

ALKANNA CORDIFOLIA BİTKİSİNİN KÖK VE TOPRAK ÜSTÜ KISIMLARININ YARA İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN *İN VİTRO* YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

SÜMEYRA YILMAZ

Farmakognozi Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. ZÜHAL GÜVENALP

Yüksek Lisans Tezi-2025



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**ALKANNA *CORDIFOLIA* BİTKİSİNİN KÖK VE
TOPRAK ÜSTÜ KISIMLARININ YARA İYİLEŞTİRİCİ
ETKİSİNİN *IN VITRO* YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

SÜMEYRA YILMAZ

Farmakognozi Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zühal GÜVENALP**

**ERZURUM
2025**



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

Farmakognozi Ana Bilim Dalı

**ALKANNA CORDIFOLIA BİTKİSİNİN KÖK VE TOPRAK
ÜSTÜ KISIMLARININ YARA İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN İN
VİTRO YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

SÜMEYRA YILMAZ

Tez Savunma Tarihi : 23.07.2025

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Zühal GÜVENALP (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hafize YUCA (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Bilge AYDIN (Erzincan Binali Yıldırım
Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki Jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr.Ahmet KIZILTUNÇ

Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2025

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	IV
TEŞEKKÜR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bilgiler	3
2.1.1. <i>Alkanna</i> Cinsinin Bitki Sistematığındeki Yeri	3
2.1.2. Boraginaceae Familyası	3
2.1.2.1. Boraginaceae Familyasının Botanik Özellikleri.....	3
2.1.3. <i>Alkanna</i> Cinsinin Botanik Özellikleri.....	4
2.1.3.1. <i>Alkanna cordifolia</i> Türünün Botanik Özellikleri.....	5
2.2. <i>Alkanna</i> Türlerinin Geleneksel Kullanımı	7
2.3. <i>Alkanna</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Fitokimyasal Çalışmalar	9
2.3.1. Naftokinonlar.....	9
2.3.2. Flavonoidler	13
2.3.3. Fenolik Bileşikler	14
2.4. <i>Alkanna</i> Türleri Üzerinde Yapılan Farmakolojik Çalışmalar	16
2.4.1. Antioksidan Etki.....	16
2.4.2 Antimikrobiyal Etki	16
2.4.3. Antienflamatuar Etki.....	17

2.4.4. Yara İyi Edici Etki	18
2.4.5. Antitümör Etki.....	19
3. MATERYAL VE METOT.....	21
3.1. Bitki Materyali	21
3.2. Kimyasal Maddeler ve Gereçler.....	21
3.2.1. Kimyasal Maddeler.....	21
3.2.1.1. Fibroblast Hücre Kültürü ve İmmunofloresan Analiz Çalışmaları	21
3.2.1.2. Genotoksisite Testleri	21
3.2.1.3. Fitokimyasal Çalışmalar	22
3.2.2. Aletler ve Cihazlar.....	22
3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	23
3.3.1. Zeytinyağı Ekstresi	23
3.3.2. Tereyağı ekstresi.....	23
3.3.3. Metanol Ekstresi	24
3.4. Hücre Kültürü.....	26
3.4.1. İnsan Dermal Fibroblast Hücre Kültürü	26
3.4.2. İmmunofloresan Yöntem	26
3.5. MTT Testi (Sitotoksisite Analizi)	27
3.6. Laktat Dehidrojenaz (LDH) Testi	27
3.7. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Analizi	28
3.8.Total Oksidan Seviyesi (TOS) Analizi	29
3.9. Genotoksik ve Antigenotoksik Etkinliklerin Belirlenmesi	29
3.9.1.Test Maddelerinin Uygulama Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	29
3.9.2. Ames/Salmonella Test Sistemi ile Genotoksik Aktivite Çalışmaları.....	30
3.9.3.Allium Testi İle Ekstrelerin Biyogüvenliğinin Araştırılması.....	31

4. BULGULAR	33
4.1. <i>Alkanna cordifolia</i> Kök ve Toprak Üstü Kısmından Hazırlanan Ekstrelelere ait MTT Analizi Sonuçları.....	33
4.1.1. <i>Alkanna cordifolia</i> Kök ve Toprak Üstü Ekstreleri Üzerinde Yapılan MTT Testine Ait Bulgular	33
4.2. <i>Alkanna cordifolia</i> 'dan Hazırlanan Ekstrelerin İmmünfloresans Analiz Bulguları .	39
4.3. <i>Alkanna cordifolia</i> Ekstreleri Üzerinde Yapılan TAS, TOS, LDH Deneilerine Ait Bulgular	51
4.3.1. Toplam Antioksidan Seviyelerine Ait Bulgular	52
4.3.2. Toplam Oksidan Seviyelerine Ait Bulgular	53
4.3.3. Laktat Dehidrogenaz Aktivitesi Bulguları	55
4.4. <i>Alkanna cordifolia</i> Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	57
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	71
EKLER	77
EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu	77
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	78

