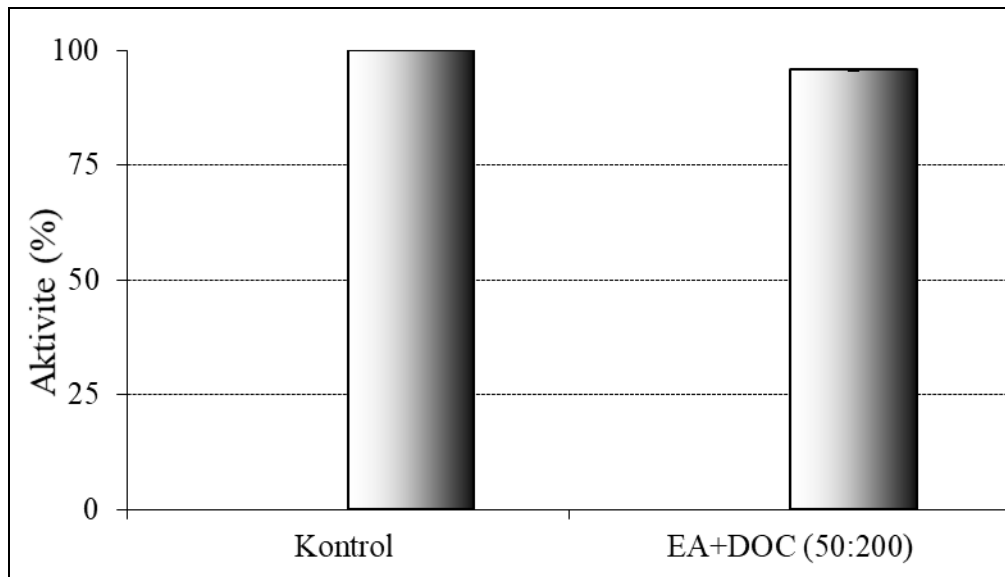
Gruplar	Glutasyon (nmol/dak/mL)	S-Transferaz	Aktivite
MCF-7 Kontrol	7.952		
EA+DOC (50:200 μ M)	5.964		
A549 Kontrol	6.958		
EA+ MİX (25:1 μ M)	3.976		

Elde edilen sonuçlarla spesifik enzim aktiviteleri hesaplandığında ise MCF-7 kontrol değeri 0.00302 EU/mg, EA+DOC (50:200 μ M) 0.00259 EU/mg, A549 kontrol 0.00209 EU/mg, EA+MİX (25:1 μ M) 0.00122 EU/mg olarak bulunmuştur.

3.8. Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesi Bulguları

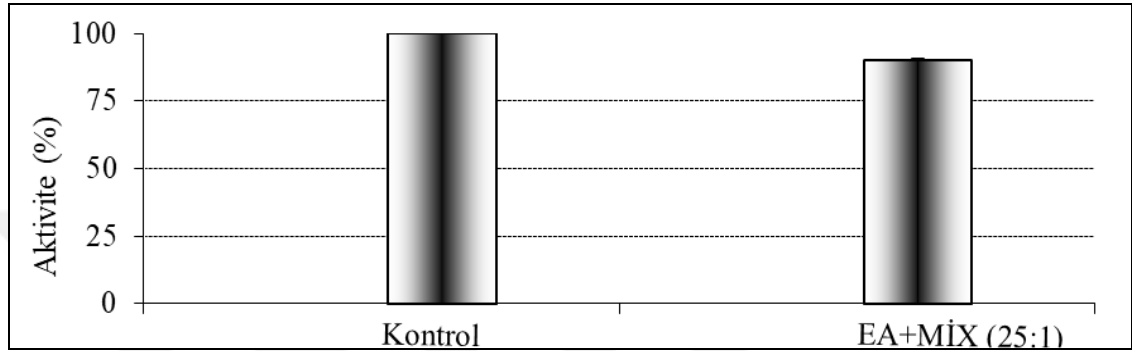
3.8.1. Kombinasyonların (MCF7; EA+DOC (50:200 μ M) ve A549; EA+MİX(25:1 μ M)) Hücre Hatlarına Uygulanması Sonrası Hücrelerden Alınan Proteinlerde Karbonik Anhidraz (CA) Enzim Aktivitesi Ölçüm Sonuçları

Elajik asit ve Dosetaksel'in kombinasyonunun (50:200 μ M) MCF-7 insan meme kanser hücresine uygulandıktan 24 saat sonra elde edilen proteinlerdeki karbonik anhidraz enzim aktivitesi esteraz aktivitesi yöntemiyle ölçülmüş yüzde inhibisyonları hesaplanarak Şekil 79'da verilmiştir.



Şekil 79. MCF-7 insan meme kanser hücresine Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonu (50:200 μ M) uygulaması sonucu 24 saat sonunda alınan protein örneği için hesaplanan % spesifik aktivite grafiği

MCF-7 insan meme kanser hücresi üzerine Elajik asit ve Dosetaksel ilaç kombinasyonunun (50:200 μM) uygulanması sonucu ve ilaç uygulaması yapılmayan kontrol hücresinden alınan protein örneklerinde kontrol aktivitesi % 100 olarak kabul edilerek ilaç kombinasyonu aktivitesi absorbans değerlerine göre hesaplanmış mevcut spesifik enzim aktivitesi % 95.843 ± 0.168 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak 24 saat sonunda alınan ilaç kombinasyonu uygulanan hücreden alınan protein örneğinde enzim aktivitesinin % 4.157 oranında düştüğü gözlemlenmiştir.



Şekil 80. A549 insan akciğer kanser hücresine Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonu (25:1 μM) uygulaması sonucu 24 saat sonunda alınan protein örneği için hesaplanan % spesifik aktivite grafiği

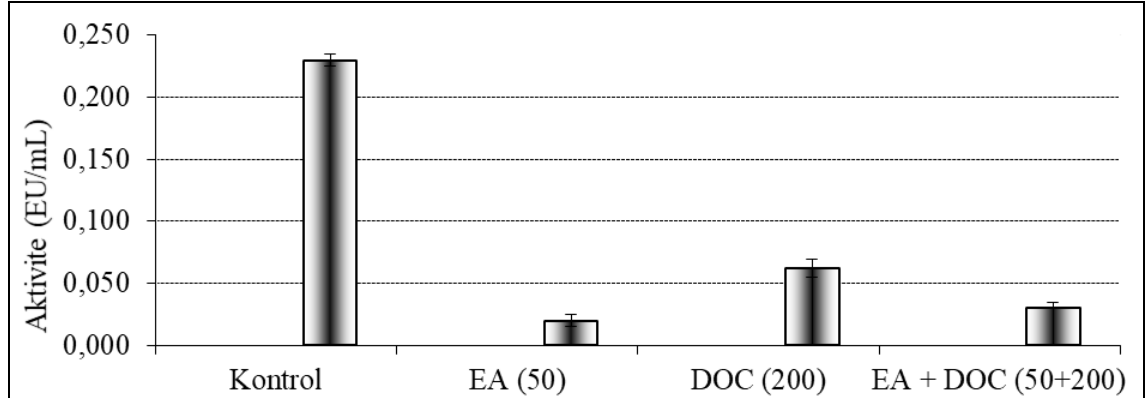
A549 insan akciğer kanser hücresi üzerine Elajik asit ve Mitoksantron ilaç kombinasyonunun (25+1 μM) uygulanması sonucu ve ilaç uygulaması yapılmayan kontrol hücresinden alınan protein örneklerinde kontrol aktivitesi % 100 olarak kabul edilerek ilaç kombinasyonu aktivitesi absorbans değerlerine göre hesaplanmış mevcut spesifik enzim aktivitesi % 90.307 ± 0.669 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak 24 saat sonunda alınan ilaç kombinasyonu uygulanan hücreden alınan protein örneğinde enzim aktivitesinin % 9.693 oranında düştüğü gözlemlenmiştir.

3.8.2. Elajik asit, Kemoterapi İlaçları ve Kombinasyonların Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (hCAI, II ve IX) Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi

hCAI:

MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde uygulanan madde, kemoterapi ilacı ve kombinasyon konsantrasyonları hazırlanarak esteraz aktivitesi yöntemi ile hCAI enzimi üzerindeki etkileri belirlendi. 348 nm de 3 dakika boyunca ölçülen absorbans değerlerinden her bir maddenin enzim aktivitesi değerleri EU/mL olarak hesaplandı. Sonuçlar çubuk grafik (Şekil 81) ve tablo (Tablo 49) olarak verildi. Daha sonra Elajik asit (50 μM), Dosetaksel (200 μM) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μM)

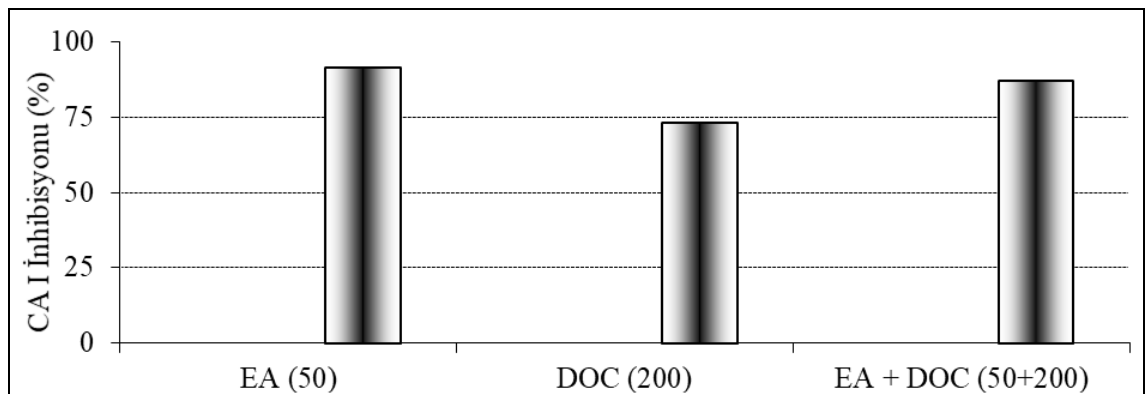
maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri % inhibisyon değerleri hesaplanarak belirlendi (Şekil 82 ve Tablo 50).



Şekil 81. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) grafiği

Tablo 49. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) ve standart sapma değerleri

	CAI aktivitesi (EU /mL)	Standart sapma
Kontrol (hCAI)	0.230	0.005
EA (50 μ M)	0.020	0.005
DOC (200 μ M)	0.062	0.007
EA + DOC (50:200 μ M)	0.030	0.005



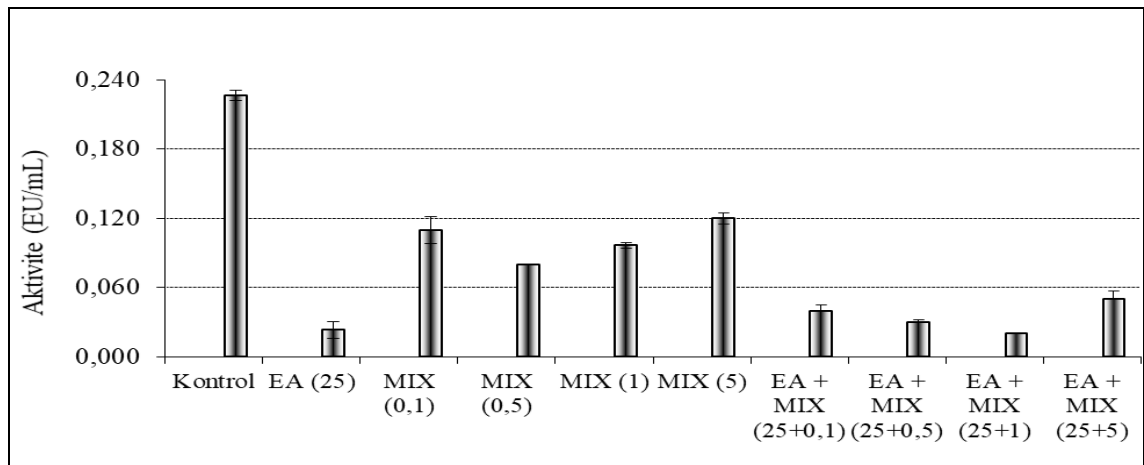
Şekil 82. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit ve Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği

Tablo 50. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksiel (200 μ M) ve Elajik asit +Dosetaksiel (50:200 μ M) maddelerinin hCAI enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)

Maddeler	hCAI İnhibisyon Değerleri(%)
EA (50 μ M)	91.304
DOC (200 μ M)	73.188
EA + DOC (50:200 μ M)	86.957

Tablo 49’da verilen enzim aktivitesi değerlerinden hesaplanan Tablo 50’de verilen inhibisyon sonuçlarına göre Elajik asit + Dosetaksiel (50:200 μ M) kombinasyonunun inhibisyon değeri Dosetaksiel (200 μ M) kemoterapi ilacına göre daha fazla olduğu en etkin inhibisyon değerinin (% 86.957) olduğu gözlemlendi.

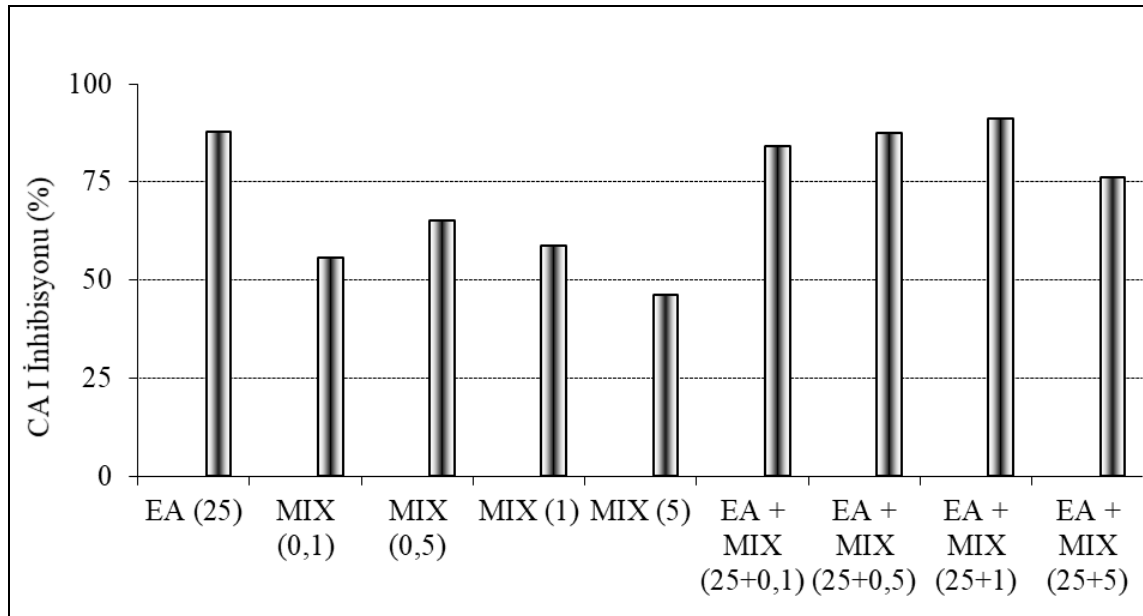
Ayrıca A549 insan akciğer kanseri hücre hattı üzerinde uygulanan madde, kemoterapi ilacı ve kombinasyon konsantrasyonları hazırlanarak esteraz aktivitesi yöntemi ile hCAI enzimi üzerindeki etkileride belirlendi. 348 nm’de 3 dakika boyunca ölçülen absorbans değerlerinden her bir maddenin enzim aktivitesi değerleri EU/mL olarak hesaplandı sonuçlar çubuk grafik (Şekil 83) ve tablo (Tablo 51) olarak verildi. Daha sonra Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri % inhibisyon değerleri hesaplanarak belirlendi (Şekil 84 ve Tablo 52).



Şekil 83. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA I enzim aktivite (EU/mL) grafiği

Tablo 51. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA I enzim aktivite (EU/mL) ve standart sapma değerleri

	hCAI aktivitesi (EU /mL)	Standart sapma
Kontrol (hCAI)	0.227	0.005
EA (25 μ M)	0.023	0.007
MİX (0.1 μ M)	0.110	0.012
MİX (0.5 μ M)	0.080	0.000
MİX (1 μ M)	0.097	0.002
MİX (5 μ M)	0.120	0.005
EA + MİX (25:0.1 μ M)	0.040	0.005
EA + MİX (25:0.5 μ M)	0.030	0.002
EA + MİX (25:1 μ M)	0.020	0.000
EA + MİX (25:5 μ M)	0.050	0.007



Şekil 84. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit ve Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği

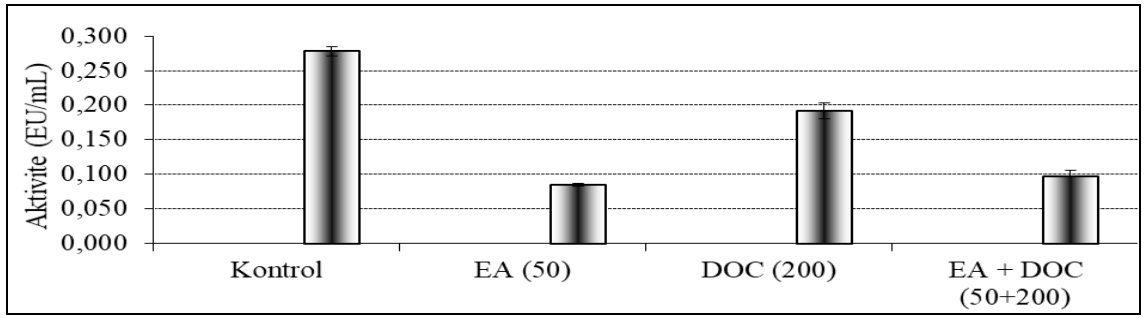
Tablo 52. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA I enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)

hCA I İnhibisyonu (%)		
EA (25 μ M)	MİX (0.1 μ M)	EA + MİX (25:0.1 μ M)
87.681	55.797	84.058
EA (25 μ M)	MİX (0.5 μ M)	EA + MİX (25:0.5 μ M)
87.681	65.217	87.391
EA (25 μ M)	MİX (1 μ M)	EA + MİX (25:1 μ M)
87.681	58.696	91.304
EA (25 μ M)	MİX (5 μ M)	EA + MİX (25:5 μ M)
87.681	46.377	76.087

Tablo 51’de verilen enzim aktivitesi değerlerinden hesaplanan Tablo 52’de verilen inhibisyon sonuçlarına göre Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) kombinasyonların hem Elajik asit hem Mitoksantron inhibisyon değerinin üzerine çıkan en etkin inhibisyon değerini (% 91.304) veren Elajik asit + Mitoksantron kombinasyon konsantrasyonunun (25:1 μ M) olduğu gözlemlendi.

hCAII:

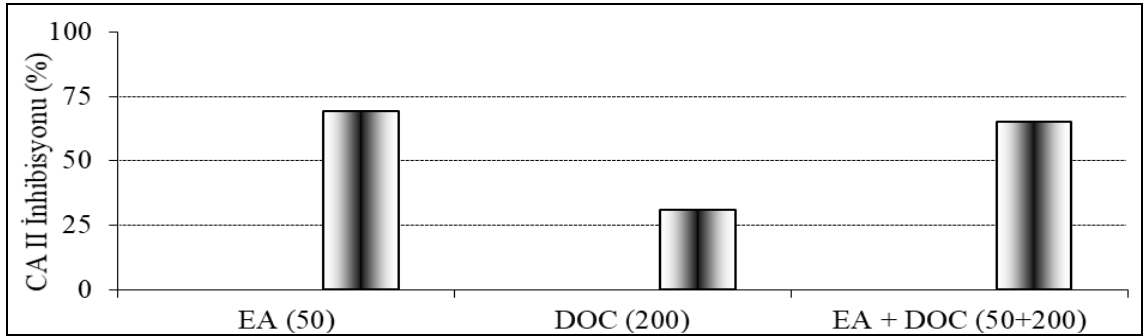
MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı üzerinde uygulanan madde, kemoterapi ilacı ve kombinasyon konsantrasyonları hazırlanarak esteraz aktivitesi yöntemi ile hCAII enzimi üzerindeki etkileri belirlendi. 348 nm’de 3 dakika boyunca ölçülen absorbans değerlerinden her bir maddenin enzim aktivitesi değerleri EU/mL olarak hesaplandı sonuçlar çubuk grafik (Şekil 85) ve tablo (Tablo 53) olarak verildi. Daha sonra Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri % inhibisyon değerleri hesaplanarak belirlendi (Şekil 86 ve Tablo 54).



Şekil 85. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50+200 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) grafiği

Tablo 53. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAII enzim aktivitesi (EU/mL) ve standart sapma değerleri

	hCAII aktivitesi (EU /mL)	Standart sapma
Kontrol (hCAII)	0.278	0.007
EA (50 μ M)	0.085	0.002
DOC (200 μ M)	0.192	0.012
EA + DOC (50:200 μ M)	0.097	0.009



Şekil 86. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit ve Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği

Tablo 54. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCAII enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)

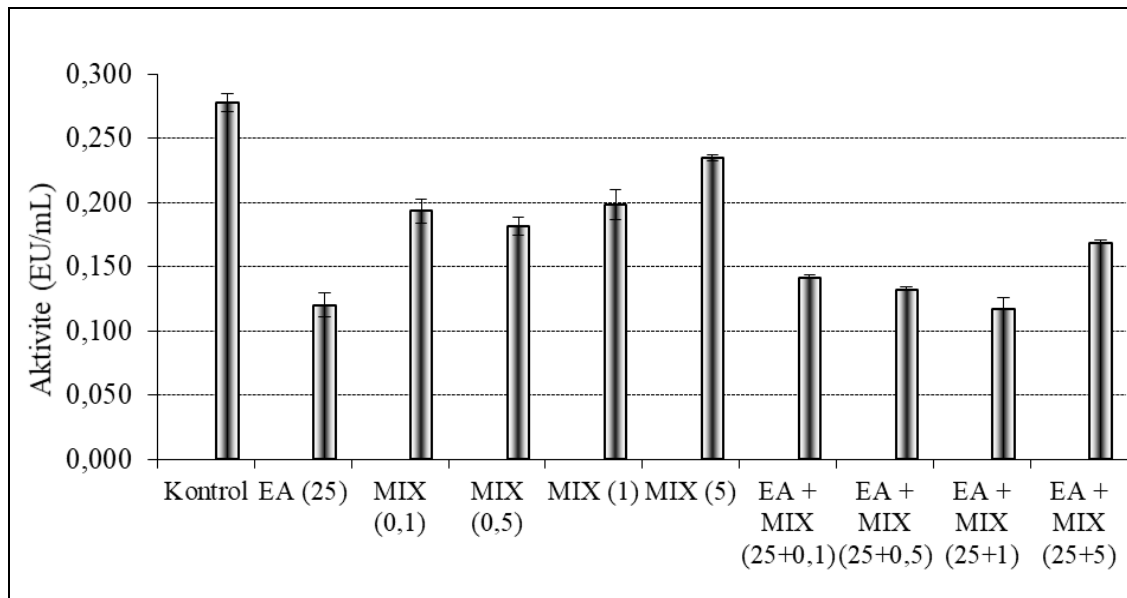
Maddeler	hCAII İnhibisyon Değerleri (%)
EA (50 μ M)	69.461

Tablo 54. (Devamı)

Maddeler	hCAII İnhibisyon Değerleri (%)
DOC (200 μ M)	31.138
EA + DOC (50:200 μ M)	65.269

Tablo 53'te verilen enzim aktivitesi değerlerinden hesaplanan Tablo 54'te verilen inhibisyon sonuçlarına göre Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) kombinasyonunun inhibisyon değeri Dosetaksel (200 μ M) kemoterapi ilacına göre daha fazla olduğu en etkin inhibisyon değerinin (% 65.269) olduğu gözlemlendi.

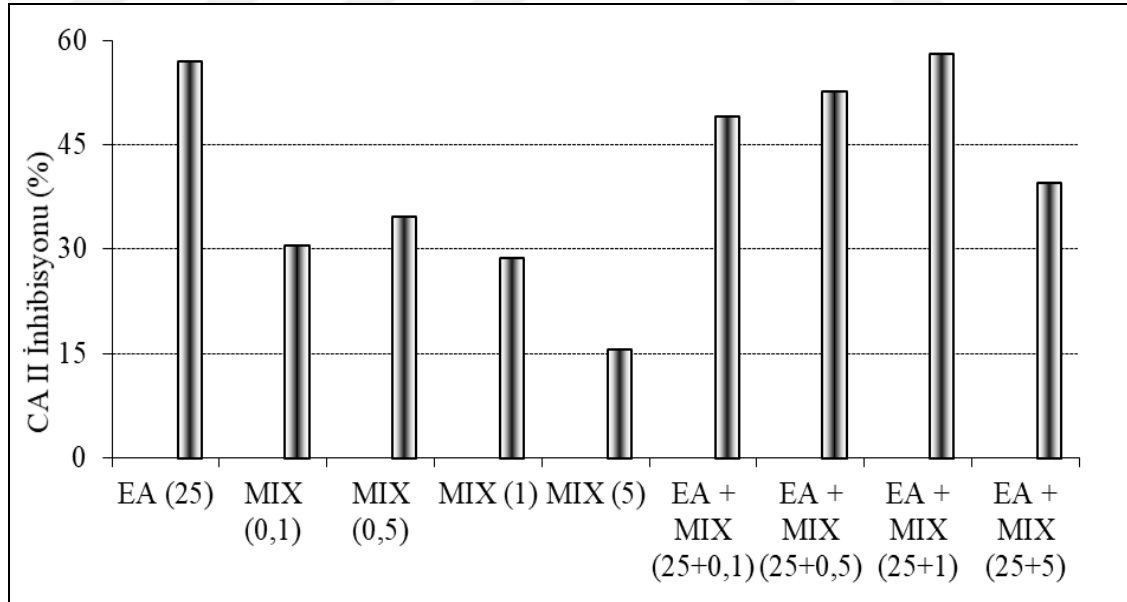
A549 insan akciğer kanseri hücre hattı üzerinde uygulanan madde, kemoterapi ilacı ve kombinasyon konsantrasyonları hazırlanarak esteraz aktivitesi yöntemi ile hCAII enzimi üzerindeki etkileri belirlendi. 348 nm'de 3 dakika boyunca ölçülen absorbans değerlerinden her bir maddenin enzim aktivitesi değerleri EU/mL olarak hesaplandı sonuçlar çubuk grafik (Şekil 87) ve tablo (Tablo 55) olarak verildi. Daha sonra Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri % inhibisyon değerleri hesaplanarak belirlendi (Şekil 88 ve Tablo 56).



Şekil 87. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA II enzim aktivite (EU/mL) grafiği

Tablo 55. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA II enzim aktivite (EU/mL) ve standart sapma değerleri

	CAII aktivitesi (EU /mL)	Standart sapma
Kontrol (hCAII)	0.278	0.007
EA (25 μ M)	0.120	0.009
MİX (0.1 μ M)	0.193	0.009
MİX (0.5 μ M)	0.182	0.007
MİX (1 μ M)	0.198	0.012
MİX (5 μ M)	0.235	0.002
EA + MİX (25+0.1 μ M)	0.142	0.002
EA + MİX (25+0.5 μ M)	0.132	0.002
EA + MİX (25+1 μ M)	0.117	0.009
EA + MİX (25+5 μ M)	0.168	0.002



Şekil 88. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit ve Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği

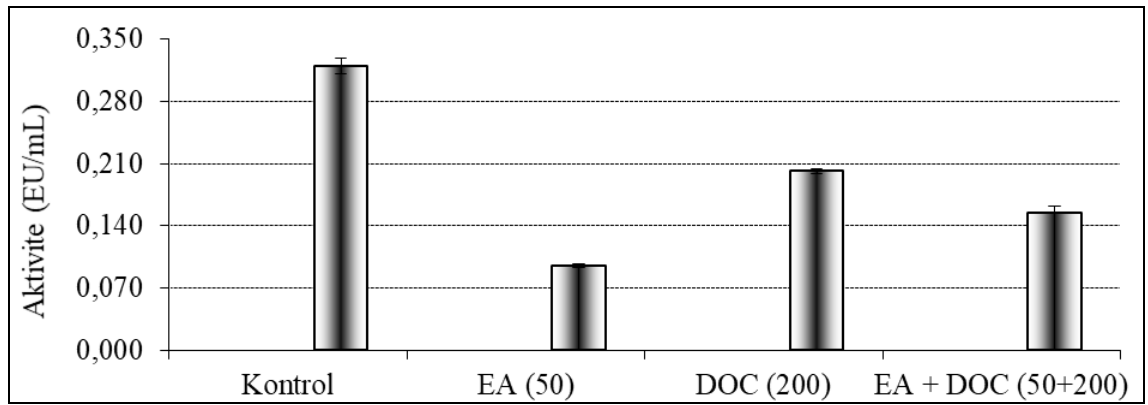
Tablo 56. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA II enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)

hCA II İnhibisyonu (%)		
EA (25 μ M)	MİX (0.1 μ M)	EA + MİX (25:0.1 μ M)
56.886	30.539	49.102
EA (25 μ M)	MİX (0.5 μ M)	EA + MİX (25:0.5 μ M)
56.886	34.731	52.695
EA (25 μ M)	MİX (1 μ M)	EA + MİX (25:1 μ M)
56.886	28.743	58.084
EA (25 μ M)	MİX (5 μ M)	EA + MİX (25:5 μ M)
56.886	15.569	39.521

Tablo 55'te verilen enzim aktivitesi değerlerinden hesaplanan Tablo 56'da verilen inhibisyon sonuçlarına göre Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) kombinasyonların hem Elajik asit hem Mitoksantron inhibisyon değerinin üzerine çıkan en etkin inhibisyon değerini (% 58.084) veren Elajik asit + Mitoksantron kombinasyon konsantrasyonunun (25+1 μ M) olduğu gözlemlendi.

hCAIX

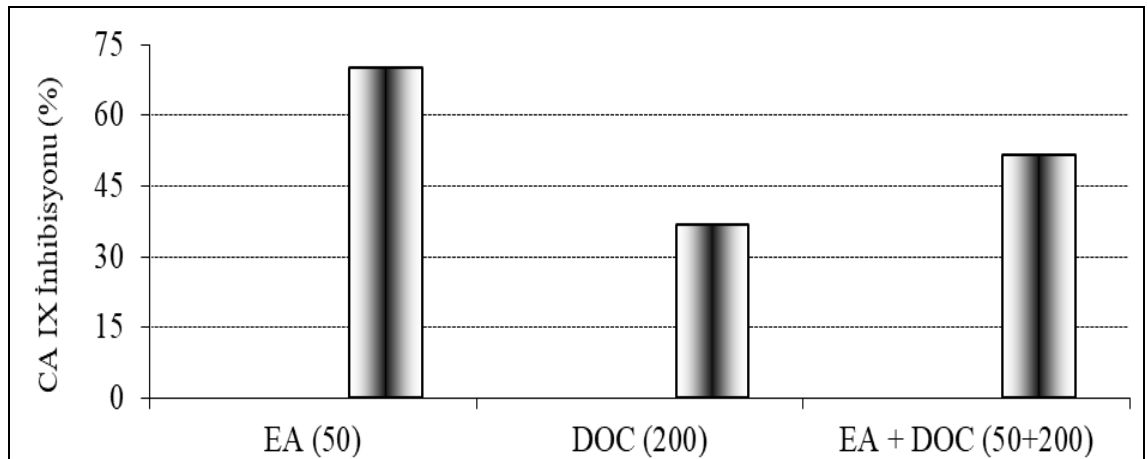
MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı üzerinde uygulanan madde, kemoterapi ilacı ve kombinasyon konsantrasyonları hazırlanarak esteraz aktivitesi yöntemi ile CAIX enzimi üzerindeki etkileri belirlendi. 348 nm'de 3 dakika boyunca ölçülen absorbans değerlerinden her bir maddenin enzim aktivitesi değerleri EU/mL olarak hesaplandı sonuçlar çubuk grafik (Şekil 89) ve tablo (Tablo 57) olarak verildi. Daha sonra Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri % inhibisyon değerleri hesaplanarak belirlendi (Şekil 90 ve Tablo 58).



Şekil 89. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA IX enzim aktivitesi (EU/mL) grafiği

Tablo 57. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCAI enzim aktivitesi (EU/mL) ve standart sapma değerleri

	CAIX aktivitesi (EU /mL)	Standart sapma
Kontrol (CA IX)	0.320	0.009
EA (50 μ M)	0.095	0.002
DOC (200 μ M)	0.202	0.002
EA + DOC (50:200 μ M)	0.155	0.007



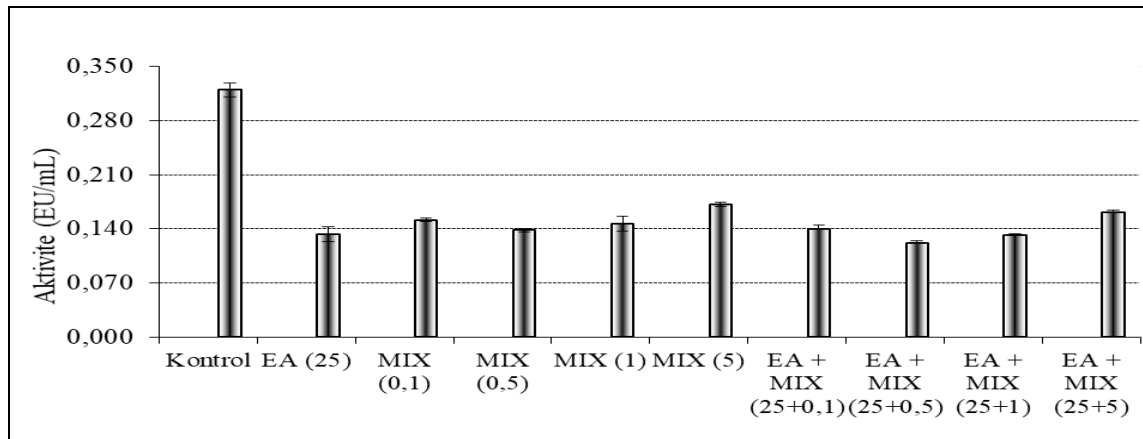
Şekil 90. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit ve Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği

Tablo 58. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) maddelerinin hCA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)

Maddeler	CA IX İnhibisyon Değerleri (%)
EA (50 μ M)	70.313
DOC (200 μ M)	36.979
EA + DOC (50:200 μ M)	51.563

Tablo 57’de verilen enzim aktivitesi değerlerinden hesaplanan Tablo 58’de verilen inhibisyon sonuçlarına göre Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) kombinasyonunun inhibisyon değeri Dosetaksel (200 μ M) kemoterapi ilacına göre daha fazla olduğu en etkin inhibisyon değerinin (% 51.563) olduğu gözlemlendi.

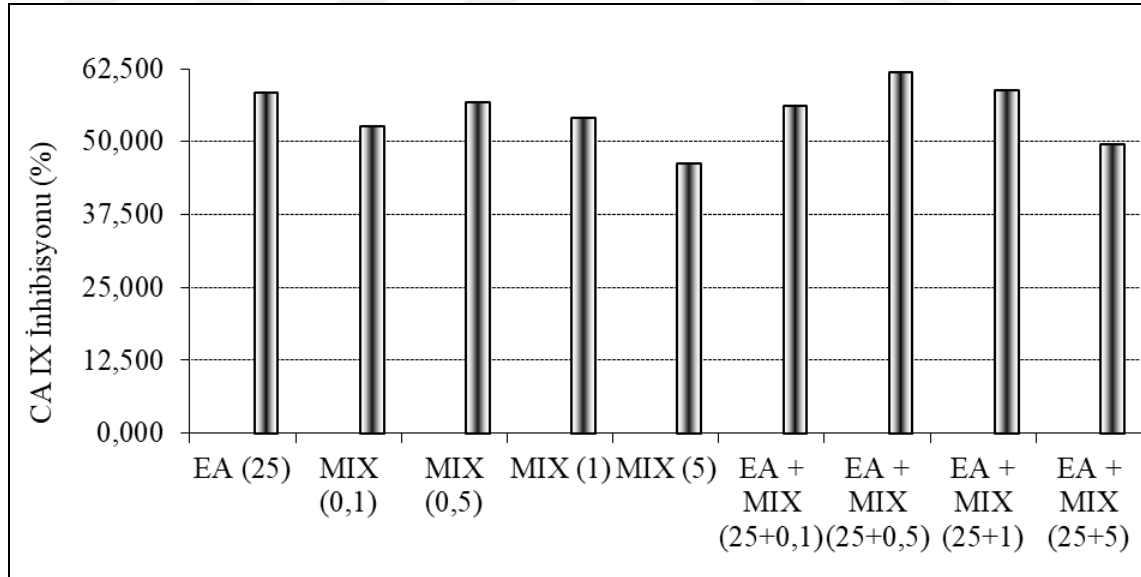
Ayrıca A549 insan akciğer kanseri hücre hattı üzerinde uygulanan madde, kemoterapi ilacı ve kombinasyon konsantrasyonları hazırlanarak esteraz aktivitesi yöntemi ile CAIX enzimi üzerindeki etkileri belirlendi. 348 nm’de 3 dakika boyunca ölçülen absorbans değerlerinden her bir maddenin enzim aktivitesi değerleri EU/mL olarak hesaplandı sonuçlar çubuk grafik (Şekil 91) ve tablo (Tablo 59) olarak verildi. Daha sonra Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri % inhibisyon değerleri hesaplanarak belirlendi (Şekil 92 ve Tablo 60).



Şekil 91. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan CA IX enzim aktivite (EU/mL) grafiği

Tablo 59. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin hCA IX enzimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hesaplanan hCA IX enzim aktivite (EU/mL) ve standart sapma değerleri

	CAIX aktivitesi (EU /mL)	Standart sapma
Kontrol (hCAIX)	0.320	0.009
EA (25 μ M)	0.133	0.009
MİX (0.1 μ M)	0.152	0.002
MİX (0.5 μ M)	0.138	0.002
MİX (1 μ M)	0.147	0.009
MİX (5 μ M)	0.172	0.002
EA + MİX (25:0.1 μ M)	0.140	0.005
EA + MİX (25:0.5 μ M)	0.122	0.002
EA + MİX (25:1 μ M)	0.132	0.002
EA + MİX (25:5 μ M)	0.162	0.002



Şekil 92. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit ve Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin CA IX enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla çizilen inhibisyon (%) grafiği

Tablo 60. Belirli konsantrasyonlardaki Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) maddelerinin CAIX enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla hesaplanan inhibisyon değerleri (%)

hCAIX İnhibisyonu (%)		
EA (25 μ M)	MİX (0.1 μ M)	EA + MİX (25:0.1 μ M)
58.333	52.604	56.250
EA (25 μ M)	MİX (0.5 μ M)	EA + MİX (25:0.5 μ M)
58.333	56.771	61.979
EA (25 μ M)	MİX (1 μ M)	EA + MİX (25:1 μ M)
58.333	54.167	58.854
EA (25 μ M)	MİX (5 μ M)	EA + MİX (25:5 μ M)
58.333	46.377	49.479

Tablo 59’da verilen enzim aktivitesi değerlerinden hesaplanan Tablo 60’da verilen inhibisyon sonuçlarına göre Elajik asit + Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M) kombinasyonların hem Elajik asit hem Mitoksantron inhibisyon değerinin üzerine çıkan en etkin inhibisyon değerini (% 61.979) veren Elajik asit + Mitoksantron kombinasyon konsantrasyonunun (25:0.5 μ M) sonrasında ise 58. 854 % inhibisyon değeri ile etkin kombinasyon konsantrasyonun (25:1 μ M) ile olduğu gözlemlendi.

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda, kanser tedavi yöntemlerinden birisi olan kemoterapi tedavisinde kullanılan Dosetaksel ve Mitoksantron ilaçları ve Elajik asidin antioksidan aktiviteleri ve radikal giderme kapasiteleri DPPH[•] serbest radikal giderme aktivitesi, ABTS^{•+} giderme aktivitesi, DMPD^{•+} giderme aktivitesi, Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesi, Frap indirgeme kapasitesi, Cu²⁺-Cu¹⁺ indirgeme kapasitesi metotları kullanılarak tespit edilmiştir. Antioksidan aktiviteyi belirlemek için kullanılan bütün metotlarda Elajik asit ve kemoterapi ilaçları 1:1 mg/mL hazırlanarak kullanılmıştır. Yalnızca ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi için yapılan çalışmada Elajik asidin konsantrasyonu 1:8 mg/mL olacak şekilde seyreltilerek kullanılmıştır. Çözücü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır.

Antioksidan aktiviteyi belirlemek için kullanılan metotlardan birisi olan DPPH[•] giderme aktivitesi basit, hızlı, hassas ve tekrarlanabilir metottur. Antioksidatif özelliği olan bir madde DPPH[•] radikaline eklendiğinde indirgenerek bir renksizleştirme oluşturur.

Çalışmamızda Elajik asit (1-11 µg/mL), Mitoksantron (1-11 µg/mL), Elajik asit + Mitoksantron (2-22 µg/mL), Elajik asit + Dosetaksel (2-22 µg/mL) kombinasyonlarının DPPH[•] serbest radikal giderme aktiviteleri için hesaplanan IC₅₀ değerleri sırasıyla 3.797, 6.556, 10.999 ve 6.988 µg/mL olarak bulunmuştur. Hesaplanan IC₅₀ değerleri birbirleri ile karşılaştırıldıklarında Elajik asit > Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Elajik asit + Mitoksantron olarak sıralamaya sahip olduğu tespit edilmiştir. Dosetaksel'in DPPH[•] giderme aktivitesi gözlenmediğinden hesaplanabilen IC₅₀ değeri bulunmamaktadır.