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Zühal GÜVENALP'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez kapsamında yapılan immünfloresans analizleri için Prof. Dr. Mustafa ÖZKARACA'ya (Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas), tereyağı ve zeytinyağı ekstralarının hazırlanmasında yardımcı olan Doç. Dr. Songül KARAKAYA'ya (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), TAS, TOS, LDH deneyleri için Doç. Dr. Zerrin KUTLU'ya (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), genotoksisite deneyleri için Doç. Dr. Mehmet KARADAYI'ya (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), hücre kültürü deneyleri için Öğr. Gör. Dr. Fatma YEŞİLYURT'a (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), laboratuvarında verdikleri destek için Doç. Dr. Hafize YUCA ve Öğr. Gör. Ayşe CİVAŞ'a, bu çalışmayı TYL-2024-13920 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşime ve aileme teşekkür ederim.

Sümevra YILMAZ

ÖZET

Alkanna cordifolia Bitkisinin Kök ve Toprak Üstü Kısımlarının Yara İyileştirici Etkisinin *in vitro* Yöntemlerle İncelenmesi

Temmuz 2025

Amaç: *Alkanna cordifolia* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol, tereyağı ve zeytinyağı ekstralarının *in vitro* yara iyileştirici etkilerini değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: Bitkinin kök ve toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraların biyolojik etkileri insan fibroblast hücre hattı kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı ve sitotoksikite düzeyleri, sırasıyla MTT ve LDH analizleri ile belirlenmiştir. Ekstrelerin oksidatif denge üzerindeki etkileri, toplam antioksidan (TAS) ve toplam oksidan (TOS) seviyeleri ölçülerek analiz edilmiştir. Hücre yenilenmesi ve proliferasyonu ile ilişkili BEK ve TGF- β 1 proteinlerinin ekspresyon düzeyleri, immünfloresan boyama yöntemi ile incelenmiştir. Genotoksikite değerlendirmesi kapsamında, mutajenik potansiyel *Ames testi* ile; kromozomal düzeyde sitogenetik etkiler ise *Allium cepa* testi ile araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışma sonucunda, özellikle metanolik ekstraların (AKM ve ATM) düşük konsantrasyonlarda fibroblast hücre canlılığını ve proliferasyonunu artırdığı, antioksidan kapasiteyi yükselttiği ve yara iyileşmesinde rol oynayan BEK ile TGF β 1 proteinlerinin ekspresyonunu desteklediği belirlenmiştir. Buna karşılık, yüksek konsantrasyonlardaki bazı zeytinyağı ve tereyağı ekstraları belirgin sitotoksik ve oksidatif etki göstermiştir. LDH testi ile bazı dozlarda hücre zar bütünlüğünün bozulduğu tespit edilmiştir. *Ames* ve *Allium cepa* testleriyle yapılan genotoksikite analizlerinde ise, incelenen doz aralıklarında mutajenik etkiye rastlanmamıştır.

Sonuç: *Alkanna cordifolia* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarından elde edilen bazı ekstraların, uygun dozlarda kullanıldığında fibroblast hücreleri üzerinde yara iyileştirici ve antioksidan etki gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte, yüksek dozlarda gözlenen sitotoksik ve oksidatif etkiler, biyogüvenlik açısından doz aralığının dikkatle belirlenmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda, *A. cordifolia*'nın fitoterapötik ürün geliştirme sürecinde potansiyel bir aday olduğu; ancak farmasötik uygulamalarda kullanılmadan önce detaylı toksikolojik ve formülasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Alkanna cordifolia*, fibroblast hücre kültürü, yara iyileşici etki.

ABSTRACT

Investigation of the Wound Healing Effect of the Root and Aerial Parts of *Alkanna cordifolia* Plant with *in vitro* Methods

Aim: To evaluate the *in vitro* wound-healing effects of methanol, butter, and olive oil extracts obtained from the roots and aerial parts of *Alkanna cordifolia*.