Khanduja ve arkadaşlarının 2006'da yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin DPPH[•] radikali giderme aktivitesi için hesaplanan IC₅₀ değerinin 31.2 µM olduğunu tespit etmişlerdir (Khanduja vd., 2006). Elajik asidin DPPH[•] radikali giderme aktivitesi ile yapılan başka bir çalışmada Mehta ve arkadaşları ise 2017'de 6.25 µM konsantrasyondaki Elajik asidin DPPH[•] radikali giderme aktivitesi için hesaplanan IC₅₀ değerini 0.03 µM olarak bulmuşlardır (Mehta vd., 2017).

Elajik asit ile kombinasyonlarında DPPH[•] giderme aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Antioksidatif aktiviteyi belirlemede kullanılan başka bir metot ise ABTS^{•+} radikali giderme metodudur. Re ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan bu metotta

antioksidatif aktivite, koyu renkli olan ABTS⁺ radikaline antioksidan özelliğe sahip olan madde eklendiğinde renkte meydana gelen azalma ölçülerek tespit edildi.

Çalışmamızda, Elajik asit (1-6 µg/mL), Mitoksantron (1-6 µg/mL), Elajik asit + Mitoksantron (1.125-6.750 µg/mL), Elajik asit + Dosetaksel (1.125-6.750 µg/mL) kombinasyonlarının ABTS⁺ giderme aktivitesi için hesaplanan IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.524, 2.461, 1.804 ve 4.290 µg/mL olarak bulunmuştur. Hesaplanan IC₅₀ değerleri birbirleri ile karşılaştırıldıklarında Elajik asit > Elajik asit + Mitoksantron > Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel olarak sıralamaya sahip olduğu tespit edilmiştir. Dosetaksel'in ABTS⁺ giderme aktivitesi gözlenmediğinden hesaplanabilen IC₅₀ değeri bulunmamaktadır.

Kılıç ve arkadaşlarının 2014'te yapmış oldukları çalışmada Elajik asidin % ABTS⁺ radikali giderme aktivitesini 20 µg/mL konsantrasyonda %93.9 olarak bulmuşlardır (Kılıç vd., 2014).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular Elajik asidin ABTS⁺ radikali giderme aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulgular da Elajik asidin ABTS⁺ giderme aktivitesine sahip olduğunu desteklemektedir.

Antioksidatif aktiviteyi belirlemek için diğer bir radikal giderme yöntemi olan DMPD metodu, hidrofilik antioksidanlar için uygun olmak ile birlikte hidrofobik biyoaktif bileşikler için daha az duyarlıdır. DMPD⁺⁺'ye bir H atomu transfer edebilen antioksidan maddelerin çözeltideki rengi giderek renksizleştirdiği bir metottur.

Çalışmamızda, Elajik asit (1-11 µg/mL), Mitoksantron (1-11 µg/mL), Dosetaksel (1-11 µg/mL), Elajik asit + Dosetaksel (2-22 µg/mL) kombinasyonlarının DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi için elde edilen absorbans değerleri kontrol değerinin yarısının altına düşmediğinden grafikte verilen diğer değerler içinde IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 9 µg/mL konsantrasyonda bulunan değerler için % DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi hesaplanmıştır. Hesaplanan % DMPD⁺⁺ giderme aktivitelerinin sırasıyla 24.564, 17.878, 25.581, 12.355 olduğu tespit edilmiştir. Birbirleri ile mukayese edildiğinde Dosetaksel > Elajik asit > Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel olarak sıralamaya sahip olduğu tespit edilmiştir. Elajik asit + Mitoksantron için DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi gözlenmediğinden hesaplanabilen giderme (%) değeri bulunmamaktadır.

Kannan ve Quine'nin 2012'de yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin 10-50 µM konsantrasyonlardaki DMPD⁺⁺ giderme aktivitesi için hesaplanan % giderme değerlerinin % 25-90 arasında olduğunu tespit etmişlerdir (Kannan ve Quine, 2012).

Çalışmamızdan elde edilen bulgulara Elajik asidin $\text{DMPD}^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulgular da Elajik asidin $\text{DMPD}^{\cdot+}$ giderme aktivitesine sahip olduğunu desteklemektedir. Yine çalışmamızdan elde edilen bulgulara Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçlarının ve Elajik asit ile Dosetaksel kombinasyonunun $\text{DMPD}^{\cdot+}$ giderme aktivitesine sahip oldukları tespit edilmiştir.

Oyaizu'nun hafif modifikasyonu ile Ferrik iyonları (Fe^{3+} - Fe^{2+}) indirgeme kapasitesi $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{3+}$ 'nin $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{2+}$ 'ye indirgenmesiyle ölçülerek Prussian mavisi renginde bir kompleks olan $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ oluşumuna yol açar (Gülçin, 2012). Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kapasitesi test edilecek numunelerin indirgeme gücüne bağlı olarak yeşil ve mavi renk tonlarına dönüşmektedir.

Çalışmamızda Elajik asit (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Mitoksantron (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Dosetaksel (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Elajik asit + Dosetaksel (2-34 $\mu\text{g/mL}$), Elajik asit +Dosetaksel (2-34 $\mu\text{g/mL}$) kombinasyonlarının Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi için 5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki ölçülen absorbans değerleri sırasıyla 0.964, 0.730, 0.064, 0.514 ve 0.661 olarak bulunmuştur. Birbirleri ile mukayese edildiğinde Elajik asit >Mitoksantron> Elajik asit + Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Dosetaksel olarak sıralamaya sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen bulgulara Elajik asidin Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesine sahip olduğu ve yine çalışmamızdan elde edilen bulgulara Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçları ve bu ilaçların Elajik asit ile kombinasyonlarının Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Ferrik iyonlarının (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme metodu olan Frap metodunda asidik ortamda ferrik iyonunu 2,4,6-tripridil-s-triazin kompleksini $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ yoğun mavi renkli ferröz kompleksine $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ indirgeyebilen antioksidanları ölçmekte kullanılmaktadır.

Çalışmamızda Elajik asit (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Mitoksantron (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Dosetaksel (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Elajik asit + Dosetaksel (2-34 $\mu\text{g/mL}$), Elajik asit +Dosetaksel (2-34 $\mu\text{g/mL}$) kombinasyonlarının Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi için 5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki ölçülen absorbans değerleri sırasıyla 1.540, 1.607, 0.654, 0.806 ve 1.041 olarak bulunmuştur. Birbirleri ile mukayese edildiğinde Mitoksantron > Elajik asit > Elajik asit + Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Dosetaksel olarak sıralamaya sahip olduğu tespit edilmiştir.

Kannan ve Quine'nin 2012'de yapmış oldukları bir çalışmada Elajik asidin 10-50 μM konsantrasyonlardaki Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi için ölçülen absrobans değerlerini 0.05-0.25 arasında bulmuşlardır (Kannan ve Quine, 2012).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular Elajik asidin Fe^{3+} - Fe^{2+} (FRAP) indirgeme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulgular da Elajik asidin Fe^{3+} - Fe^{2+} (FRAP) indirgeme kapasitesine sahip olduğunu destekleyici niteliktedir. Yine çalışmamızdan elde edilen bulgulara Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçları ve bu ilaçların Elajik asit ile kombinasyonlarının Fe^{3+} - Fe^{2+} (FRAP) indirgeme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan diğer bir indirgeme metodu olan kuprak metodunun esası indirgeyicilerin veya antioksidanların neokuprin varlığında kuprik iyonlarını (Cu^{+2}) kupröz iyonlarına indirgenmesine dayanır.

Çalışmamızda Elajik asit (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Mitoksantron (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Dosetaksel (1-17 $\mu\text{g/mL}$), Elajik asit + Dosetaksel (2-34 $\mu\text{g/mL}$), Elajik asit +Dosetaksel (2-34 $\mu\text{g/mL}$) kombinasyonlarının Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme kapasitesi için 5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki ölçülen absrobans değerleri sırasıyla 0.455, 0.420, 0.154, 0.274 ve 0.303 olarak bulunmuştur. Birbirleri ile mukayese edildiğinde Elajik asit > Mitoksantron > Elajik asit + Mitoksantron > Elajik asit + Dosetaksel > Dosetaksel olarak sıralamaya sahip olduğu tespit edilmiştir.

Özyürek ve arkadaşlarının 2009'da yapmış oldukları çalışmada Elajik asidin kuprak metodu uygulamasına göre antioksidan aktivitesinin hesaplanan IC_{50} değerinin 2.12 μM olduğunu tespit etmişlerdir (Özyürek vd., 2009).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular Elajik asidin Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulgular da Elajik asidin Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme kapasitesine sahip olduğunu destekleyici niteliktedir. Yine çalışmamızdan elde edilen bulgulara Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçları ve bu ilaçların Elajik asit ile kombinasyonlarının Cu^{2+} - Cu^{1+} indirgeme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Antioksidan çalışmalarda elde edilen bulguları genel olarak değerlendirdiğimizde Elajik asidin antioksidatif aktiviteye sahip olduğu ve bu antioksidatif etkinin literatürdeki çalışmalarla desteklendiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda Elajik asit ile kemoterapi ilaçlarından elde edilen kombinasyonların antioksidatif aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak yapılan literatür taramalarında Dosetaksel ve Mitoksantron kemoterapi ilaçları ve bu ilaçların Elajik asit ile kombinasyonlarının

antioksidan aktivitelerine ait herhangi bir çalışma bulunmadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Çalışmada hem radikal giderme hemde indirgeme yöntemlerinde Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun Dosetaksel'e göre çok daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonlarının Mitoksantron ile benzer aktivite göstermelerini ise Mitoksantron'un kimyasal yapısında bulunan OH grupları nedeniyle kemoterapi ilacının antioksidan aktivitesinde yüksek bulunmasına neden olduğu düşünülmektedir. Yapıda bulunan OH gruplarının antioksidan aktivitedeki rolü yapılan çalışmalarda bilinmektedir (Gülçin, 2012; Sarıkaya vd., 2010). Ayrıca sonuçlar compusn programında değerlendirildiğinde sinerjik etki gösterebilecek konsantrasyonların varlığı da görülmüştür. Hücre hattı haricinde yapılan antioksidan ve antiradikal aktivitenin belirlenmesi ile ilgili elde ettiğimiz olumlu sonuçlar hücre hattına kombinasyonların uygulanması sonucu olarak antioksidan enzim aktivite sonuçları ve antikanser aktivitesinin bulunması ile ilgili sonuçları destekleyicisi niteliğindedir.

Çalışmamızda hücre proliferasyonundaki değişimleri belirlemek için XTT [(2,3-Bis - (2-Metoksi - 4-Nitro - 5-Sülfenil) - 2H-Tetrazolyum – 5 Karboksanilit)] yöntemi kullanılmıştır. Elajik, Dosetaksel, Mitoksantron, Elajik asit + Dosetaksel ve Elajik asit + Mitoksantron kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hattında 24 saat uygulanması ile elde edilen hücre proliferasyonundaki değişimlerin % inhibisyonları oranları hesaplanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan Elajik asidin 50, 100, 150, 200 µM konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 36.738, 49.050, 50.681, 64.529 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Paluszczak ve arkadaşlarının 2010'da yapmış oldukları çalışmada 2-200 uM konsantrasyondaki Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücrelerine uygulanması ile inhibisyon değerinin 40'lara kadar düştüğünü tespit etmişlerdir (Paluszczak vd., 2010). Zhang ve arkadaşları 2014'te Elajik asidin 10, 20, 30 ug/mL konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücrelerine 48 saat uygulanmasının inhibisyon değerlerini % 12.24, 35.79, 53.22 olarak bulmuşlardır (Zhang vd., 2014). Chen ve arkadaşlarının 2015'te yapmış oldukları çalışmada 10-40 µg/mL konsantrasyonlarındaki Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile % 13.5 – 80 inhibisyon gösterdiğini tespit etmişlerdir (Chen vd., 2015). Ahire ve arkadaşlarının 2017'de yapmış oldukları başka bir çalışmada 10 mM Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücrelerine 48 saat uygulanmasıyla elde edilen inhibisyon değerinin %33.9

olduğunu gözlemlemişlerdir (Ahire vd., 2017). 2017’de yapılan bir başka çalışmada ise Moon ve arkadaşları 100 μ M Elajik asidin MDA MB 231 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanmasının % inhibisyon değerini 69.4 olarak bulmuşlardır (Moon vd., 2017). 2020’de Pirzadeh-Naeni ve arkadaşları MCF-7 insan meme kanser hücresine farklı konsantrasyonlarda (20-150 μ g/ml) Elajik asit uygulaması ile hücre canlılığını 80 μ g/mL’ye kadar azaldığını tespit etmişlerdir (Pirzadeh-Naeni vd., 2020). 2022’de ise Badr-Eldin ve arkadaşları farklı konsantrasyonlardaki Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücresindeki inhibisyon (%60) etkisinin konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığını gözlemlemişlerdir (Badr-Eldin vd., 2022). Ali ve arkadaşlarının 2020’de yapmış oldukları çalışmada 10 ile 100 μ g/mL Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 48 saat uygulanması ile %70’e kadar inhibisyon gösterdiğini tespit etmişlerdir (Ali vd., 2020).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, Elajik asidin MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde antiproliferatif etkisinin olduğunu ve literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulguların da antiproliferatif etkiyi destekleyici nitelikte olduğu tespit edilmiştir.

Dosetaksel’in 50, 100, 150, 200 μ M konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 43.607, 49.093, 53.087, 68.051 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Raza ve arkadaşlarının 2016’da yapmış oldukları çalışmada 10 μ g/mL konsantrasyondaki Dosetaksel’in MCF-7 insan meme kanser hücresine uygulanmasıyla elde edilen IC_{50} değerini 25 μ g/mL olarak bulmuşlardır (Raza vd., 2016).

de Oliveira Cardoso ve arkadaşlarının 2022’de yapmış oldukları çalışmada 10 μ g/ml konsantrasyondaki Dosetaksel’in MCF-7 insan meme kanser hücresine 48 saat uygulanmasıyla çubuk grafikten elde edilen verilere göre yaklaşık %25 inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir (de Oliveira Cardoso vd., 2022).

Soltanian ve arkadaşlarının 2017’de yapmış oldukları çalışmada 1.25 ile 160 μ M konsantrasyonlardaki Dosetaksel’in MCF-7 insan meme kanser hücresine uygulanması ile yaklaşık olarak %95’e kadar inhibe ettiğini tespit etmişlerdir (Soltanian vd., 2017).

Sahu ve arkadaşlarının 2016’da yapmış oldukları çalışmada 0.5 ve 1 μ g/mL konsantrasyonlardaki Dosetaksel’in nanosüspansiyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresine 24 saat uygulanmasıyla sırasıyla % 24.55, 25.44 inhibisyon gösterdiğini tespit etmişlerdir (Sahu vd., 2016).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, Dosetaksel'in MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde antiproliferatif etkisinin olduğunu ve literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulguların da antiproliferatif etkiyi destekleyici nitelikte olduğu tespit edilmiştir.

Mitoksantron'un 0.0125, 0.025, 0.05, 1 μ M konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri ise sırasıyla 43.723, 62.268, 64.551, 70.399 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Guerriero ve arkadaşlarının 2014'te 0.07 μ M, 0.15 μ M, 0.29 μ M, 0.58 μ M, 1.17 μ M, 2.34 μ M, 4.68 μ M ve 9.36 μ M konsantrasyonlardaki Mitoksantron'un MCF-7 kanser hücresine 48 saat uygulaması ile elde edilen inhibisyonun %15-85 arasında olduğu tespit edilmiştir (Guerriero vd., 2014).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, Elajik asit, Dosetaksel ve Mitoksantron'un MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde antiproliferatif etkisinin olduğunu ve literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulguların da antiproliferatif etkiyi destekleyici nitelikte olduğu tespit edilmiştir.

Elajik asit + Dosetaksel kombinasyonunun 50:50, 50:100, 50:150, 50:200 μ M konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 52.425, 56.419, 63.267, 70.542 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Elajik asidin Dosetaksel ile farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücresinde 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinin Dosetaksel'in tek başına farklı konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücresindeki 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinden yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Elajik asidin Dosetaksel ile birlikte uygulanmasıyla Dosetaksel'in hücre proliferasyon etkinliğini artırdığı tespit edilmiştir. Elajik asit + Dosetaksel kombinasyonunun (50:200 μ M) hesaplanan kombinasyon indeks değeri (CI) 0.864 olduğu tespit edilmiştir. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun sinerjik etki gösterdiği anlamına gelen bu kombinasyon indeks değeri hücre proliferasyon sonuçlarını desteklemektedir.

Elajik asit ve Dosetaksel'in kombinasyonu ile ilgili MCF-7 insan meme kanser hücre hattında literatürde taranan herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Ancak literatürde Dosetaksel'in farklı maddeler ile olan kombinasyonlarının MCF-7 insan

meme kanser hücresi üzerindeki antiproliferatif etkilerine yönelik çalışmalar bulunmaktadır.

de Oliveira Cardoso ve arkadaşlarının 2022’de yapmış oldukları çalışmada 10 µg/ml konsantrasyondaki Dosetaksel ile 25 µg/ml konsantrasyondaki Porpolislin etanol ekstraktının kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresine 48 saat uygulanmasıyla çubuk grafikten elde edilen verilere göre yaklaşık %40 inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir (de Oliveira Cardoso vd., 2022).

Sahu ve arkadaşlarının 2016’da yapmış oldukları çalışmada 0.5 ve 1 µg/mL konsantrasyonlardaki Zerdeçal ve Dosetaksel nanosüspansiyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresine 24 saat uygulanmasıyla sırasıyla % 16.69, 18.35 inhibisyon gösterdiğini tespit etmişlerdir (Sahu vd., 2016). Yapılan çalışmalarda Dosetaksel ile farklı doğal maddelerin kombinasyonlarının inhibisyon etkisinin gözlemlendiği ancak çok yüksek değerler olmadığı görülmektedir.

Elajik asit + Mitoksantron kombinasyonunun 50:0.0125, 50:0.025, 50:0.05, 50:1 µM konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 36.734, 42.537, 40.798, 60.606 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinde farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir.

Elajik asidin Mitoksantron ile farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücresinde 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinin Mitoksantron’un tek başına farklı konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücresindeki 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Elajik asidin Mitoksantron ile farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonları için hesaplanan kombinasyon indeks değerlerinin (CI) 1’den büyük olduğu tespit edilmiştir. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun sinerjik etki göstermediği anlamına gelen bu kombinasyon indeks değerleri bu kombinasyonun hücre proliferasyon sonuçlarını da desteklemektedir.

Elajik asit ve Mitoksantron’un kombinasyonu ile ilgili MCF-7 insan meme kanser hücre hattında literatürde taranan herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Çalışmamızda kullanılan diğer bir kanser hücre hattı olan A549 insan akciğer kanser hücre hattına Elajik asidin 25, 50, 100, 150, 200 µM konsantrasyonlarının 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 43.838, 48.363, 60.757, 61.408, 65.863 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Liu ve arkadaşları 2018’de yapmış oldukları çalışmada Elajik asidin 5, 10 ve 20 μM konsantrasyonlardaki A549 insan akciğer kanseri hücresi hattına 48 uygulanması ile elde edilen % inhibisyonun yaklaşık olarak 25’lere kadar artmış olduğu grafiklerden tespit edilmiştir (Liu vd., 2018).

Duan ve arkadaşlarının 2020’de yapmış oldukları bir çalışmada 10, 25, 50, 75, 100 μM Elajik asidin HOP62 akciğer kanser hücresine uygulaması ile hücre canlılığının çubuk grafikten elde edilen bulgulara göre yaklaşık olarak %90’lardan %50’lere düştüğünü tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışma 10, 25, 50, 75, 100 μM Elajik asidin H1975 akciğer kanser hücresine uygulaması ile hücre canlılığının çubuk grafikten elde edilen bulgulara göre yaklaşık olarak %95’lerden %60’lere tespit etmişlerdir (Duan vd., 2020).

Dosetaksel’in 5, 10, 25, 50 μM konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 58.522, 62.5, 63.325, 65.241 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Wang ve arkadaşlarının 2016’da yapmış oldukları çalışmada 3 nM ila 1 μM arasında değişen konsantrasyonlara sahip Dosetaksel’in A549 insan akciğer kanser hücre hattına 48 saat uygulanmasıyla %40-65 arasında bir inhibisyona sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Wang vd., 2016).

Lu ve arkadaşlarının 2020’de yapmış oldukları çalışmada 0.003 nM ila 50 nM arasında değişen konsantrasyonlara sahip Dosetaksel’in A549 insan akciğer kanser hücre hattına 72 saat uygulanmasıyla %5-80 arasında bir inhibisyona sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Lu vd., 2020).

Mitoksantron’un 0.1, 0.5, 1, 5 μM konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri ise sırasıyla 41.882, 45.181, 53.040, 56.266 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Pawlik ve arkadaşlarının 2016’da yapmış oldukları çalışmada A549 insan akciğer kanser hücresinde Mitoksantron’un 1, 1.5 2, 2.5 μM konsantrasyonlarında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda hücre canlılığı oranlarını sırasıyla %94.12, 92.88, 93.50, 89.09 olarak bulduklarını ayrıca aynı çalışmada H1299 insan akciğer kanser hücresine Mitoksantron’un 0.5 1, 1.5 2 μM konsantrasyonlarında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda hücre canlılığı oranlarını sırasıyla %87.33, 85.93, 85.72, 84.43 olarak bulduklarını tespit etmişlerdir (Pawlik vd., 2016).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, Elajik asit, Dosetaksel ve Mitoksantron'un A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerinde antiproliferatif etkisinin olduğunu ve literatür taramasındaki çalışmalardan elde edilen bulguların da bu antiproliferatif etkiyi destekleyici nitelikte olduğu tespit edilmiştir.