Material and method: The biological effects of the extracts obtained from the roots and aerial parts of the plant were evaluated using a human fibroblast cell line. Cell viability and cytotoxicity levels were determined by MTT and LDH assays, respectively. The effects of the extracts on oxidative balance were analyzed by measuring total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) levels. The expression levels of VEGF and TGF- β 1 proteins, which are associated with cell regeneration and proliferation, were examined using immunofluorescence staining. For the genotoxicity assessment, the mutagenic potential was investigated by the Ames test, while cytogenetic effects at the chromosomal level were evaluated using the *Allium cepa* test.

Results: The results revealed that especially the methanolic extracts (AKM and ATM) increased fibroblast cell viability and proliferation at low concentrations, enhanced antioxidant capacity, and supported the expression of BEK and TGF- β 1 proteins, which play roles in wound healing. In contrast, certain high-concentration butter and olive oil extracts exhibited significant cytotoxic and oxidative effects. The LDH assay indicated compromised cell membrane integrity at specific doses. Genotoxicity analyses using the Ames and *Allium cepa* tests showed no mutagenic effects within the tested dose ranges.

Conclusion: Some extracts obtained from the root and aerial parts of *Alkanna cordifolia* exhibited wound-healing and antioxidant effects on fibroblast cells at appropriate doses. However, the cytotoxic and oxidative effects observed at high concentrations highlight the need for careful dose determination in terms of biosafety. Therefore, *A. cordifolia* may be considered a promising candidate for the development of phytotherapeutic products, but comprehensive toxicological and formulation studies are necessary prior to its use in pharmaceutical applications.

Key Words: *Alkanna cordifolia*, antioxidant effect, fibroblast cell culture, genotoxicity, wound healing activity.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

4-NPD	4-nitro-o-fenilendiamin
9-AA	9-aminoakridin
AKM	<i>Alkanna cordifolia</i> kök metanol ekstresi
AKT	<i>Alkanna cordifolia</i> kök tereyağı ekstresi
AKZ	<i>Alkanna cordifolia</i> kök zeytinyağı ekstresi
ATM	<i>Alkanna cordifolia</i> toprak üstü metanol ekstresi
ATT	<i>Alkanna cordifolia</i> toprak üstü tereyağı ekstresi
ATZ	<i>Alkanna cordifolia</i> toprak üstü zeytinyağı ekstresi
BEK	Bağ doku epitel hücresi keratini (antikor boyama hedefi olarak)
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol (nükleer boyama maddesi)
DMSO	Dimetil sülfoksit
EMS	Etil metan sülfonat
FBS	Fetal bovine serum
LC/MS/MS	Sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi/kütle spektrometrisi
LDH	Laktat dehidrogenaz
MNNG	N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin
MTT	3-(4,5-dimetil tiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür testi (hücre canlılığı testi)
NaN ₃	Sodyum azit
PBS	Fosfat tamponlu tuzlu su (Phosphate-Buffered Saline)
TAS	Total antioksidan seviyesi
TGF1 β	Transforming Growth Factor Beta-1
TOS	Total oksidan seviyesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. <i>A.cordifolia</i> türünün Türkiye'deki yayılışı	6
Şekil 3.2. Zeytinyağı ekstresine ait fotoğraflar.....	23
Şekil 3.4. Metanol ekstresinin hazırlanışına ait fotoğraflar	25
Şekil 4.1. AKM ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları	34
Şekil 4.2. AKM ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi	34
Şekil 4.3. AKT ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları	35
Şekil 4.4. AKT ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi	35
Şekil 4.5. AKZ ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları	35
Şekil 4.6. AKZ ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi	36
Şekil 4.7. ATM ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları.....	36
Şekil 4.8. ATM ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi	37
Şekil 4.9. ATT ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları	38
Şekil 4.10. ATT ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi	38
Şekil 4.11. ATZ ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları.....	39
Şekil 4.12. ATZ ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi	39
Şekil 4.13. AKM ekstresinin 10 µg/ml doz grubunda şiddetli, Kontrol, DMSO, 5 µg/ml ve 20 µg/ml doz gruplarında orta diğer gruplarda hafif düzeyde BEK ile	