Elajik asit + Dosetaksel kombinasyonunun 25:5, 25:10, 25:25, 25:50 μ M konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 45.427, 65.179, 50.621, 55.984 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinde farklılıklar olduğu hatta artan konsantrasyonda azaldığı gözlemlenmiştir.

Elajik asidin Dosetaksel ile farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücrelerinde 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinin Dosetaksel'in tek başına farklı konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücrelerindeki 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Elajik asidin Dosetaksel ile farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonları için hesaplanan kombinasyon indeks değerlerinin (CI) 1'den büyük olduğu tespit edilmiştir. Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonunun sinerjik etki göstermediği anlamına gelen bu kombinasyon indeks değerleri bu kombinasyonun hücre proliferasyon sonuçlarını da desteklemektedir.

Elajik asit ve Dosetaksel'in kombinasyonu ile ilgili A549 insan akciğer kanser hücre hattında literatürde taranan herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Elajik asit + Mitoksantron kombinasyonunun 25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μ M konsantrasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 61.561, 61.007, 66.414, 69.819 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Elajik asidin Mitoksantron ile farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinin Mitoksantron'un tek başına farklı konsantrasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücrelerindeki 24 saat uygulanması ile elde edilen % inhibisyon değerinden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Elajik asidin Mitoksantron ile birlikte uygulanmasıyla Mitoksantron'un hücre proliferasyon etkinliğini artırdığı tespit edilmiştir. Elajik asit ile Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlarındaki kombinasyonlarının her biri için hesaplanan kombinasyon indeks değerlerinin (CI) 1'den küçük olduğu tespit edilmiştir. Elajik asit ve Mitoksantron kombinasyonunun sinerjik etki gösterdiği anlamına gelen bu kombinasyon indeks değerleri hücre proliferasyon sonuçlarını desteklemektedir.

Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron ile kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattında literatürde taranan herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Elajik asit ile Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve Elajik asit ile Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerine 24 saat uygulanmalarına ait hücre proliferasyonundaki değişiklikleri belirlemek için absorbansları ölçülmüştür. Ölçülen absorbans verileri, kombinasyonların sinerjik etki gösterip göstermediğini belirlemek için Compusyn programına girilerek kombinasyon indeks değerleri tespit edilmiştir.

Elajik asit ile Dosetaksel'in 50:50, 50:100, 50:150, 50:200 μM konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen absorbanslar için hesaplanan kombinasyon indeks değerlerinin sırasıyla 1.556, 1.694, 1.341, 0.864 olduğu tespit edilmiştir. Elajik asit ile Dosetaksel'in 50:200 μM konsantrasyonundaki kombinasyonunun sinerjik etki göstermesinden dolayı apoptotik etkileri ve antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için bu konsantrasyon değeri üzerinden çalışmalara devam edilmiştir.

Elajik asit ve Mitoksantron'un farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen absorbanslar için hesaplanan kombinasyon indeks değerleri 1'den büyük olduğu için apoptotik etki ve antioksidan enzim aktivite çalışmaları yapılmamıştır.

Elajik asit ile Mitoksantron'un 25:0.1, 25:0.5, 25:1, 25:5 μM konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen absorbanslar için hesaplanan kombinasyon indeks değerlerinin sırasıyla 0.047, 0.106, 0.044, 0.043 olduğu tespit edilmiştir. Kombinasyon indeks değerlerinin 1'den küçük olduğu dolayısıyla kombinasyonun bütün konsantrasyonlarında sinerjik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Elajik asit ile Mitoksantron kombinasyonunun apoptotik etkileri ve antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için 25:1 μM konsantrasyon değeri üzerinden çalışmalara devam edilmiştir.

Elajik asit ve Dosetaksel'in farklı konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen absorbanslar için hesaplanan kombinasyon indeks değerleri 1'den büyük olduğu için apoptotik etki ve antioksidan enzim aktivite çalışmaları yapılmamıştır.

Elajik asit ile Dosetaksel'in (50:200 μ M) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve Elajik asit ile Mitoksantron'un (25:1 μ M) kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanmasına ait protein konsantrasyonun belirlenmesi için bisinkoninik asit (BCA) yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda Elajik asit + Dosetaksel'in kombinasyonunun (50:200 μ M) MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen protein konsantrasyonun 2298.80 μ g/mL olduğu ve MCF-7 insan meme kanser hücresi kontrolünün protein konsantrasyonuna göre (2631.80 μ g/mL) çok az farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda Elajik asit + Mitoksantron'un kombinasyonunun (25:1 μ M) A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen protein konsantrasyonun 3254.80 μ g/mL olduğu ve A549 insan akciğer kanser hücresi kontrolünün protein konsantrasyonu (3319.80 μ g/mL) ile hemen hemen aynı olduğu tespit edilmiştir. İlaç kombinasyonları uygulanan hücre hatlarından alınan protein miktarlarının kontrollerin protein miktarlarına yakın olmasının aynı zamanda hücre fonksiyonları ve faaliyetlerinin devamlılığı ile ilişkili olan olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Elajik asit ile Dosetaksel'in 50:200 μ M konsantrasyonundaki kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattına ve Elajik asit ile Mitoksantron'un 25:1 μ M konsantrasyonundaki kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hattında 24 saat uygulanmasıyla meydana gelebilecek apoptotik olayların belirlenmesi amacıyla hücre materyallerine Annexin-V FITC-PI kiti kullanılarak flow sitometrede veriler elde edilmiştir.

Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresine 24 saat uygulanmasıyla elde edilen canlı hücre, erken apoptoz, geç apoptoz ve hücre apoptoz veri yüzdelerinin sırasıyla % 69.90, 25.15, 4.8 ve 0.15 olduğu tespit edilmiştir. MCF-7 kontrol hücresinin % 86.10 canlı hücre oranına kıyasla Elajik asit ve Dosetaksel'in (50:200 μ M) kombinasyonunun canlılık oranını % 69.90'a düşürdüğü gözlemlenmiştir. Elajik asit ve Dosetaksel'in (50:200 μ M) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresini apoptoza götürdüğü gözlemlenmiştir.

Elajik asidin Dosetaksel ile kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki apoptotik etkilerinin belirlenmesine yönelik yapılan literatür taramasında herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Ancak Elajik asit ve Dosetaksel'in başka

maddelerle olan kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki apoptoz çalışmaları, çalışmamızda elde ettiğimiz verileri desteklemektedir.

Badr-Eldin ve arkadaşları 2022’de yapmış oldukları bir arştırmada Elajik asit, Apamin ve Emulzomların kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresindeki toplam apoptotik değerinin çubuk grafikten elde edilen verilere göre yaklaşık %28 olduğu ayrıca Elajik asidin toplam apoptotik değerin ise yine grafikten elde edilen bulgulara göre yaklaşık %21 olduğu tespit edilmiştir (Badr-Eldin vd., 2022).

de Oliveira Cardoso ve arkadaşlarının 2022’de yapmış oldukları çalışmada 10 µg/ml konsantrasyondaki Dosetaksel ile 25 µg/ml konsantrasyondaki Porpolislin etanol ekstraktının kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresine 48 saat uygulanmasıyla çubuk grafikten elde edilen verilere göre yaklaşık %7 apoptoz değerine sahip olduğu tespit edilmiştir (de Oliveira Cardoso vd., 2022).

Elajik asit + Mitoksantron (25:1 µM) kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücresine 24 saat uygulanmasıyla elde edilen canlı hücre, erken apoptoz, geç apoptoz ve hücre apoptoz veri yüzdelerinin sırasıyla % 24, 11.25, 51.65 ve 13.10 olduğu tespit edilmiştir. A549 kontrol hücresinin % 87.10 canlı hücre oranına kıyasla Elajik asit ve Mitoksantron’un (25:1 µM) kombinasyonunun canlılık oranını %24’e düşürdüğü gözlemlenmiştir. Elajik asit ve Mitoksantron’un (25:1 µM) kombinasyonunun A549 insan akciğer hücresini apoptoza götürdüğü gözlemlenmiştir

Elajik asidin Mitoksantron ile kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki apoptotik etkilerinin belirmesine yönelik yapılan literatür taramasında herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Ancak Elajik asit ve Mitoksantron’un başka maddelerle olan kombinasyonlarının A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki apoptoz çalışmaları, çalışmamızda elde ettiğimiz verileri desteklemektedir.

Xie ve arkadaşlarının 2020’de yapmış oldukları çalışmada 10 uM konsantrasyonda Elajik asidin 1 uM Erlotinip ilacı ile kombinasyonunun küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücresine uygulanmasıyla %28.6 erken apoptoz, %32.8 geç apoptoz, %0.22 hücre ölümü ve toplam %61.6 apoptotik etki gösterdiğini belirtmişlerdir (Xie vd., 2020).

Liu ve arkadaşlarının 2018’de yapmış oldukları çalışmada 5,10,20 µM konsantrasyonlardaki Elajik asidin A549 insan akciğer kanser hücre hattına 48 saat uygulanmasıyla % erken apoptotik değerlerinin sırasıyla 12.3, 25.5 ve 17.4 olduğu, geç apoptotik değerleri sırasıyla 17.1, 6.47, 21.6 olduğu % hücre ölüm değerleri ise sırasıyla 0.651, 0.824 ve 3.92 olduğunu tespit etmişlerdir (Liu vd., 2018).

Kanser hücre hatlarında antikanser aktiviteyi belirlemekle birlikte kemoterapi ilaçları ve kombinasyonların hücre hatlarına uygulanmalarından 24 saat sonrasındaki antoksidan aktivite farklılıklarını belirlemek amacıyla KAT, SOD, GSH ve GR antioksidan enzim kitleri (Cayman) kullanılmıştır.

Kombinasyonların kanser hücre hatlarına uygulanmasından 24 saat sonrasında (MCF-7 insan meme kanser hücre hattında EA+DOC (50:200 μ M) ve A549 insan akciğer kanser hücre hattında EA+MIX (25:1 μ M)) katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S- transferaz antioksidan enzim aktivitelerini belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır.

Çalışmamızda EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonun insan meme kanser hücre hattındaki 24 saatlik muamelesi sonucu ile elde edilen spesifik katalaz aktivitesinin (0.00894 EU/mg), MCF-7 insan meme kanser hücresi kontrolü için ölçülen spesifik katalaz aktivite değerinin ise (0.0107 EU/mg) olduğu gözlemlenmiştir. A549 insan akciğer kanser hücre hattına EA+MIX (25:1 μ M) kombinasyonunun 24 saatlik muamelesi ile elde edilen spesifik katalaz aktivitesinin (0.0249 EU/mg), A549 insan akciğer kanser hücresi kontrolü için ölçülen spesifik katalaz aktivitesinin ise (0.0253 EU/ mg) olduğu gözlemlenmiştir.

EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki 24 saatlik muamelesi sonucu elde edilen spesifik süperoksit dismutaz aktivitesinin (6.642 EU/mg), MCF-7 kontrolü için hesaplanan spesifik süperoksit dismutaz aktivitesinin ise (6.966 EU/mg) olduğu gözlemlenmiştir. A549 insan akciğer kanser hücre hattına EA+MIX (25:1 μ M) kombinasyonunun 24 saatlik muamelesi ile elde edilen spesifik süperoksit dismutaz aktivitesinin (6.958 EU/mg), A549 kontrolü için hesaplanan spesifik süperoksit dismutaz aktivitesinin ise (7.026 EU/mg) olarak hesaplanmıştır.

EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki 24 saatlik muamelesi sonucu GSH konsantrasyonunun aktivitesinin (1.649 μ M/mg) MCF-7 kontrolü için hesaplanan değerine (1.709 μ M/mg) olduğu gözlemlenmiştir. A549 insan akciğer kanser hücre hattına EA+MIX (25:1 μ M) kombinasyonunun 24 saatlik muamelesi ile elde edilen GSH konsantrasyonunun (0.225 μ M/mg) A549 kontrolü için hesaplanan konsantrasyonun ise (0.263 μ M/mg) olduğu gözlemlenmiştir.

EA+DOC (50:200 μ M) kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattındaki 24 saatlik muamelesi sonucu elde edilen spesifik glutatyon S-transferaz aktivitesinin (0.00259 EU/mg) MCF-7 kontrolünün spesifik glutatyon S-transferaz

aktivitesinin ise (0.00302 EU/mg) olduğu gözlemlenmiştir. A549 insan akciğer kanser hücre hattına EA+MIX (25:1 μ M) kombinasyonunun 24 saatlik muamelesi ile elde edilen spesifik glutatyon S-transferaz aktivitesinin (0.00122 Eu/mg), A549 kontrol aktivitesinin ise (0.00209 Eu/mg) olduğu gözlemlenmiştir.

Kemoterapötik ilaçlar genellikle apoptoz veya nekroz yoluyla hücre ölümüne yol açan hücre döngüsüne müdahale eden serbest radikaller üreterek DNA'ya zarar verir. Hızla bölünen hücrelere müdahale ederken farklı organlara zarar verebilir ve sistemik sorunlara yol açabilirler. Muhtemel bir çözüm, hücresel oksidatif stresi artıran kanser kemoterapisi ile birlikte antioksidanların kullanılması olabilir (George ve Abrahamse 2020). Bu durumla ilgili olarak *in vivo* çalışmalar yapılmış ve sağlıklı hücrelerle tümör hücreleri karşılaştırılmıştır. Literatürde baş ve boyun, mide-bağırsak, akciğer, meme ve böbrek kanseri gibi pek çok kanser türünde KAT aktivitesinde önemli bir azalma gözlemlendiği belirtilmiştir. (Cecerska-Hery'c vd., 2021). Başka bir çalışmada, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde KAT aktivitesinin, kanser dokularına kıyasla komşu kanserli olmayan dokularda önemli ölçüde arttığını ve GSH ile ilişkili enzim aktivitesinin akciğer kanseri dokularında önemli ölçüde arttığını bildirilmiştir (Zalewska-Ziob vd., 2019). Ho ve arkadaşlarının 2001'de yaptıkları bir çalışmada küçük hücreli olmayan akciğer karsinomunun komşu kanserli olmayan dokularına göre tümör dokusunda SOD'un arttığı ve KAT aktivitesinin azaldığı ve GSH ve GPx in pek değişmediğini ve böylece kanserli dokuların teşvikini sağladığı bildirilmiştir (Ho vd., 2001). Yine Kaynar ve arkadaşlarının 2005'te yaptıkları bir çalışmada sağlıklı bir kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastalarının eritrositlerinde artmış SOD aktivitesi gözlemlenmişlerdir (Kaynar vd., 2005). Literatürde antioksidan enzim aktivitesi ile ilgili olarak verilen örneklere benzer şekilde birbirlerini destekleyen veya desteklemeyen birbirlerinden farklı birçok sonuç bulunmaktadır. Fakat aynı zamanda literatürde net olarak bildirilen başka bir durumda antioksidanların birçok anti-kanser ilacı ile sinerji içinde çalışabileceklerini destekler sonuçlardır (Singh vd. 2018). Genel olarak çalışmada antioksidan enzim sonuçlarında kontrole göre artış gözlemlenmediği ve dolayısıyla ilaca karşı etkin bir direnç gelişmediği ve ancak çalışmanın *in vivo* olarak tekrarlanması sonucu antioksidan enzimler ile ilgili daha net yorumlar yapılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmanın enzim aktivitesi açısından değerlendirilen diğer bir enzimde karbonik anhidrazdır. Birçok literatürde enzimin kanser tedavisi için bir biyobelirteç olduğu bilgisi verilmiştir. Çalışmada kombinasyon uygulanan hücre hatlarından alınan protein örneklerinde karbonik anhidraz enzim aktivitesi ölçülmüştür.

Kombinasyonların (MCF7; EA+DOC (50:200) ve A549; EA+MIX(25:1)) hücre hatlarına uygulanmasından 24 saat sonrasında hücrelerden alınan proteinlerde karbonik anhidraz (CA) enzim aktivitesi ölçülmüştür.

Çalışmamızda elde edilen bulgular neticesinde Elajik asit ile Dosetaksel'in kombinasyonunun (50:200 μ M) MCF-7 insan meme kanser hücresinden alınan protein örneğinde karbonik anhidraz enziminin aktivitesinin %4.157 oranında düştüğü gözlemlenmiştir.

Ayrıca Elajik asit ile Mitoksantron'un kombinasyonunun (25:1 μ M) A549 insan akciğer kanser hücresinden alınan protein örneğinde karbonik anhidraz enziminin aktivitesinin % 9.693 oranında düştüğü gözlemlenmiştir. İki hücre hattında da karbonik anhidraz aktivitesinin kombinasyon uygulamalarından 24 saat sonra kontrol değerine göre yükselmeyişi aksine düşmüş oluşu literatürde kanserle birlikte yükselen enzim aktivite değerleri ile birlikte düşünüldüğünde; elde edilen sonuçların kombinasyonların antikanser etkisini destekleyen yönde olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda son olarak Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının bilinen en etkin konsantrasyonları hazırlanarak hCA I,II ve IX enzimleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit ile Dosetaksel (50:200 μ M) kombinasyonu ve A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit ile Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1 25:5 μ M) kombinasyonları hazırlanarak hCAI, hCAII ve hCAIX enzimleri üzerindeki etkileri esteraz aktivitesi yöntemine göre belirlenmiştir.

MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda hazırlanan Elajik asit (50 μ M), Dosetaksel (200 μ M) ve Elajik asit ile Dosetaksel (50:200 μ M) kombinasyonunun hCAI enzimi üzerindeki inhibisyon değerlerinin sırasıyla 91.304, 73.188 ve 86.957 olduğu tespit edilmiştir. Kendi aralarında karşılaştırdığımızda EA (50 μ M) > EA+DOC (50:200 μ M) > DOC (200 μ M) sıralamasına sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda hazırlanan Elajik asit (25 μ M), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 μ M) ve Elajik asit ile Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1 25:5 μ M) kombinasyonlarının hCAI enzimi üzerindeki % inhibisyonları hesaplanmıştır. Elajik asidin % inhibisyonunun 87.681 olduğu tespit edilmiştir. Mitoksantron'un 0.1, 0.5, 1, 5 μ M konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerlerinin sırasıyla 55.797, 65.217,

58.696, 46.377 olduğu tespit edilmiştir. Mitoksantron'un inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına göre bir lineerlik göstermediği gözlemlenmiştir. Elajik asit ve Mitoksantron'un 25:0.1, 25:0.5, 25:1 25:5 µM konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri ise sırasıyla 84.058, 87.391, 91.304, 76.087 olduğu tespit edilmiştir.

MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda hazırlanan Elajik asit (50 µM), Dosetaksel (200 µM) ve Elajik asit ile Dosetaksel (50:200 µM) kombinasyonunun hCAII enzimi üzerindeki inhibisyon değerlerinin sırasıyla 69.461, 31.138 ve 65.269 olduğu tespit edilmiştir. Kendi aralarında karşılaştırdığımızda EA (50 µM) > EA+DOC (50:200 µM) > DOC (200 µM) sıralamasına sahip oldukları tespit edilmiştir.

Ayrıca A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda hazırlanan Elajik asit (25 µM), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 µM) ve Elajik asit ile Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1 25:5 µM) kombinasyonlarının hCAII enzimi üzerindeki % inhibisyonları hesaplanmıştır. Elajik asidin % inhibisyonunun 56.886 olduğu tespit edilmiştir. Mitoksantron'un 0.1, 0.5, 1, 5 µM konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerlerinin sırasıyla 30.539, 34.731, 28.743, 15.569 olduğu tespit edilmiştir. Mitoksantron'un inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına artışına göre bir lineerlik göstermediği gözlemlenmiştir. Elajik asit ve Mitoksantron'un 25:0.1, 25:0.5, 25:1 25:5 µM konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri ise sırasıyla 49.102, 52.695, 58.084, 39.521 olduğu tespit edilmiştir.

MCF-7 insan meme kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda hazırlanan Elajik asit (50 µM), Dosetaksel (200 µM) ve Elajik asit ile Dosetaksel (50:200 µM) kombinasyonunun hCAIX enzimi üzerindeki inhibisyon değerlerinin sırasıyla 70.313, 36.979 ve 51.563 olduğu tespit edilmiştir. Kendi aralarında karşılaştırdığımızda EA (50 µM) > EA+DOC (50:200 µM) > DOC (200 µM) sıralamasına sahip oldukları tespit edilmiştir.