- TGF1 β floresans pozitiflikleri (\rightarrow), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++). IF.
41
- Şekil 4.14.** AKT ekstresinin 16 μ g/ml doz grubunda şiddetli, Kontrol, DMSO, 4 μ g/ml ve 8 μ g/ml doz gruplarında orta, 0,5 μ g/ml, 1 μ g/ml ve 2 μ g/ml doz gruplarında hafif düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri (\rightarrow), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++). IF.....43
- Şekil 4.15.** AKZ ekstresinin 0,5 μ g/ml ve 1 μ g/ml doz grubunda şiddetli, diğer gruplarda orta düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri (\rightarrow), orta (++) , şiddetli (+++). IF.45
- Şekil 4.16.** ATM ekstresinin 5 μ g/ml ve 10 μ g/ml doz grubunda şiddetli, diğer gruplarda orta düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri, orta (++) , şiddetli (+++). IF.47
- Şekil 4.17.** ATT ekstresinin 0.5 μ g/ml ve 1 μ g/ml doz grubunda şiddetli, kontrol, DMSO ve 2 μ g/ml doz gruplarında orta, 4 μ g/ml, 8 μ g/ml ve 16 μ g/ml doz grubunda hafif düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri. Hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++).49
- Şekil 4.18.** ATZ ekstresinin 0.5 μ g/ml ve 1 μ g/ml doz grubunda şiddetli, kontrol, DMSO, 2 μ g/ml ve 4 μ g/ml doz gruplarında orta, 8 μ g/ml ve 16 μ g/ml doz grubunda hafif düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri. Hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++).51
- Şekil 4.19.** Kontrol, DMSO ve farklı konsantrasyonlardaki ekstre uygulamalarının hücrelerde toplam antioksidan seviyesi (TAS) üzerindeki etkileri. Veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak sunulmuştur. DMSO: Dimetilsülfoksit; α : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar

$\alpha p < 0.05$, $\alpha \alpha p < 0.01$, $\alpha \alpha \alpha p < 0.001$; θ ; DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\theta p < 0.05$, $\theta \theta p < 0.01$, $\theta \theta \theta p < 0.001$).....53

Şekil 4.20. Kontrol, DMSO ve farklı konsantrasyonlardaki ekstre uygulamalarının hücrelerde toplam oksidan seviyesi (TOS) üzerindeki etkileri. Veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak sunulmuştur. DMSO: Dimetilsülfoksit; α : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\alpha p < 0.05$, $\alpha \alpha p < 0.01$, $\alpha \alpha \alpha p < 0.001$; θ ; DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\theta p < 0.05$, $\theta \theta p < 0.01$, $\theta \theta \theta p < 0.001$).....55

Şekil 4.21. Kontrol, DMSO ve farklı konsantrasyonlardaki ekstre uygulamalarının hücrelerde laktat dehidrogenaz (LDH) üzerindeki etkileri. Veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak sunulmuştur. DMSO: Dimetilsülfoksit; α : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\alpha p < 0.05$, $\alpha \alpha p < 0.01$, $\alpha \alpha \alpha p < 0.001$; θ ; DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\theta p < 0.05$, $\theta \theta p < 0.01$, $\theta \theta \theta p < 0.001$).....57

Şekil 4.22. Mitotik A. cepa kök hücrelerinde normal mitoz bölünme safhaları (a–d) ve EMS tarafından indüklenen kromozomal aberasyonlar (e–j).63

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. <i>Alkanna</i> türlerinden izole edilen başlıca naftokinon türevleri.....	9
Tablo 2.2. <i>Alkanna</i> türlerinde bulunan flavonoidler	13
Tablo 2.3. <i>Alkanna</i> türlerinde bulunan fenolik bileşikler	14
Tablo 3.1. Kullanılan cihazlar ve markaları.....	22
Tablo 4.1. AKM ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).	40
Tablo 4.2. AKT ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).	42
Tablo 4.3. AKZ ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001). a,b Aynı sütundaki farklı harfler dozlar arası farklılığı göstermektedir.	44
Tablo 4.4. ATM ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).	46
Tablo 4.5. ATT ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).	48
Tablo 4.6. ATZ ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).	50
Tablo 4.7. <i>Ames/Salmonella</i> ve <i>E. coli</i> WP2 bakteriyel genotoksisite testi sonuçları ...	59
Tablo 4.8. <i>Allium</i> testinde mitotik indeks ve kromozomal aberasyon değişimleri	61