Ayrıca A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda hazırlanan Elajik asit (25 µM), Mitoksantron (0.1, 0.5, 1, 5 µM) ve Elajik asit ile Mitoksantron (25:0.1, 25:0.5, 25:1 25:5 µM) kombinasyonlarının hCAIX enzimi üzerindeki % inhibisyonları hesaplanmıştır. Elajik asidin % inhibisyonunun 58.333 olduğu tespit edilmiştir. Mitoksantron'un 0.1, 0.5, 1, 5 µM konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerlerinin sırasıyla 52.604, 56.771, 54.167, 46.377 olduğu tespit edilmiştir. Mitoksantron'un inhibisyon değerleri konsantrasyon artışına artışına göre bir lineerlik göstermediği gözlemlenmiştir. Elajik asit ve Mitoksantron'un 25:0.1, 25:0.5,

25:1 25:5 μ M konsantrasyonlardaki kombinasyonlarının % inhibisyon değerleri ise sırasıyla 56.250, 61.979, 58.854, 49.479 olduğu tespit edilmiştir.

Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron ile kombinasyonlarının karbonik anhidraz I, II ve IX enzimlerinin aktivitelerinin belirlenmesine yönelik yapılan literatür taramalarında herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Literatürlerde hCAI, II ve IX enzim inhibitörleri kanser, glukoma gibi hastalıkların tedavisinde ilaç etken maddeleri olarak kullanıldıkları bilinmektedir (Sarıkaya vd., 2010). Bu durumla paralel olarak alışmamızda Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron ile kombinasyonlarının da karbonik anhidraz I, II, IX enzim aktivitelerini inhibe ettiklerini ve kombinasyonların tek başına uygulanan kemoterapi ilaçlarına göre daha iyi inhibisyon gösterdikleri gözlemlenmiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlar bütün değerlendirildiğinde en iyi inhibisyon değerlerinin hücre hatlarına uygulanan konsantrasyonlarla hazırlanan kombinasyonlar için bulunduğu grlmştir.

5. SONUÇ

Çalışmamızda Elajik asidin, Dosetaksel'in, Mitoksantron'un ve Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksanton ile kombinasyonlarının antioksidan ve antiradikal aktiviteleri DPPH[•] serbest radikal giderme aktivitesi, ABTS^{•+} giderme aktivitesi, DMPD^{•+} giderme aktivitesi, Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesi, Frap indirgeme kapasitesi, Cu²⁺-Cu¹⁺ indirgeme kapasitesi yöntemlerine göre belirlenmiştir. Elde edilen bulgular Elajik asit, Dosetaksel ve Mitoksantron'un antioksidan ve antiradikal aktiviteye sahip olduğunu ancak kombinasyonların oluştukları maddelerden daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olmadıklarını göstermiştir. Bu sonuçların antioksidan enzim ve apoptoz sonuçlarını destekler yönde olduğu görülmektedir. Elajik asit, Dosetaksel, Mitoksantron ve Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron ile kombinasyonlarının MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki etkileri XTT yöntemine göre incelenmiş ve Elajik asit, Dosetaksel ve Mitoksantron'un MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve A549 insan akciğer kanser hücre hattında antiproliferatif etkilere sahip olduklarını gözlemlenmiştir. Ayrıca Elajik asidin Dosetaksel ile kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanmasıyla, kombinasyonu oluşturan maddelerin tek başlarına göstermiş olduklarından daha fazla antiproliferatif etki gösterdikleri gözlemlenmiştir. Elajik asit ile Dosetaksel'in kombinasyonu ile MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde artan antiproliferatif etki, kombinasyonu oluşturan maddelerin sinerjik etki gösterdikleri hesaplanan kombinasyon indeksi değeri ile desteklendiği gözlemlenmiştir. Elajik asidin Mitoksantron ile kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen bulguların, kombinasyonu oluşturan maddelerin antiproliferatif etkilerinden daha düşük olduğu ve artan konsantrasyon artışı ile lineerlik göstermediği gözlemlenmiştir. Çalışmamızda Elajik asidin Mitoksantron ile kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanmasıyla, kombinasyonu oluşturan maddelerin tek başlarına göstermiş olduklarından daha fazla antiproliferatif etki gösterdikleri gözlemlenmiştir. Elajik asit ile Mitoksantron'un kombinasyonu ile A549 insan akciğer kanser hücrelerinde artan antiproliferatif etki, kombinasyonu oluşturan maddelerin sinerjik etki gösterdikleri hesaplanan kombinasyon indeksi değeri ile desteklendiği gözlemlenmiştir. Elajik asidin Dosetaksel ile kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hattına 24 saat uygulanması ile elde edilen bulguların,

kombinasyonu oluşturan maddelerin antiproliferatif etkilerinden daha düşük olduğu ve artan konsantrasyon artışı ile lineerlik göstermediği gözlemlenmiştir.

Elajik asidin Dosetaksel ile kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve Elajik asidin Mitoksantron ile kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki apoptotik etkileri Annexin V Dead Cell Kit'i kullanılarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarından elde edilen bulgulara Elajik asidin Dosetaksel ile kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresinde apoptozu indüklediği tespit edilmiştir. Ayrıca Elajik asidin Mitoksantron ile kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücresinde de apoptozu indüklediği tespit edilmiştir.

Çalışmamızda Elajik asidin Dosetaksel ile kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve Elajik asidin Mitoksantron ile kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücre hattındaki katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon S-transferaz antioksidan enzim aktiviteleri Cayman test kitleri prosedürlerine göre tespit edilmiştir. Genel olarak antoksidan aktivite sonuçlarında var olan düşüşün antikanser etkisini destekler nitelikte olduğu görülmüştür..

Çalışmanın enzim aktivitesi açısından değerlendirilmesi önemli olan diğer bir enzimde karbonik anhidrazdır. Elajik asit ile Dosetaksel'in kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanser hücresine ve Elajik asit ile Mitoksantron'un kombinasyonunun A549 insan akciğer kanser hücresine 24 saat uygulanmasıyla alınan protein örneklerinde karbonik anhidraz enzim aktivitesi incelenmiştir. Çalışmamızda elde edilen bulgular neticesinde Elajik asidin Dosetaksel ve Mitoksantron ile kombinasyonlarının karbonik anhidraz aktivitesinin kontrollerden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Karbonik anhidraz enziminin hücrede artıyor olmayıp kontrole göre düşmüş olması; karbonik anhidraz enzim yüksekliğinin kanser hastalığı için bir biyobelirteç olduğu düşünüldüğünde olumlu bir sonuçtur.

Çalışmamızda son olarak Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonlarının bilinen en etkin konsantrasyonları hazırlanarak hCA I, II ve IX enzimleri üzerindeki etkileri esteraz aktivitesi kullanılarak araştırılmıştır.

Çalışılan bütün konsantrasyonlarda Elajik asit, kemoterapi ilaçları ve kombinasyonların hCA I, II ve IX enzimleri üzerinde inhibisyon etkisinin bulunduğu ve kombinasyonların kullanılan kemoterapi ilaçlarına göre daha yüksek inhibisyon değerlerine sahip oldukları gözlenmiştir. A549 hücre hattı çalışması için seçilen ve apoptoz testinin iyi sonuç verdiği Elajik asit + Mitoksantron (25:1 μ M) konsantrasyonunda hazırlanan kombinasyon sonuçlarında çalışılan tüm enzimlerde hem Mitoksantron hemde eljik asit için bulunan inhibisyon değerlerinin üstüne çıktığı

görülmüştür. MCF 7 için seçilip apoptoz testi için çalışılan Elajik asit + Dosetaksel (50:200 μ M) konsantrasyonunda hazırlanan kombinasyon sonuçlarında çalışılan tüm enzimlerde inhibisyon değerlerinin kemoterapi ilaçlarının üstüne çıktığı, Elajik asitle ise yakın değerlere sahip oldukları gözlemlenmiştir. hCAI, II ve IX izoenzimlerinin inhibitörlerinin etken ilaç maddeleri olarak glukoma, kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı göz önüne alındığında elde edilen sonuçlar bu açıdan da önemli niteliktedir.

Sonuç olarak Dosetaksel'in hem Elajik asit ile belirlenen hemde Mitoksantron için belirlenen kombinasyon konsantrasyonlarında antioksidan aktivite, enzim aktiviteleri çalışmaları ile ilgili olumlu sonuçlar elde edilmiş ve hücre kültürü çalışmalarında sinerjik etki gözlemlenmiştir. A549 kanser hücre hattına uygulanan 25: 1 μ M konsantrasyonunda hazırlanan Elajik asit ve Mitoksantron ve MCF-7 kanser hücre hattına uygulanan 50:200 μ M konsantrasyonunda hazırlanan Elajik asit ve Dosetaksel kombinasyonlarının en etkin dozlar olduğu, antikanser çalışmalarında apoptozu indükledikleri ve sinerjik etki gözlemlendiği, hücre hattı üzerine yapılan uygulamalar sonucu antioksidan enzim aktivite sonuçlarının ve hücre hattı dışındaki çalışmalarda kombinasyonların antioksidan aktivite sonuçlarının birbirlerini ve diğer sonuçları destekler nitelikte olduğu, CA I, II ve IX enzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerinin daha fazla olduğu ayrıca kemoterapi ilaçlarına göre daha olumlu sonuçlar elde edilmesi gibi durumlar göz önüne alındığında akciğer ve meme kanseri üzerinde etkili oldukları görülmektedir. Çalışmada elde edilen sonuçlar hem akciğer hemde meme kanseri için doğal maddelerin kemoterapi ilaçlarıyla beraber kullanımının uygunluğunu birçok yönüyle destekler nitelikte bulunmuştur.

KAYNAKÇA

- Abdel-Mohsen, H. T., El Kerdawy, A. M., Omar, M. A., Petreni, A., Allam, R. M., El Diwani, H. I. ve Supuran, C. T. (2022). Application of the dual-tail approach for the design and synthesis of novel Thiopyrimidine-Benzenesulfonamide hybrids as selective carbonic anhydrase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 228, 114004.
- Abuelsaad, A. S., Mohamed, I., Allam, G. ve Al-solumani, A. A. (2013). Antimicrobial and immunomodulating activities of hesperidin and ellagic acid against diarrheic *Aeromonas hydrophila* in a murine model. *Life Sciences*, 93, 714–722. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2013.09.019>
- Aggarwal, M., Boone, C. D., Kondeti, B. ve McKenna, R. (2013). Structural annotation of human carbonic anhydrases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28, 267-277.
- Agrawal, O. D. ve Kulkarni, Y. A. (2020). Mini-review of analytical methods used in quantification of ellagic acid. *Reviews in Analytical Chemistry*, 39, 31-44. <https://doi.org/10.1515/revac-2020-0113>
- Aguilar, T. A. F., Navarro, B. C. H. ve Perez, J. A. M. (2016). Endogenous antioxidants: A review of their role in oxidative stress, in: A master regulator of oxidative stress-the transcription factor Nrf2. *InTech*, 3-19.
- Ahire, V., Kumar, A., Mishra, K.P. ve Kulkarni, G. (2017). Ellagic acid enhances apoptotic sensitivity of breast cancer cells to γ -radiation. *Nutrition and Cancer*, 69, 904–910.
- Aiyer, H., Warri, A., Woode, D., Hilakivi-Clarke, L. ve Clarke, R. (2012). Influence of berry polyphenols on receptor signaling and cell-death pathways: Implications for breast cancer prevention. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 5693–5708. <https://doi.org/10.1021/jf204084f>
- Aktas, A., Barut Celepci, D., Gok, Y., Taslimi, P., Akincioglu, H. ve Gulcin, I. (2020). A novel ag-n-heterocyclic carbene complex bearing the hydroxyethyl ligand: Synthesis, characterization, crystal and spectral structures and bioactivity properties. *Crystals*, 10, 171.
- Ali, O. M., Bekhit, A. A., Khat tab, S. N., Helmy, M. W., Abdel-Ghany, Y. S., Teleb, M. ve Elzoghby, A. O. (2020). Synthesis of lactoferrin mesoporous silica

- nanoparticles for pemetrexed/ellagic acid synergistic breast cancer therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 188, 110824. doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.110824
- Alim, Z. (2018). 1H-indazole molecules reduced the activity of human erythrocytes carbonic anhydrase I and II isoenzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32, 22194. <https://doi.org/10.1002/jbt.22194>
- Alken, S. ve Kelly, C. A. (2013). Benefit risk assessment and update on the use of docetaxel in the management of breast cancer. *Cancer Management and Research*, 5, 357.
- Al-Otaibi, J. S., Wasli, Y. ve ElGogary, T. M. (2018). Theoretical and experimental studies on anticancer drug mitoxantrone. *Journal of Molecular Structure*, 1173, 837-884.
- Altay, A., Caglar, S. ve Caglar, B. (2019). Silver(I) complexes containing diclofenac and niflumic acid induce apoptosis in human-derived cancer cell lines. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 1-11.
- Alterio, V., Di Fiore, A., D'Ambrosio, K., Supuran, C. T. ve De Simone, G. (2012). Multiple binding modes of inhibitors to carbonic anhydrases: how to design specific drugs targeting 15 different isoforms ? *Chemical Reviews*, 112, 4421-4468.
- Alterio, V., Hilvo, M., Di Fiore, A., Supuran, C. T., Pan, P., Parkkila, S., ... De Simone, G. (2009). Crystal structure of the catalytic domain of the tumor-associated human carbonic anhydrase IX. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 6233–16238.
- Alyar, S., Özdemir Özmen, Ü., Adem, S., Alyar, H., Bilen, E. ve Kaya, K. (2021). Synthesis, spectroscopic characterizations, carbonic anhydrase II inhibitory activity, anticancer activity and docking studies of new Schiffbases of sulfa drugs. *Journal of Molecular Structure*, 1223, 128911.
- American Cancer Society (2013). *Cancer Facts & Figures*. Atlanta: American cancer Society.
- American Psychological Association (2018). Breast cancer. Erişim 10.05.2022. <https://www.apa.org/helpcenter/breast-cancer.aspx>
- Anantharaju, P. G., Gowda, P. C., Vimalambike, M. G. ve Madhunapantula, S. V. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutrition Journal*, 15, 1–16.

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. ve Erça, E., (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 292–304.
- Arıkan, F. ve Kurt, S. (2014). Onkoloji hemşireliği G. Can (Der.) Periferik nöropati içinde (ss. 489-495). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti.
- Armstrong, C. M. ve Gao, A. C. (2015). Drug resistance in castration resistant prostate cancer: resistance mechanisms and emerging treatment strategies. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, 3, 64-76.
- Aslan, F. E., Olgun, N., Uzun, Ö. ve Uslu, Y. (2014). *Dahili ve Cerrahi Hastalıklarda Bakım*. A. Karadakovan ve F. E. Aslan (Der.), Onkoloji içinde (ss. 183-209). Ankara, Akademisyen Tıp Kitabevi.
- Aslan, Ö., Vural, H., Kömürcü, Ş. ve Özet, A. (2006). Kemoterapi alan kanser hastalarına verilen eğitimin kemoterapi semptomlarına etkisi. *Çukurova Üniversitesi Hemsirelik Yüksekokulu Dergisi*, 10, 15-28.
- Aygüneş, D. D., (2014). *Meme kanseri hücre hatlarında trastuzumab, Dosetaksel ve fukoidanın tek ajan ve kombine ajanlar olarak kullanılmasının apoptoz ve hücre toksisitesine etkisi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.*
- Ayvaz, İ. (2019). *Ayaktan kemoterapi alan kanser hastalarının karşılanmamış destekleyici bakım gereksinimlerinin yaş bağlamında incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.*
- Azamjah, N., Soltan-Zadeh, Y. ve Zayeri, F. (2019). "Global trend of breast cancer mortality rate: A 25 year study". *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 20, 2015–20.
- Azarenko, O., Smiyun, G., Mah, J., Wilson, L. ve Jordan, M. A. (2014). Antiproliferative mechanism of action of the novel taxane cabazitaxel as compared with the parent compound docetaxel in MCF7 breast cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 13, 2092–2103. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-14-0265>
- Badr-Eldin, S. M., Aldawsari, H. M., Fahmy, U. A., Ahmed, O. A. A., Alhakamy, N. A., Al-hejaili, O. D., ... Tima, S. (2022). Optimized apamin-mediated nano-lipidic carrier potentially enhances the cytotoxicity of ellagic acid against human breast cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 9440. <https://doi.org/10.3390/ijms23169440>

- Bahman, F., Elkaissi, S., Greish, K. ve Taurin, S. (2019). Polymeric micelles in management of lung cancer, in: Nanotechnology-based targeted drug delivery systems for lung cancer. *Elsevier*, 193–216.
- Bal, S., Kaya, R., Gok, Y., Taslimi, P., Aktaş, A., Karaman, M. ve Gulcin, I. (2019). Novel 2-methylimidazolium salts: Synthesis, characterization, molecular docking, and carbonic anhydrase and acetylcholinesterase inhibitory properties. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 23, 103468. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103468>
- Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Baradaran Rahimi, V., Ghadiri, M., Ramezani, M. ve Askari, V. R. (2020). Anti-inflammatory and anti-cancer activities of pomegranate and its constituent, ellagic acid: Evidence from cellular, animal, and clinical studies. *Phytotherapy Research*, 34, 685–720.
- Barros, H. ve Junior, M. R. B. (2019). Phenolic compound bioavailability using in vitro in vivo models, (editör: Campos, M.R.S.), *Bioactive compounds health benefits and potential applications*, Woodhead publishing, USA, 113-126.
- Basch, E. M., Scholz, M., de Bono, J. S., Vogelzang, N., de Souza, P., Marx, G., ... Scher, H. I. (2019). Cabozantinib versus mitoxantrone-prednisone in symptomatic metastatic castrationresistant prostate cancer: a randomized phase 3 trial with a primary pain endpoint. *European Urology*, 75, 929–937. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.11.033>
- Baykara, O. (2016). Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimler Dergisi*, 5, 154-165.
- Bayram, E., Senturk, M., Kufrevioglu, O. I. ve Supuran, C. T. (2008). In vitro inhibition of salicylic acid derivatives on human cytosolic carbonic anhydrase isozymes I and II. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 9101– 9105. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.09.028>
- Bellmunt, J. ve Oh, W. K. (2010). Castration-resistant prostate cancer: New science and therapeutic prospects. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 2, 189-207. doi: 10.1177/1758834009359769
- Bhattacharyya, J., Basu, A. ve Kumar, G.S. (2014). Intercalative interaction of the anticancer drug mitoxantrone with double stranded DNA: A calorimetric

- characterization of the energetics. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 75, 45–51.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1199–1200.
- Boksha, I. S., Prokhorova, T. A., Savushkina, O. K. ve Tereshkina, E. B. (2017). Klotho Protein: Its Role in Aging and Central Nervous System Pathology. *Biochemistry*, 82, 990–1005. doi: 10.1134/S0006297917090024
- Borghaei, H., Paz-Ares, L., Horn, L., Spigel, D. R., Steins, M., Ready, N. E., ... Brahmer, J. R. (2015). Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 373, 1627–1639. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1507643>
- Bouayed, J. ve Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants - Double-edged swords in cellular redox state. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3, 228–237. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>
- Brahmer, J., Reckamp, K. L., Baas, P., Crino, L., Eberhardt, W. E., Poddubskaya, E., ... Spigel, D. R. (2015). Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 373, 123–135. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1504627>
- 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, 394–424.
- Buczowski, A., Tokarz, P., Stepniak, A., Lewkowski, J., Rodacka, A. ve Palecz, B. (2019). Spectroscopic and calorimetric studies of interactions between mitoxantrone and cucurbituril Q7 in aqueous solutions. *Journal of Molecular Liquids*, 290, 111190.
- Cao, L. B., Zeng, S. ve Zhao, W. (2016). Highly stable pegylated poly(lactic coglycolic acid) (plga) nanoparticles for the effective delivery of docetaxel in prostate cancers. *Nanoscale Research Letters*, 11, 305.
- Capasso, C. ve Supuran, C. T. (2015). An overview of the alpha-, beta- and gamma-carbonic anhydrases from Bacteria: Can bacterial carbonic anhydrases shed new light on evolution of bacteria? *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30, 325–32.
- Carta, F., Supuran, C. T. ve Scozzafava, A. (2014). Sulfonamides and their isosters as carbonic anhydrase inhibitors. *Future Medicinal Chemistry*, 6, 1149–1165.

- Cecerska-Heryć, E., Surowska, O., Heryć, R., Serwin, N., Napiontek-Balińska, S. ve Dołęgowska, B. (2021). Are antioxidant enzymes essential markers in the diagnosis and monitoring of cancer patients – A review. *Clinical Biochemistry*, 93, 1-8.
- Ceci, C., Lacal, P., Tentori, L., De Martino, M., Miano, R. ve Graziani, G. (2018). Experimental evidence of the antitumor, antimetastatic and antiangiogenic activity of ellagic acid. *Nutrients*, 10, 1756. <https://doi.org/10.3390/nu10111756>
- Chafe, S. C., Vizeacoumar, F. S., Venkateswaran, G., Nemirovsky, O., Awrey, S., Brown, W. S., ... Dedhar, S. (2021). Genome-wide synthetic lethal screen unveils novel CAIX-nfs1/xct axis as a targetable vulnerability in hypoxic solid tumors. *Science Advances*, 7, 0364.
- Chai, H., Wu, J., Liu, J., Liu, T., Ren, Q. ve Zheng, X. (2021). δ -tocopherol enhances docetaxel-induced growth inhibition and apoptosis in ovarian cancer SKOV3 cells. *Natural Product Communications*, 16, 1–8.
- Chang, W., (2017). MicroRNA-33a promotes cell proliferation and inhibits apoptosis by targeting PPAR α in human hepatocellular carcinoma. *Experimental and therapeutic medicine*, 13, 2507-2514.
- Chen S. K., Hsu, C. H., Tsai, M. L., Chen, R. H. ve Drummen, G. P. C. (2013). Inhibition of oxidative stress by low-molecular- weight polysaccharides with various functional groups in skin fibroblasts. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 19399–415.
- Chen, H., Bai, M., Zhang, T., Li, G. ve Liu, M. (2015). Ellagic acid induces cell cycle arrest and apoptosis through TGF- β /Smad3 signaling pathway in human breast cancer MCF-7 cells. *International Journal of Oncology*, 46, 1730-1738. <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2870>
- Chen, P., Chen, F. ve Zhou, B. (2018). Antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of ellagic acid in liver and brain of rats treated by D-galactose. *Scientific Reports*, 8, 1465. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19732-0>
- Cheshomi, H., Bahrami, A. ve Matin, M. (2020). Ellagic acid and human cancers: A systems pharmacology and docking study to identify principal hub genes and main mechanisms of action. *Molecular Diversity*, 25, 333–349.
- Chou, T. C. (2006). Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacological Reviews*, 58, 621–681.

- Chou, T. C. (2008). Preclinical versus clinical drug combination studies. *Leukemia and Lymphoma*, 49, 2059–2080.
- Chou, T.C. (2010). Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Research*, 70, 440–446.
- Coffey, K., Blackburn, T. J., Cook, S., Golding, B. T., Griffin, R. J., Hardcastle, I. R., ... Robson, C. N. (2012). Characterisation of a Tip60 specific inhibitor, NU9056, in prostate cancer. *Public Library of Science one*, 7, 45539.
- Cong-Cong, X., Bing, W., Yi-Qiong, P., Jian-Sheng, T. ve Tong, Z. (2017). Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15, 0721-0731.
- Cortese, M. (2020). Cancer. In: Harding MM, Kwong J, Roberts D, Hagler D, Reinisch C (eds). Lewis's medical-surgical nursing assessment and management of clinical problems, 11th ed. Canada. *Elsevier*, 957-1069.
- Costa, D. C., Costa, H. S., Gonçalves Albuquerque, T., Ramos, F., Castilho, M. C. ve Sanches-Silva, A. (2015). Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends in Food Science and Techonology*, 45, 2, 336-354.
- Courneya, K. S., Katzmarzyk, P. T. ve Bacon, E. (2008). Physical activity and obesity in canadian cancer survivors: Population-based estimates from the 2005 Canadian Community Health Survey. *Cancer*, 112, 2475-2482.
- Cullinane, C., Shrestha, A., Al Maksoud, A., Rothwell, J., Evoy, D., Geraghty, J., ... Prichard, R. S. (2021). Optimal timing of surgery following breast cancer neoadjuvant chemotherapy: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Surgical Oncology*, 47, 1507-1513.
- Çanga, N. (2013). *Solid tümörlü çocuklarda kemoterapiye bağlı tat değişimi ve beslenme durumlarının değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Çelik, G., Semiz, A., Karakurt, S., Arslan, S., Adali, O. ve Sen, A. (2014). Erratum to “A comparative study for the evaluation of two doses of ellagic acid on hepatic drug metabolizing and antioxidant enzymes in the rat”. *BioMed Research International*, 2014, 2. <https://doi.org/10.1155/2014/476290>
- Da Rosa, A. P. P., Cavalcante, R. P., Da Silva, D. A., Da Silva, L.D.M., Da Silva, T.F. Gozzi, F., ... Wender, H. (2019). H₂O₂-assisted photoelectrocatalytic degradation of Mitoxantrone using CuO nanostructured films: Identification of by-products

- and toxicity. *Science of the Total Environment*, 651, 2845–2856. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.173>
- da Silva, G. H., Fernandes, M. A., Trevizan, L. N. F., de Lima, F. T., Eloy, J. O. ve Chorilli, M. (2018). A critical review of properties and analytical methods for the determination of docetaxel in biological and pharmaceutical matrices. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48, 517–527. <https://doi.org/10.1080/10408347.2018.1456315>
- Damiani, R. M., Moura, D. J., Viau, C. M., Brito, V., Morás, A. M., Henriques, J. A. P. ve Saffi, J. (2018). Influence of PARP-1 inhibition in the cardiotoxicity of the topoisomerase 2 inhibitors doxorubicin and mitoxantrone. *Toxicology in Vitro*, 52, 203-213.
- Dávalos, J. Z., Lima, C. F., Santos, L. M., Romero, V. L. ve Liebman, J. F. (2019). Thermochemical and structural studies of gallic and ellagic acids. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 129, 108–113. doi: 10.1016/j.jct.2018.09.027
- de Castro Sant' Anna, C., Junior, A., Soares, P., Tuji, F., Paschoal, E., Chaves, L. C. ve Burbano, R. R. (2018). “Molecular biology as a tool for the treatment of cancer”. *Clinical and experimental medicine*, 18, 457–464.
- de Oliveira Cardoso, E., Santiago, K. B., Conti, B. J., Conte, F. L., Tasca, K. I., Romagnoli, G. G., ... Sforcin, J. M. (2022). Brazilian green propolis: A novel tool to improve the cytotoxic and immunomodulatory action of docetaxel on MCF-7 breast cancer cells and on women monocyte. *Phytotherapy Research*, 36, 448 – 461. <https://doi.org/10.1002/ptr.7345>
- De Simone, G., Alterio, V. ve Supuran, C. T. (2013). Exploiting the hydrophobic and hydrophilic binding sites for designing carbonic anhydrase inhibitors. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 8, 793-810.
- De Simone, G., Di Fiore, A., Capasso, C. ve Supuran, C. T. (2015). The zinc coordination pattern in the eta-carbonic anhydrase from *Plasmodium falciparum* is different from all other carbonic anhydrase genetic families. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 1385-1389.
- Delgado, J. L., Hsieh, C. M., Chan, N. L. ve Hiasa, H. (2018). Topoisomerases as anticancer targets. *Biochemical Journal*, 475, 373-398.
- Derksen, T. M. E., Bours, M. L. J., Mols, F. ve Weijnberg, M. P. (2017). Lifestyle related factors in the self management of chemotherapy induced peripheral neuropathy in colorectal cancer: a systematic review. *Evid Based Complement Alternat Medicine*, 2017, 7916031.

- Derosa, G., Maffioli, P. ve Sahebkar, A. (2016). Ellagic acid and its role in chronic diseases. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 928, 473–479.
- Dhingra, D. ve Chhillar, R. (2012). Antidepressant-like activity of ellagic acid in unstressed and acute immobilization-induced stressed mice. *Pharmacological Reports*, 64, 796–807.
- Dhingra, D. ve Jangra, A. (2014). Antiepileptic activity of ellagic acid, a naturally occurring polyphenolic compound, in mice. *Journal of Functional Foods*, 10, 364–369. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.011>
- Dhupal, M. ve Chowdhury, D. (2020). “Phytochemical-based nanomedicine for advanced cancer theranostics: perspectives on clinical trials to clinical use”. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 9125–9157.
- Dieci, M.V., Orvieto, E., Dominici, M., Conte, P. ve Guarneri, V. (2014). Rare breast cancer subtypes: histological, molecular, and clinical peculiarities. *Oncologist*, 19, 805–813.
- Dolu, S. (2021). *Kemoterapi tedavisi alan hastalarda tat alma değişikliğinin yaşam kalitesine etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.*
- Duan, J., Li, Y., Gao, H., Yang, D., He, X., Fang, Y. ve Zhou, G. (2020). Phenolic compound ellagic acid inhibits mitochondrial respiration and tumor growth in lung cancer. *Food and Function*, 11, 6332. Doi: 10.1039/D0F01177K
- Durante, S., Dunet, V., Gorostidi, F., Mitsakis, P., Schaefer, N., Delage, J. ve Prior, J. O. (2020). Head and neck tumors angiogenesis imaging with 68Ga-NODAGA-RGD in comparison to 18F-FDG PET/CT: A pilot study. *EJNMMI Research*, 10, 1–11.
- Dvořánová, J., Kugler, M., Holub, J., Šícha, V., Das, V., Nekvinda, J., ... Řezáčová, P. (2020). Sulfonamido carboranes as highly selective inhibitors of cancer-specific carbonic anhydrase IX. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 200, 112460. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112460>
- El-Garhy, A. M., Abd El-raouf, O. M., El-sayeh, B. M., Fawzy, H. M. ve Abdallah, D. M. (2014). Ellagic acid anti-inflammatory and antiapoptotic potential mediate renoprotection in cisplatin nephrotoxic rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 28, 472–479. <http://dx.doi.org/10.1002/jbt.21587>
- El-Shitany, N., Aymn, A., Soad, A., Basma, E., Steve, H., Thikryat, N., ... Shaker, M. (2019). Nanoparticles ellagic acid protects against cisplatin-induced hepatotoxicity in rats without inhibiting its cytotoxic activity. *International Journal of Pharmacology*, 15, 465–477. <https://doi.org/10.3923/ijp.2019.465.477>

- El-Shitany, N., El-Bastawissy, E. ve El-desoky, K. (2014). Ellagic acid protects against carrageenan-induced acute inflammation through inhibition of nuclear factor kappa B, inducible cyclooxygenase and proinflammatory cytokines and enhancement of interleukin-10 via an antioxidant. *International Immunopharmacology*, 19, 290–299. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2014.02.004>
- Embuscado, M. E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - A mini review. *Journal of Functional Foods*, 18, 811–819.
- Enache, M., Toader, M. ve Enache, M. I. (2016). Mitoxantrone-surfactant interactions: A physicochemical overview. *Molecules*, 21, 1356.
- Entezari Heravi, Y., Sereshti, H., Saboury, A. A., Ghasemi, J., Amirmostofian, M., ve Supuran, C. T. (2017). 3D QSAR studies, pharmacophore modeling, and virtual screening of diarylpyrazole-benzenesulfonamide derivatives as a template to obtain new inhibitors, using human carbonic anhydrase II as a model protein. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32, 688–700. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1241781>
- Eroğlu, A. ve Çiçek, E. (2014). Meme kanserinde moleküler alt tiplere göre cerrahi tedavi yaklaşımları. *Yeni Tıp Dergisi*, 31, 83-87.
- Ertekin, F. (2021). *Hipotiroidizm oluşturulan ratlarda kapsaisinin kan plazmasında bazı serbest radikal ve antioksidan sistem parametreleri üzerine etkisi. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya.*
- Evison, B. J., Sleebs, B. E., Watson, K. G., Phillips, D. R. ve Cutts, S. M. (2016). Mitoxantrone, more than just another topoisomerase II poison. *Medicinal Research Reviews*, 36, 248–299. <https://doi.org/10.1002/med.21364>
- Evtuguin, D. D., Magina, S. ve Evtuguin, D. V. (2020). Recent advances in the production and applications of ellagic acid and its derivatives. A review. *Molecules*, 25, 2745.
- Ezer, M. (2019). *Akciğer kanserinde karbolatin ve kurkumin kombinasyonlarının oksidatif stres üzerindeki etkisi. Yüksek Lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.*
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D., Piñeros, M., ... Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: Globocan sources and methods. *International Journal of Cancer*, 144, 1941–1953.

- Ferreira, S. S., Silva, A. M. ve Nunes, F. M. (2018). Citrus reticulata Blanco peels as a source of antioxidant and anti-proliferative phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, 111, 141–148.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G. ve Ritiene, A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1035-1040.
- Fotie, J. (2010). ChemInform abstract: the potential of ellagic acid as a possible antimalarial drug candidate. *Current Bioactive Compounds*, 6, 161-177.
- Fox, E. J. (2006). Management of worsening multiple sclerosis with mitoxantrone: A review. *Clinical Therapeutics*, 28, 461-74.
- Frost, S. C. (2014). Physiological functions of the alpha class of carbonic anhydrases. carbonic anhydrase: Mechanism, regulation, links to disease, and industrial applications. *Springer*, 9-30.
- Galano, A., Francisco Marquez, M. ve Pérez-González, A. (2014). Ellagic acid: An unusually versatile protector against oxidative stress. *Chemical Research in Toxicology*, 27, 904–918. <https://doi.org/10.1021/tx500065y>
- Galasso, M., Gambino, S., Romanelli, M. G., Donadelli, M. ve Scupoli, M. T. (2021). Browsing the oldest antioxidant enzyme: Catalase and its multiple regulation in cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 172:264-272. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.010
- Garcia-Nino, W. R. ve Zazueta, C. (2015). Ellagic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in liver protection. *Pharmaceutical Research*, 97, 84–103. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.04.008>
- Gazdar, A. F., Bunn, P. A. ve Minna, J. D. (2017). Small-cell lung cancer: What we know, what we need to know and the path forward. *Nature Reviews Cancer*, 17, 725.
- Gebicka, L. ve Krych-Madej, J. (2019). The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 197, 110699.
- George, S. ve Abrahamse, H. (2020). Redox potential of antioxidants in cancer progression and prevention. *Antioxidants*, 9, 1156. <https://doi.org/10.3390/antiox9111156>
- Gill, S. S., Anjum, N. A., Hasanuzzaman, M., Gill, R., Trivedi, D.K.; Ahmad, I., ... Tuteja, N. (2013). Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for

- plant abiotic stress defense operations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 204–212.
- Gilmour, K. M. (2010). Comparative biochem and physiology. *Molecular and Integrative Physiology*, 157, 193–202.
- Girish, C., Raj, V., Arya, J. ve Balakrishnan, S. (2013). Involvement of the GABAergic system in the anxiolytic-like effect of the flavonoid ellagic acid in mice. *European Journal of Pharmacology*, 710, 49–58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.04.003>
- Global Cancer Observatory: Cancer Today. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France. Available at: <https://gco.iarc.fr/today> (Erişim: 15.09.2022).
- Godet, I. ve Gikes, D. M. (2017). BRAC1 and BRAC2 mutations and treatment strategies for breast cancer. *Integrative Cancer Science and Therapeutics*, 4.
- Granja, A., Lima-Sousa, R., Alves, C. G., de Melo-Diogo, D., Pinheiro, M., Sousa, C. T., ... Reis, S. (2021). Mitoxantrone-loaded lipid nanoparticles for breast cancer therapy – quality-by-design approach and efficacy assessment in 2D and 3D in vitro cancer models. *International Journal of Pharmaceutics*, 607, 121044.
- Grgic, J., Šelo, G., Planinic, M., Tišma, M. ve Bucic-Kojic, A. (2020). Role of the encapsulation in bioavailability of phenolic compounds. *Antioxidants*, 9, 923. doi:10.3390/antiox9100923
- Gucalp, A., Traina, T. A., Eisner, J. R., Parker, J. S., Selitsky, S. R., Park, B. H., ... Cardoso, F. (2019). Male breast cancer: A disease distinct from female breast cancer. *Breast Cancer Research And Treatment*, 173, 37–48. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4921-9>
- Guerriero, E., Sorice, A., Capone, F., Napolitano, V., Colonna, G., Storti, G., ... Costantini, S. (2014). Vitamin C effect on mitoxantrone-induced cytotoxicity in human breast cancer cell lines. *PLoS ONE*, 9, 115287. doi:10.1371/journal.pone.0115287
- Gupta, D. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 6, 546-566.
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.
- Güngör, G. M. (2022). Covid-19 pandemisi esnasında kemoterapi tedavisi gören kanser hastalarında stres ve beslenme. *Yüksek Lisans tezi, Biruni Üniversitesi, İstanbul*.
- Günsel, A., Bilgiçli, A. T., Barut, B., Taslimi, P., Ozel, A., Gulcin, I., ... Yarasir, N. (2020). Synthesis of water soluble tetra-substituted phthalocyanines: Investigation

- of DNA cleavage, cytotoxic effects and metabolic enzyme inhibition. *Journal of Molecular Structure*, 214, 128210.
- Haapasalo, J., Nordfors, K., Haapasalo, H. ve Parkkila, S. (2020). The expression of carbonic anhydrases ii, IX and XII in brain tumors. *Cancers*, 12, 1723.
- Habtemariam, S. ve Varghese, G.K. (2014). The antidiabetic therapeutic potential of dietary polyphenols. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 15, 391–400.
- Hashemi, M., Haghgooü, Z., Yazdian-Robati, R., Shahgordi, S., Salmasi, Z. ve Abnous, K. (2021). Improved anticancer efficiency of Mitoxantrone by Curcumin loaded PLGA nanoparticles targeted with AS1411 aptamer. *Nanomedicine Journal*, 8, 21-29.
- Hassan, Md. I., Shajee, B., Waheed, A., Ahmad, F. ve Sly, W. S. (2013). Structure, function and applications of carbonic anhydrase isozymes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21,1570–1582.
- Hayes, M. ve Pearson, J. S. (2017). Detecting large deletions at base pair level by combining split read and paired read data. *BMC Bioinformatics*, 18, 413.
- Hazafa, A., Iqbal, MO, Javaid, U. Tareen, M. B. K., Amna, D., Ramzan, A., Piracha, S. ve Naeem, M. (2022). Inhibitory effect of polyphenols (phenolic acids, lignans, and stilbenes) on cancer by regulating signal transduction pathways: A review. *Clinical and Translational Oncology*, 24, 432–445. <https://doi.org/10.1007/s12094-021-02709-3>
- Heber, D. (2008). Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins. *Cancer Letters*, 269, 262-268.
- Hejazi, E., Tavakoli, M., Jeddi-Tehrani, M., Kimiagar, M., Hejazi, J., Houshyari, M., ... Idali, F. (2017). Investigating the antiangiogenic, anti-drug resistance and apoptotic effects of soy isoflavone extract alone or in combination with docetaxel on murine 4t1 breast tumor model. *Nutrition and Cancer*, 69, 1036-1042. Doi: 10.1080/01635581.2017.1359316
- Hirko, K. A., Chai, B., Spiegelman, D., Campos, H., Farvid, M. S., Hankinson, S. E., ... Eliassen, A. H. (2018). Erythrocyte membrane fatty acids and breast cancer risk: A prospective analysis in the nurses' health study II. *International Journal of Cancer*, 142, 1116-1129.
- Ho, C. J., Zheng, S., Comhair, S. A., Farver, C. ve Erzurum, S. C. (2001). Differential expression of manganese superoxide dismutase and catalase in lung cancer. *Cancer Research*, 61, 8578–8585.

- Ighodaro, O. M. ve Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 287–293.
- Ignat, I., Volf, I. ve Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126, 1821–1835.
- Imran, M., Saleem, S., Chaudhuri, A., Ali, J. ve Baboota, S. (2020). Docetaxel: An update on its molecular mechanisms, therapeutic trajectory and nanotechnology in the treatment of breast, lung and prostate cancer. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60, 101959.
- Israel, B. B., Tilghman, S. L., Parker-Lemieux, K. ve Payton-Stewart, F. (2018). Phytochemicals: Current strategies for treating breast cancer. *Oncology Letters*, 15, 7471-7478. doi: 10.3892/ol.2018.8304
- Jaman, M. ve Sayeed, M. (2018). Ellagic acid, sulforaphane, and ursolic acid in the prevention and therapy of breast cancer: current evidence and future perspectives. *Breast Cancer*, 25, 517–528. <https://doi.org/10.1007/s12282-018-0866-4>
- Jensen, E. L., Clement, R., Kosta, A, Maberly, S. C. ve Gontero, B. (2019). A new widespread subclass of carbonic anhydrase in marine phytoplankton. *The ISME Journal*, 13, 2094-2106.
- Kabataş, E. (2008). *Meme kanseri hastalarının kansere uyumlarının belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.*
- Kamińska, M., Ciszewski, T., Łopacka-Szatan, K., Miotła, P. ve Starosławska, E. (2015). Breast cancer risk factors. *Przegląd Menopauzalny*, 4, 196–202.
- Kang, W., Feng, L., Xiang, Z., Huyue, L. Z. ve Hongyuan, L. (2016). Smoking increases risks of all-cause and breast cancer specific mortality in breast cancer individuals: A dose-response meta-analysis of prospective cohort studies involving 39725 breast cancer cases. *Oncotarget*, 7, 83134–83147.
- Kannan, M. M. ve Quine, S. D. (2012). Ellagic acid protects mitochondria from β -adrenergic agonist induced myocardial damage in rats: Evidence from in vivo, in vitro and ultra structural study. *Food Research International*, 45, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.018>
- Kantar, K. N. (2019). *Kızılıçık meyvesinden (cornus mas) ohmik destekli mikrodalga ve ultrasonik yöntemleri ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.*

- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1.
- Karasawa, M. M. G. ve Mohan, C. (2018). Fruits as prospective reserves of bioactive compounds: A review. *Natural Products and Bioprospecting*, 8, 335–346.
- Karimov, A., Orujova, A., Taslimi, P., Sadeghian, N., Mammadov, B., Karaman, H. S., ... Gulcin, I. (2020). Novel functionally substituted esters based on sodium diethyldithiocarbamate derivatives: Synthesis, characterization, biological activity and molecular docking studies. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 99, 103762.
- Kaynar, H., Meral, M., Turhan, H., Keles, M., Celik, G. ve Akcay, F. (2005). Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Letters*, 227, 133–139.
- Kazokaite, J., Aspatwar, A., Parkkila, S. ve Matulis, D. (2017). An update on anticancer drug development and delivery targeting carbonic anhydrase IX. *PeerJ*, 5, 4068.
- Keikha, M. ve Esfahani, B. N. (2018). The relationship between tuberculosis and lung cancer. *Advanced Biomedical Research*, 7, 58.
- Kenneth, R. H. (2008). Topoisomerase II inhibitors. *Update on Cancer Therapeutics*, 3, 13-26. <https://doi.org/10.1016/j.uct.2008.02.001>
- Kern, K. M. ve Schroeder, J. R. (2014). Comparison of cantharidin toxicity in breast cancer cells to two common chemotherapeutics. *International Journal of Breast Cancer*, 1–7.
- Khanduja, K. L., Avti, P. K., Kumar, S., Mittal, N., Sohi, K. K. ve Pathak, C. M. (2006). Anti-apoptotic activity of caffeic acid, ellagic acid and ferulic acid in normal human peripheral blood mononuclear cells: A Bcl-2 independent mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760, 283–289.
- Kılıç, I., Yesiloğlu, Y. ve Bayrak, Y. (2014) Spectroscopic studies on the antioxidant activity of ellagic acid. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, 447–452. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.04.052>
- Kim, Y., Zerín, T. ve Song, H. Y. (2013). Antioxidant action of ellagic acid ameliorates paraquat-induced a549 cytotoxicity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 609-615.
- Kowalczyk, T., Sitarek, P., Skala, E., Toma, M., Wielanek, M., Pytel, D., ... Śliwiński, T. (2019). Induction of apoptosis by in vitro and in vivo plant extracts derived

- from *Menyanthes trifoliata* L. in human cancer cells. *Cytotechnology*, 71, 165–180. <https://doi.org/10.1007/s10616-018-0274-9>
- Köksal, Z., Alim, Z., Bayrak, S., Gülcin, İ. ve Özdemir, H. (2019). Investigation of the effects of some sulfonamides on acetylcholinesterase and carbonic anhydrase enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33, 22300. <https://doi.org/10.1002/jbt.22300>
- Kubo, I., Xiao, P. ve Fujita, K. (2011). Antifungal activity of octyl gallate: Structural criteria and mode of action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11, 347-50.
- Kumar, N. ve Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 20, 00370. [doi:10.1016/j.btre.2019.e00370](https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370)
- Kumar, S., Rulhania, S., Jaswal, S. ve Monga, V. (2021). Recent advances in the medicinal chemistry of carbonic anhydrase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112923.
- Kumaran, K. S. ve Prince, P. S. M. (2010). Caffeic acid protects rat heart mitochondria against isoproterenol-induced oxidative damage. *Cell Stress Chaperone*, 15, 791–806.
- Kuo, M. Y., Ou, H. C., Lee, W. J., Kuo, W. W., Hwang, L. L., Song, T. Y., ... Sheui W. H. (2011). Ellagic acid inhibits oxidized low-density lipoprotein (OxLDL)-induced metalloproteinase (MMP) expression by modulating the protein kinase C-extracellular signal-regulated kinase/peroxisome proliferator-activated receptor nuclear factor- κ B (PKC- α /ERK). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5100–5108. <http://dx.doi.org/10.1021/jf1041867>
- Kurt, H., Keşkek, Ş. Ö., Çil, T. ve Canataroğlu, A. (2013). Meme kanserli hastalarda tamamlayıcı/alternatif tedavi kullanımı. *Türk Onkoloji Dergisi*, 28, 10-15.
- Kurt, N. (2016). MCF-7 meme kanseri hücre kültüründe Dozetakselin *sin3a*, *mdm2* ve *p53* gen ekspresyonu üzerine etkisi. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Kurup, S. R., Nair, A. S. ve Baby, S. (2018). Citrus peels prevent cancer. *Phytomedicine*, 50, 231–237.
- Kutlu, H. M., İzgördü, H., Çömlekçi, E. ve Veyselova, D. (2019). Ellajik asidin insan akciğer kanseri üzerine antiproliferatif etkinliklerinin in vitro araştırılması. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 6. <https://doi.org/10.35193/bseufbd.600099>

- Lapornik, B., Prosek, M. ve Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71, 214–222.
- Lattanzio, V. (2013). “Phenolic compounds: introduction”, natural products: Phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes. *Springer*, 1543-1580.
- Le, C. T. (2014). Experiment designs for the assessment of drug combination synergism. *Austin Biometrics and Biostatistics*, 1, 6.
- Lee, J. H., Won, J. H., Choi, J. M., Cha, H. H., Jang, Y. J., Park, S., ... Kim, D. K. (2014). Protective effect of ellagic acid on con-canavalin a-induced hepatitis via toll-like receptor and mitogen-activated protein kinase/nuclear factor κ B signaling pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 10110-7. <http://dx.doi.org/10.1021/jf503188c>
- Lennan, E. (2011). Chemotherapy as a treatment for breast cancer. Breast cancer nursing care and management. Second Edition, London, Blackwell Publishing, 149-172.
- Leppilampi, M., Koistinen, P., Savolainen, E. R., Hannuksela, J., Parkkila, A. K., Niemela, O., ... Rajaniemi, H. (2002). The expression of carbonic anhydrase ii in hematological malignancies. *Clinical Cancer Research*, 8, 2240-2245.
- Liu, Q., Liang, X., Niu, C. ve Wang, X. (2018). Ellagic acid promotes A549 cell apoptosis via regulating the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16, 347-352.
- Lim, H.-K., Kim, K. M., Jeong, S.-Y., Choi, E. K. ve Jung, J. (2017). Chrysin increases the therapeutic efficacy of docetaxel and mitigates docetaxel- induced edema. *Integrative Cancer Therapies*, 16, 496– 504.
- Lu, L., Zhang, M., Wang, X., Zhang, Y., Chai, Z., Ying, M., ... Lu W. (2020). Baicalein enhances the antitumor efficacy of docetaxel on nonsmall cell lung cancer in a β -catenin-dependent manner. *Phytotherapy Research*, 34, 104–117.
- Luna-guevera, L., Luna-guevera, J. J., Hernandez-Carranza, P., Ruiz-Espinosa, H. ve Ochoa-Velasco, C. E. (2018). Phenolic compounds: A good choice against chronic degenerative diseases. *Studies in Natural Products Chemistry*, 59, 79-109.
- Lynch, B. M., Neilson, H. K. and Friedenreich, C. M. (2011). Physical activity and breast cancer prevention. *Recent Results in Cancer Research*, 186, 13-42.
- Mady, F. ve Shaker, M. (2017). Enhanced anticancer activity and oral bioavailability of ellagic acid through encapsulation in biodegradable polymeric nanoparticles.

- Mager, R., Savko, O., Bohm, K., Thomas, A., Dotzauer, R., Borgmann, H., ... Tsaur, I. (2019). Comparative assessment of docetaxel for safety and efficacy between hormone-sensitive and castration-resistant metastatic prostate cancer. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 37, 999–1005. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2019.07.005>
- Majid, S. (2019). *Breast cancer and axillary lymph node status: Pre-operative clinicopathological predictors of axillary metastasis. PhD Thesis, Lund University, Lund.*
- Malini, P., Kanchana, G. ve Rajadurai, M. (2011). Antibabetic efficacy of ellagic acid in streptozotocin induced diabetes mellitus in albino wistar rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4, 127–128.
- Mark, R., Lyu, X., Lee, J., Parra-Saldivar, R. ve Chen, W. N. (2019). Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. *Journal of Functional*, 57, 233–254.
- Martinelli, V., Radaelli, M., Straffi, L., Rodegher, M. ve Comi, G. (2009). Mitoxantrone: Benefits and risks in multiple sclerosis patients. *Neurological Sciences*, 30, 167–70.
- Masters, G. A., Temin, S., Azzoli, C. G., Giaccone, G., Baker, S. Jr., Brahmer, J. R., ... Johnson, D. H. (2015). Systemic therapy for stage IV non-small-cell lung cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline update. *Journal of Clinical Oncology*, 33, 3488–3515. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.62.1342>
- Mathiyazhagan, J. ve Muthukaliannan G. K. (2020). Combined Zingiber officinale and Terminalia chebula induces apoptosis and modulates mTOR and hTERT gene expressions in MCF-7 cell line. *Nutrition and Cancer*, 73, 165–1216. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1792518>
- Mehta, V., Verma, P., Sharma, N., Sharma, A., Thakur, A. ve Malairaman, U. (2017). Quercetin, ascorbic acid, caffeine and ellagic acid are more efficient than rosiglitazone, metformin and glimepiride in interfering with pathways leading to the development of neurological complications associated with diabetes: A comparative in-vitro study. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55, 115–121.

- Miller, K. D., Nogueira, L., Mariotto, A. B., Rowland, J. H., Yabroff, K. R., Alfano, C. M., ... Siegel, R. L. (2019). Cancer treatment and survivorship statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69, 363–385.
- Mishra, C. B., Tiwari, M. ve Supuran, C. T. (2020). Progress in the development of human carbonic anhydrase inhibitors and their pharmacological applications: Where are we today? *Medicinal Research Reviews*, 40, 2485–2565.
- Molina, J. R., Yang, P., Cassivi, S. D., Schild, S. E. ve Adjei, A. A. (2008) Nonsmall cell lung cancer: Epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clinic Proceedings*, 83, 584-94.
- Monfared, S. S. M. S., Vahidi, H., Abdolghaffari, A. H., Nikfar, S. ve Abdollahi, M. (2009). Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERCP pancreatitis: A systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, 15, 4481–90.
- Moon, A., Agrawal, T., Gupta, P., Kondlekar, N. ve Taksande, A. (2017). Anti-cancer therapy: Chlorogenic acid, gallic acid and ellagic acid in synergism. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 12, 48–52.
- Mukama, T., Fallah, M., Brenner, H., Xu, X., Sundquist, K., Sundquist, J. ve Kharazmi E. (2020). Risk of invasive breast cancer in relatives of patients with breast carcinoma in situ: A prospective cohort study. *BMC Medicine*, 8, 295.
- Mukherjee, S. (2010). The emperor of all maladies. *A Biography of Cancer*, 2, 100 - 183.
- Murkovic, M. (2016). Phenolic compounds: Occurrence, classes and analysis. *Encyclopedia of Food and Health*, 346-351.
- Murphy, M. P. (2012). Mitochondrial thiols in antioxidant protection and redox signaling: Distinct roles for glutathionylation and other thiol modifications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16, 476–495.
- Nagaraju, G. P., Aliya, S., Zafar, S. F., Basha, R., Diaz, R. ve El-Rayes, B. F. (2012). The impact of curcumin on breast cancer. *Integrative Biology*, 4, 996–1007.
- Nastoupil, L. J., McLaughlin, P., Feng, L., Neelapu, S. S., Samaniego, F., Hagemester, F. B., ... Fowler, N. H. (2017). High ten-year remission rates following rituximab, fludarabine, mitoxantrone and dexamethasone (R-FND) with interferon maintenance in indolent lymphoma: Results of a randomized study. *British Journal of Haematology*, 177, 263–270. <https://doi.org/10.1111/bjh.14541>

- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A. ve Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 15, 687-704. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.06.010
- Neri, D. ve Supuran, C. T. (2011). Interfering with pH regulation in tumours as a therapeutic strategy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10, 767-77.
- Neuman, H. B., Morrogh, M., Gonen, M., Van Zee, K. J., Morrow, M. ve King, T. A. (2010). Stage IV breast cancer in the era of targeted therapy: Does surgery of the primary tumor matter?. *Cancer*, 116, 1226–1233. <https://doi.org/10.1002/cncr.24873>
- Niedzwiecki, A., Roomi, M. W., Kalinovsky, T. ve Rath, M. (2016). Anticancer efficacy of polyphenols and their combinations. *Nutrients*, 8, 552.
- Niu, Y. M., Yuan, H. ve Zhou, Y. (2014). Interleukin-17 gene polymorphisms contribute to cancer risk. *Mediators of Inflammation*, 2014, 128490.
- Nocentini, A. ve Tanc, M. (2019). CO₂-capture by engineered mammalian carbonic anhydrases. *Carbonic Anhydrases: Biochemistry and Pharmacology of an Evergreen Pharmaceutical Target*, Elsevier, 515–530. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816476-1.00023-X>
- Noor, S. I., Jamali, S., Ames, S., Langer, S., Deitmer, J. W. ve Becker, H. M. (2018). A surface proton antenna in carbonic anhydrase ii supports lactate transport in cancer cells. *eLife*, 7, 35176.
- Norat, T., Scoccianti, C., Boutron-Ruault, M. C., Anderson, A., Berrino, F., Cecchini, M., ... Romieu, I. (2015). European code against cancer 4th Eddition: Diet and cancer. *Cancer Epidemiology*, 1, 56-66.
- Ou, H. C., Lee, W. J., Lee, S. D., Huang, C. Y., Chiu, T. H., Tsai, K. L., ... Sheu, W. H. (2010). Ellagic acid protects endothelial cells from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by modulating the PI3K/Akt/eNOS pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 248, 134-43. doi: 10.1016/j.taap.2010.07.025
- Oyauzu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Ozensoy, G. O., Capasso, C. ve Supuran, C. T. (2016). A magnificent enzyme superfamily: Carbonic anhydrases, their purification and characterization. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31, 689-94.
- Öber, A., Goker, E., Tarcan, E., Boylu, Ş. ve Haydaroğlu, A. (2006). Lokal yineleme ve metastatik evre meme kanseri grubu. I. ulusal meme kanseri konsensus toplantısı.

- Öztürk Sarıkaya, S.B., Gülçin, İ. ve Supuran, C.T. (2010). “Carbonic Anhydrase inhibitors: Inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of Phenolic acids”. *Chemical Biology & Drug Design*, 75, 515-520.
- Özyürek, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K. ve Apak, R. (2009). Measurement of xanthine oxidase inhibition activity of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method. *Analytica Chimica Acta*, 636, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.01.037>
- Paluszczak, J., Krajka-Kuzniak, V. ve Baer-Dubowska. W. (2010). The effect of dietary polyphenols on the epigenetic regulation of gene expression in MCF7 breast cancer cells. *Toxicology Letters* 192, 119–125.
- Papadakis, M. A. ve McPhee, S. J. (2016). *Lange, current medical diagnosis and treatment*. San Francisco, McGraw-Hill Education / Medical.
- Park, C. H., Han, S. E., Nam-Goong, I. S., Kim, Y. I. ve Kim, E. S. (2018). Combined effects of baicalein and docetaxel on apoptosis in 8505c anaplastic thyroid cancer cells via downregulation of the erk and akt/mtor pathways. *Endocrinology and Metabolism*, 33,121-132.
- Park, S. W., Kwon, M. J., Yoo, J. Y., Choi, H. J. ve Ahn, Y. J. (2014). Antiviral activity and possible mode of action of ellagic acid identified in *Lagerstroemia speciosa* leaves toward human rhinoviruses. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 14, 171. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-14-171>
- Parkkila, S., Lasota, J., Fletcher, J. A., Ou, W. B., Kivela, A. J., Nuorva, K., ... Miettinen, M. (2010). Carbonic anhydrase ii. A novel biomarker for gastrointestinal stromal tumors. *Modern Pathology*, 23, 743-750.
- Pastorek, J. ve Pastorekova, S. (2015). Hypoxia-induced carbonic anhydrase IX as a target for cancer therapy: From biology to clinical use. *Seminars in Cancer Biology*, 31, 52–64.
- Pastorekova, S. ve Gillies, R. J. (2019). The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: Links to hypoxia, acidosis, and beyond. *Cancer and Metastasis Reviews*, 38, 65–77.
- Pawlik, A., Szczepanski, M. A., Klimaszewska-Wisniewska, A., Gackowska, L., Zuryn, A. ve Grzanka, A. (2016). Cytoskeletal reorganization and cell death in mitoxantrone-treated lung cancer cells. *Acta Histochemica*, 118, 784-796. doi: 10.1016/j.acthis.2016.10.001
- Pecorino, L. (2012). *Molecular Biology of Cancer, Mechanism, Targets and Therapeutics*, 3rd ed. Oxford, 1-16.

- Pham-Huy, L.A., He, H. ve Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Journal of Biomedical Science*, 4, 2, 89-96.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. ve Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11-26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pieniążek, A., Czepas, J., Piasecka-Zelga, J., Gwoździński, K. ve Koceva-Chyła, A. (2013). Oxidative stress induced in rat liver by anticancer drugs doxorubicin, paclitaxel and docetaxel. *Advances in Medical Sciences*, 58, 104-11. doi: 10.2478/v10039-012-0063-1
- Pinto M. S., de Carvalho, J. E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. ve Shetty, K. (2010). Evaluation of antiproliferative, anti-type 2 diabetes, and antihypertension potentials of ellagitannins from strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.) using in vitro models. *Journal of Medicinal Food*, 13, 1027-35. doi: 10.1089/jmf.2009.0257
- Pinto, A. C., Moreira, J. N. ve Simões, S. (2011). Combination chemotherapy in cancer: Principles, evaluation and drug delivery strategies. *INTECH Open Access Publisher*, 693- 715.
- Pirzadeh-Naeni, S., Mozdianfar, M. R., Shojaosadati, S. A., Khorasani, A. C. ve Saleh, T. (2020). A comparative study on schizophyllan and chitin nanoparticles for ellagic acid delivery in treating breast cancer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 380–388.
- Poljsak, B., Jamnik, P., Raspor, P. ve Pesti, M. (2011). Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: Impacts of environmental pollution, in Jerome, N. (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Health*. Elsevier, 300-306.
- Pommier, Y., Leo, E., Zhang, H. L. ve Marchand, C. (2010). DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chemical Biology*, 17, 421–433.
- Popa, V. I., Dumitru, M., Volf, I. ve Anghel, N. (2008). Lignin and polyphenols as allelochemicals. *Industrial Crops and Products*, 27, 144–149.
- Powers, S. K., Smuder, A. J., Kavazis, A. N. ve Hudson, M. B. (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 20, 2–14.
- Promsong, A., Wo, C., Satthakarn, S. ve Nittayananta, W. (2014). Ellagic acid modulate the expression of oral innate immune mediators: Potential role in

- mucosal protection. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 44, 214-221.
<http://dx.doi.org/10.1111/jop.12223>
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M., ... Mandzhieva, S. (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10, 267. <https://doi.org/10.3390/biology10040267>
- Ramalingam, S. ve Belani, C. (2008). Systemic chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer: Recent. *The Oncologist*, 13, 5–13.
- Raza, K., Kumar, D., Kiran, C., Kumar, M., Guru, S. K., Kumar, P., ... Katare, O. P. (2016). Conjugation of docetaxel with multiwalled carbon nanotubes and codelivery with piperine: Implications on pharmacokinetic profile and anticancer activity. *Molecular Pharmaceutics*, 13, 2423–2432.
<https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b00183>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Reck, M., Rodríguez-Abreu, D., Robinson, A. G., Hui, R., Csőszi, T., Fülöp, A., ... Brahmer J. R. (2016). KEYNOTE-024 investigators. Pembrolizumab versus chemotherapy for pd-l1-positive non-small-cell lung cancer. *The New England Journal of Medicine*, 375, 19. doi:10.1056/NEJMoa1606774
- Reena, S. R., Sundar, AS W. A., Sandhya, S. M., Dhanya, S. ve Gopal, L. (2018). A review on free radicals and antioxidants. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 05, 11541–11548.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.1479234>
- Rehman, M. U., Tahir, M., Ali, F., Kamer W., Latif, A., Han, R., ... Sultan, S. (2012). Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of ellagic acid. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 365, 119–127.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11010-012-1250-x>
- Ríos, J. L., Giner, R.M., Marín, M. ve Recio, M. C. (2018). A pharmacological update of ellagic acid. *Planta Medica*, 84, 1068–1093.
- Roojintan, A., Sharifi-Rad, M., Badrzadeh, F. ve Sharifi-Rad, J. (2016). A comparison between PLGA-PEG and NIPAAm-MAA nanocarriers in curcumin delivery for hTERT silencing in lung cancer cell line. *Molecular and Cellular Biology*, 62, 51–56.

- Rozentsvit, A., Vinokur, K., Samuel, S., Li, Y., Gerdes, A. M. ve Carrillo-Sepulveda, M. A. (2017). Ellagic acid reduces high glucose-induced vascular oxidative stress through ERK1/2/NOX4 signaling pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44, 1174– 1187. <https://doi.org/10.1159/000485448>
- Saba, Khan, S., Parvez, S., Chaudhari, B., Ahmad, F., Anjum, S. ve Raisuddin, S. (2013). Ellagic acid attenuates bleomycin and cyclophosphamide-induced pulmonary toxicity in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 210–219. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.03.046>
- Sahu, B. P., Hazarika, H., Bharadwaj, R., Loring, P., Baishya, R., Dash, S. K. ve Das, M. K. (2016). Curcumin-docetaxel co-loaded nanosuspension for enhanced anti-breast cancer activity. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13, 1065-1074. DOI: 10.1080/17425247.2016.1182486i
- Saklı, K. ve Zencirci Demir, K. (2013). Taksan ve platin alan hastalarda periferik nöropati ve nöropatik ağrıya yönelik hemşirelik girişimleri: Sistemik derleme. *Hemşirelikte Araştırma Geliştirme Dergisi*, 1, 61-73.
- Salles, A. M. R., Galvao, T. F., Silva, M. T., Motta, L. C. D. ve Pereira, M. G. (2012). Antioxidants for preventing preeclampsia: A systematic review. *The Scientific World Journal*, 2012, 243476.
- Samet, J. M. (2019). Lung cancer prevention. *Cancer prevention and screening*. 217–235.
- Sarikaya, S. B., Gülçin, İ. ve Supuran, C.T. (2010). Carbonic anhydrase inhibitors: Inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of phenolic acids. *Chemical Biology & Drug Design*, 75, 515-520. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2010.00965.x>
- Saxena, P., Selvaraj, K., Khare, S. K. ve Chaudhary, N. (2022). Superoxide dismutase as multipotent therapeutic antioxidant enzyme: Role in human diseases. *Biotechnology Letters*, 44, 1–22. <https://doi.org/10.1007/s10529-021-03200-3>
- Schnitt, S. J. ve Lakhani, S. R. (2014). *Breast cancer*. B. W. Stewart ve C. P. Wild (Der.), World cancer report içinde (ss. 362– 363), Geneva, WHO Press.
- Schutz, F. A., Buzaid, A. C. ve Sartor, O. (2014). Taxanes in the management of metastatic castration-resistant prostate cancer: Efficacy and management of toxicity. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 91, 248-256. doi:10.1016/j.critrevonc.2014.02.003

- Sen, S. ve Chakraborty, R. (2011). *The role of antioxidants in human health*. Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy içinde (ss. 1-37), Washington, DC, American Chemical Society.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R. ve De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3, 91-100.
- Senica, M., Stampar, F., Veberic, R. ve Mikulic-Petkovsek, M. (2016). Processed elderberry (*Sambucus Nigra* L.) products: A beneficial or harmful food alternative. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 182-188. doi:10.1016/j.lwt.2016.04.056
- Sepand, M. R., Ghahremania, M. H., Razavi-Azarkhiavib, K., Aghsamia, M., Rajabic, J., Keshavarz-Bahaghighata, H. ve Soodid, M. (2016). Ellagic acid confers protection against gentamicin-induced oxidative damage, mitochondrial dysfunction and apoptosis-related nephrotoxicity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68, 1222–1232.
- Shakeri, A., Zirak, M. ve Sahebkar, A. (2018). Ellagic acid: A logical lead for drug development? *Current Pharmaceutical Design*, 24, 106–122. <https://doi.org/10.2174/1381612823666171115094557>
- Sharafati, R., Sherafati F. ve Rafieian-kopaei, M. (2011). Biological characterization of iranian walnut (*juglans regia*) leaves. *Turkish Journal of Biology*, 35, 635-9.
- Sharma, G. N., Gupta, G. ve Sharmab, P. (2018). A comprehensive review of free radicals, antioxidants, and their relationship with human ailments. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 28, 139–154.
- Sharma, G. N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P. ve Sharma, K. K. (2010). Various types and management of breast cancer: An overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 1, 109-126.
- Sharma, P., McClees, S. ve Afaq, F. (2017). Pomegranate for prevention and treatment of cancer: an update. *Molecules*, 22, 177. <https://doi.org/10.3390/molecules22010177>
- Sharma, T., Sharma, S., Kamyab, H. ve Kumar, A. (2020). Energizing the CO₂ utilization by chemo-enzymatic approaches and potentiality of carbonic anhydrases: A review. *Journal of Cleaner Production*, 247.
- Shekari, N., Javadian, M., Ghasemi, M., Baradaran B., Darabi, M. ve Kazemi, T. (2020). Synergistic beneficial effect of docosahexaenoic acid (dha) and docetaxel

- on the expression level of matrix metalloproteinase-2 (mmp-2) and microrna-106b in gastric cancer. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 51, 70–75.
- Sheng, W. W., Dong, M., Zhou, J. P., Kong, F. M. ve Li, Y. J. (2012). Clinicopathological significance of the expression of carbonic anhydrase i and ii in human pancreatic cancer. *Zhonghua Yixue Zazhi*, 92, 3407-3411.
- Shetty, S. B., Mahin-Syed-Ismail, P., Shaji Varghese, B. T. G., Kandathil-Thajuraj, P., Baby, D., Haleem, S., ... Devang-Divakar, D. (2016). Antimicrobial effects of Citrus sinensis peel extracts against dental caries bacteria: An in vitro study. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8, 71.
- Shirzad, H., Taji, F., Pourgheysari, B., Raisi, S. ve Rafieian-Kopaei, M. (2012). Comparison of antitumour activities of heated and raw garlic extracts on fibrosarcoma in mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 14, 77-83.
- Singh, J. P., Kaur, A., Singh, N., Nim, L., Shevkani, K., Kaur, H. ve Arora, D. S. (2016). In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 1025–1030.
- Singh, S., Lomelino, C. L., Mboge, M. Y., Frost ID S. C. ve McKenna R. (2018). Cancer drug development of carbonic anhydrase inhibitors beyond the active site. *Molecules*, 23, 1045.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., ... Klenk, D. C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150, 76-85.
- Sohail, M. F., Rehman, M., Sarwar, H. S., Naveed, S., Salman, O., Bukhari, N. I., ... Shahnaz, G. (2018). Advancements in the oral delivery of docetaxel: Challenges, current state-of-the-art and future trends. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 3145–3161. <https://doi.org/10.2147/IJN.S164518>
- Soltanian, S., Riahirad, H., Pabarja, A., Karimzadeh, M. R. ve Saeidi, K. (2017). Kaempferol and docetaxel diminish side population and down-regulate some cancer stem cell markers in breast cancer cell line MCF-7. *Biocell*, 41, 33-40.
- Sotler, R., Poljšak, B., Dahmane, R., Jukić, T., Jukić, D. P., Rotim, C., Trebše, P. ve Starc, A. (2019). Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. *Acta Clinica Croatica*, 58, 726-736.
- Sridharan, B., Mehra, Y., Ganesh, R. N. ve Viswanathan, P. (2016). Regulation of urinary crystal inhibiting proteins and inflammatory genes by lemon peel extract and formulated citrus bioflavonoids on ethylene glycol induced urolithic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 94, 75–84.

- Stenglova-Netíková, I. R., Petruzelka, L., Stastný, M. ve Stengl, V. (2018). Anthracycline antibiotics derivate mitoxantrone-Destructive sorption and photocatalytic degradation. *Plos One* 13, 0193116. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193116>
- Stuper-Szablewska, K. ve Perkowski, J. (2019). Phenolic acids in cereal grain: Occurrence, biosynthesis, metabolism and role in living organisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 664–675.
- Suleman, M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S., Samiullah ve Ayub, M. (2019). Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body. *Pure and Applied Biology*, 8, 380-388.
- Sun, C., Zhu, L., Zhang, C., Song, C., Wang, C., Zhang, M., ... Schaefer, H. F. (2018). Conformers, properties, and docking mechanism of the anticancer drug docetaxel: Dft and molecular dynamics studies. *Journal of Computational Chemistry*, 39, 889–900.
- Sun, L., Legood, R., dos-Santos-Silva, I., Gaiha, S.M., Sadique, Z. ve Diaby, V. (2018). Global treatment costs of breast cancer by stage: A systematic review. *PLoS ONE*, 13, 0207993.
- Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., ... Zhu, H. P. (2017). Risk factors and preventions of breast cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 13, 1387–1397. <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. ve Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71, 209–249.
- Supuran, C. T. (2016). Structure and function of carbonic anhydrases. *Biochemical Journal*, 473, 2023 2032.
- Supuran, C. T., Altamimi, A. S. A. ve Carta, F. (2019). Carbonic anhydrase inhibition and the management of glaucoma: A literature and patent review 2013–2019. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 29, 781–92.
- Supuran, C. T. and Winum, J. Y. (2015). Carbonic anhydrase IX inhibitors in cancer therapy: An update. *Future Medicinal Chemistry*, 7, 1407-1414.
- Tabassum, S., Zaki, M., Afzal, M. ve Arjmand, F. (2014). Synthesis and characterization of Cu(II)- based anticancer chemotherapeutic agent targeting topoisomerase I α : In vitro DNA binding, pBR322 cleavage, molecular docking

- studies and cytotoxicity against human cancer cell lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 74, 509–523.
- Takakura, M., Yokomizo, A., Tanaka, Y., Kobayashi, M., Jung, G., Banno, M., ... Ono, M. (2012). Carbonic anhydrase I as a new plasma biomarker for prostate cancer. *ISRN Oncology*, 2012, 768190. doi: 10.5402/2012/768190
- Tkachenko, H., Kurhaluk, N., Grudniewska, J. ve Andriichuk, A. (2014). Tissue-specific responses of oxidative stress biomarkers and antioxidant defenses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* during a vaccination against furunculosis. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40, 1289–300.
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J. ve Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65, 87–108.
- Trayes, K. P. ve Cokenakes, S. E. (2021). Breast cancer treatment. *American Family Physician*, 104, 171-178.
- Türk, G., Çeribaşı, A. O., Şahna, E. ve Ateşşahin, A. (2011). Lycopene and ellagic acid prevent testicular apoptosis induced by cisplatin. *Phytomedicine*, 18, 356-361.
- Umeno, A., Horie, M., Murotomi, K., Nakajima, Y. ve Yoshida, Y. (2016). Antioxidative and antidiabetic effects of natural polyphenols and isoflavones. *Molecules*, 21, 708.
- Umesalma, S. ve Sudhandiran, G. (2011). Ellagic acid prevents rat colon carcinogenesis induced by 1, 2 dimethyl hydrazine through inhibition of AKT-phosphoinositide-3 kinase pathway. *European Journal of Pharmacology*, 660, 249–258. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.03.036>
- Vats, L., Kumar, R., Bua, S., Nocentini, A., Gratteri, P., Supuran, C. T. ve Sharma, P. K. (2019). Continued exploration and tail approach synthesis of benzenesulfonamides containing triazole and dual triazole moieties as carbonic anhydrase I, II, IV and IX inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 183, 111698. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111698>
- Veira da Silva, B., Barreira, J. C. M. ve Oliveira, M. (2016). Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional food: Extraction, biochemistry and protected-delivery, technologies. *Trends in Food Science and Technology*, 50, 144-158.
- Vinita, S., Vartika, G., Kameshwar, S., Sonal, B., Reeta, K. ve Neeti, D. (2013). Potential Application of antioxidants. *Journal of Pharmacy Research*, 7, 828-835.
- Vuolo, M. M., Lima S. S. ve Junior, M. R. M. (2019). Phenolic compounds: Structure, classification and antioxidant power, (editör: Campos, M.R.S.), Bioactive

- Compounds Health Benefits and Potential applications, Woodhead yayıncılık, Cambridge, 33-50.
- Waheed, A. ve Sly, W. S. (2017). Carbonic anhydrase XII functions in health and disease. *Gene*, 623, 33-40.
- Wang, C., Yang, B., Wu, Y., Tan, L., Sun, Z., Ma, J., ... Du, S. (2018). Study on antilung cancer synergistic effect of Shenqi Fuzheng combined with docetaxel. *International Journal of Surgery Oncology*, 3, 68. doi: 10.1097/IJ9.0000000000000068
- Wang, D. B., Lu, X. K., Zhang, X., Li, Z. G. ve Li, C. X. (2016). Carbonic anhydrase 1 is a promising biomarker for early detection of non-small cell lung cancer. *Tumor Biology*, 37, 553-9. doi: 10.1007/s13277-015-3834-z
- Wang, J., Xue, P., Zhou, J., Li, L., Xu, L. ve Wang, Y. (2016). Comparison of two kinds of docetaxel-vitamin E prodrugs: In vitro evaluation and in vivo antitumor activity. *International Journal of Pharmaceutics*, 505, 352-360.
- Wang, N., Wangi Z. Y., Mo, S. L., Loo, T. Y., Wang, D. M., Luo, H. B., ... Chen, J. P. (2012). Ellagic acid, a phenolic compound, exerts anti-angiogenesis effects via VEGFR-2 signaling pathway in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 134, 943-55.
- Werner, M. E., Cummings, N. D., Sethi, M., Wang, E. C., Sukumar, R., Moore, D. T. ve Wang, A. Z. (2013). Preclinical evaluation of Genexol-PM, a nanoparticle formulation of paclitaxel, as a novel radiosensitizer for the treatment of non-small cell lung cancer. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 86, 463–468.
- Woodman, C., Vundu, G., George, A. ve Wilson, C. M. (2021). Applications and strategies in nanodiagnosis and nanotherapy in lung cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 69, 349-364. <https://doi.org/10.1016/j>
- World Health Organization. Cancer. Son Erişim Tarihi: 29.09.2022. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Wu, Y., Zhang, Z., Chen, T., Cheng, C., Zhang, Z., Zhou, H. ve Luo, P. (2020). Comparison of two Polygonum chinense varieties used in Chinese cool tea in terms of chemical profiles and antioxidant/anti-inflammatory activities. *Food Chemistry*, 310, 125840.
- Xie, C. Q., Kong, J. D., Miao, F. J., Wang, X. J. ve Sheng, J. (2020). Combination effects of ellagic acid with erlotinib in a Ba/F3 cell line expressing EGFR H773_V774 insH mutation. *Thoracic Cancer*, 11, 2101–2111.

- Xie, S., Wu, Z., Qi, Y., Wu, B. ve Zhu, X. (2021). The metastasizing mechanisms of lung cancer: Recent advances and therapeutic challenges. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 0753-3322. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111450>
- Xu, Y., Asghar, S., Gao, S., Chen, Z., Huang, L., Yin, L., ... Xiao, Y. (2017). Polysaccharide-based nanoparticles for co-loading mitoxantrone and verapamil to overcome multidrug resistance in breast tumor. *International Journal of Nursing*, 12, 7337–7350.
- Yadigaroglu, H. (2019). Kanser hastası bulunan ailelerde hastalık deneyimi ve fertlerin yaşam bütünlüğünün bozulmasına etkisi. *Journal of History Culture and Art Research*, 8, 404-415.
- Yang, B., Zheng, S., Huang, X., Chen, J., Liu, Z., Liu, G., ... Wu, J. (2021). A single-center, self-controlled, phase I clinical trial of mitoxantrone hydrochloride injection for lymph tracing for sentinel lymph node identification of breast cancer. *Gland Surgery*, 10, 992-1001.
- Yarla, N. S., Bishayee, A., Sethi, G., Reddanna, P., Kalle, A. M., Dhananjaya, B. L., ... Duddukuri, G. R. (2016). Targeting arachidonic acid pathway by natural products for cancer prevention and therapy. *Seminars in Cancer Biology*, 40, 48-81. doi: 10.1016/j.semcancer.2016.02.001
- Yavuz, H. (2019). *Bazı fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.*
- Ye, M., Zhang, J., Zhang, J., Miao, Q., Yao, L. ve Zhang, J. (2015). Curcumin promotes apoptosis by activating the p53-miR-192-5p/ 215-XIAP pathway in non-small cell lung cancer. *Cancer Letters*, 357, 196–205.
- Yıldırım Kuzeyli Y. (2007). Nörotoksisite. içinde: onkoloji hemşireliğinde kanıta dayalı semptom yönetimi. Ed: G. Can. Pharma Publication Planning, Mavi İletişim Danışmanlık, İstanbul, 159-174s.
- Yin, C., Walter, C. W., Eric, B. R., Meir, J. S. ve Edward, L.G. (2015). Light to moderate intake of alcohol, drinking patterns, and risk of cancer: Results from two prospective US cohort studies. *BMJ*, 351, 4238.
- Yoganathan, S., Anushan, A., Nikita, A. ve Jing, K. (2021). Ellagic Acid and Schisandrins: Natural Biaryl Polyphenols with Therapeutic Potential to Overcome Multidrug Resistance in Cancer. *Cells*, 10, 58. <https://doi.org/10.3390/cells10020458>

- Yoo, Y. S. ve Cho, O. H. (2014). Relationship between quality of life and nurse-led bedside symptom evaluations in patients with chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Asian Nursing Research*, 8, 36-41.
- Zahin, M., Ahmad, I., Gupta, R. C. ve Aqil, F. (2014). Punicalagin and ellagic acid demonstrate antimutagenic activity and inhibition of benzo[a]pyrene induced DNA adducts. *BioMed Research International*, 2014, 467465. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/467465>
- Zalewska-Ziob, M., Adamek, B., Kasperczyk, J., Romuk, E., Hudziec, E., Chwalińska, E., ...Bruliński, K. (2019). Activity of antioxidant enzymes in the tumor and adjacent noncancerous tissues of non-small-cell lung cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 31, 2901840.
- Zamanova, S., Shabana, A. M., Mondal, U. K. ve Ilies, M. A. (2019). Carbonic anhydrases as disease markers. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 29, 509–33.
- Zeb, A. (2018). Ellagic acid in suppressing in vivo and in vitro oxidative stresses. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 448, 27–41. <https://doi.org/10.1007/s11010-018-3310-3>
- Zhang, E., Xing, R., Liu, S. ve Li, P. (2019). Current advances in development of new docetaxel formulations. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 16, 301-312. Doi:10.1080/17425247.2019.1583644
- Zhang, H., Zhuo, C., Zhou, D., Zhang, F., Chen, M., Xu, S. ve Chen, Z. (2019). Association between the expression of carbonic anhydrase ii and clinicopathological features of hepatocellular carcinoma. *Oncology Letters*, 17, 5721-5728.
- Zhang, J., Chiu, J., Zhang, H., Qi, T., Tang, Q., Ma, K., ... Li, G. (2013). Autophagic cell death induced by resveratrol depends on the Ca²⁺/AMPK/mTOR pathway in A549 cells. *Biochemical Pharmacology*, 86, 317–328. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.05.003>
- Zhang, J., Pavsek, P., Kamaraj, R., Ren, L. ve Zhang, T. (2021). Dietary phytochemicals as modulators of human pregnane X receptor. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–23.
- Zhang, L. ve Zhang, N. (2013). How nanotechnology can enhance docetaxel therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 2927–2941. <https://doi.org/10.2147/IJN.S46921>

- Zhang, T., Chen, H. S., Wang, L. F., Bai, M. H., Wang, Y. C., Jiang, X. F. ve Liu, M. (2014). Ellagic acid exerts anti-proliferation effects via modulation of $\text{tgf-}\beta/\text{smad3}$ signaling in mcf-7 breast cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. Asian Pacific Organization for Cancer Prevention*, 15, 273-276. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.1.273>
- Zheng, H., Ke, X., Li, D., Wang, Q., Wang, J., Liu, X., ... Wang, Q. (2018). NEDD4 promotes cell growth and motility in hepatocellular carcinoma. *Cell Cycle*, 17, 728-738. doi: 10.1080/15384101.2018.1440879
- Zhou, R., Huang, W., Yao, Y., Wang, Y., Li, Z., Shao, B., ... Yang, J. (2013). C.A. ii, A potential biomarker by proteomic analysis, exerts significant inhibitory effect on the growth of colorectal cancer cells. *International Journal of Oncology*, 46, 611-621.
- Ziech, D., Franco, R., Georgakilas, A., Georgakila, S., Malamou-Mitsi, V., Schoneveld, O., ... Panayiotidis, M. (2010). 'The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development'. *Chemico-Biological Interactions*, 188, 334-339.
- Zoppi, C., Nocentini, A., Supuran, C. T., Pratesi, A. ve Messori, L. (2020). Native mass spectrometry of human carbonic anhydrase I and its inhibitor complexes. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 25, 979–993.
- Zuo, S., Sun, B., Yang, Y., Zhou, S., Zhang, Y., Guo, M., ... Sun, J. (2020). probing the superiority of diselenium bond on docetaxel dimeric prodrug nanoassemblies: small roles taking big responsibilities. *Small*, 16, 2005039.

ÖZGEÇMİŞ

Cuma ZEHİROĞLU İlk ve Ortaokul eğitimini İstanbul'da Cumhuriyet İlköğretim Okulunda, Lise eğitimini ise Gaziantep İnci Konukoğlu Lisesinde tamamladı. 2011'de Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı ve 2015'de lisans eğitimini tamamladı. 2015'de Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2017'de "Türkiye'de endemik olarak yetişen kaz dağı çayının (sideritis trojana bornm.) antioksidan, antimikrobiyal aktivitelerinin ve mineral içeriğinin araştırılması" konulu tezini tamamladı. 2017- 2018 Eğitim ve Öğretim yılında Gümüşhane Üniversitesi Lisanüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilimdalı'nda doktora eğitimine başladı. Evli ve bir çocuk babasıdır.

Yayınlar:

Zehiroglu, C. ve Sarıkaya Öztürk, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4757–4774.