1. GİRİŞ

Yara, doku bütünlüğünün bozulması, dokuların kesintiye uğraması veya tahrip olması şeklinde tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi ise travma ile başlayan ve yeni doku oluşumuyla sonuçlanan sistematik, hücresel ve biyokimyasal olayları içeren bir süreçtir. Bu sürecin temel amacı, doku hasarını en aza indirerek yeterli doku perfüzyonunu, oksijenlenmesini, beslenmesini ve nemlenmesini sağlamaktır (Özkorkmaz & Özay, 2009). Son yıllarda hastalıklardan korunma ve tedavide tıbbi bitkilere olan ilgi artış göstermiştir. Dünya genelinde nüfusun yaklaşık %60'ı, gelişmekte olan ülkelerde ise %60–90'ı birinci basamak sağlık hizmetlerinde tıbbi bitkileri tercih etmektedir. Bu oran, özellikle cilt hastalıkları ve yara tedavilerinde sentetik ilaçlara kıyasla daha yüksektir. Bu durum, tıbbi bitkilerin yara tedavisinde sentetik ilaçlara alternatif olabilecek terapötik potansiyelini ortaya koymaktadır (Berk ve ark., 2015). Yapılan bazı çalışmalar, enfeksiyon nedeniyle komplike hale gelen yaralarda bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin yara iyileşmesini desteklediğini göstermektedir. Bu bağlamda, hem antimikrobiyal hem de yara iyileştirici özelliğe sahip bitki ekstrelerine duyulan ihtiyaç artmaktadır (Aburjai ve ark., 2019). Yara iyileşmesinin proliferatif fazında görev alan fibroblastlar, bu sürecin en kritik hücreleri arasında yer almaktadır. Fibroblastların davranışlarını izlemek ve sentezledikleri ürünleri kalitatif ya da kantitatif olarak tespit etmek amacıyla *in vitro* hücre kültürü çalışmaları, diğer yöntemlere kıyasla önemli avantajlar sunmaktadır. Yaraların iyileşmesinde etkili olduğu düşünülen bileşiklerin fibroblast hücre kültürlerine uygulanmasıyla bu hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve kolajen sentezine etkileri değerlendirilerek, ilgili bileşiklerin etki mekanizmaları hakkında bilgi elde edilebilmektedir (Korkmaz, 1996). Anadolu florasında yer alan ve tıbbi amaçlı kullanılan bitki familyalarından biri de Boraginaceae familyasıdır (Güner & BOT). Bu familyaya ait bitkiler, kozmetolojik ve farmakolojik alanlarda yaygın olarak

kullanılmaktadır. Bu bitkilerin terapötik etkileri, içeriklerinde bulunan naftakinonlar, flavonoidler, terpenoidler ve fenoller gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerle ilişkilidir. Söz konusu bileşiklerin antimikrobiyal, antitümör, antiviral, antiinflamatuvar, kardiyotonik, kontraseptif ve antiplatelet gibi çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiği literatürde bildirilmektedir (Dresler ve ark., 2017). Ayrıca bu bitkiler yanık izlerinin giderilmesinde de kullanılmaktadır. Özellikle *Alkanna* kökü, doğal antiinflamatuvar ve serinletici özellikleri sayesinde ciltteki ısıyı azaltarak güneş yanıklarının giderilmesinde ve güneş koruyucu olarak fayda sağlamaktadır (Abdel-Gelil, 2019).

Bununla birlikte, *Alkanna tinctoria* bitkisinin yara iyileşmesinin önemli safhalarından biri olan anjiogenezi uyaran fibroblast üretimini artırdığı da belirlenmiştir (Gümüş, 2015). Boraginaceae familyasında yer alan ve tıbbi amaçlı kullanılan önemli türlerden biri de halk arasında “yürekli havacıva” olarak bilinen *Alkanna cordifolia*’dır. *A. cordifolia*, terapötik potansiyeli yüksek bitkiler arasında yer almaktadır (Eminağaoğlu, 2021). Bu çalışma kapsamında, *A. cordifolia* bitkisinin toprak üstü kısımları ve köklerinden elde edilen yağ ve metanolik ekstraktların antioksidan ve yara iyileştirici etkilerinin *in vitro* koşullarda araştırılması amaçlanmaktadır. Çalışmada, insan fibroblast hücre hattı kullanılarak bu etkilerin incelenmesi planlanmaktadır. Bitkiden elde edilecek ekstraktlarda alkanin/şikoinin miktar tayini yapılacak ve bu ekstraktların fibroblast hücreleri üzerindeki etkileri; hücre proliferasyonu, migrasyonu ve kolajen sentezi gibi yara iyileşmesi ile ilişkili parametreler üzerinden değerlendirilecektir.

Literatür taramaları sırasında, *A. cordifolia* bitkisi üzerinde yara iyileştirici aktivite ve genotoksisiteye yönelik yapılmış kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda, sunulan çalışma, bu alandaki literatüre katkı sağlamayı ve söz konusu bitkinin biyolojik etkinliklerinin bilimsel temellere dayandırılmasını hedeflemektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. *Alkanna* Cinsinin Bitki Sistematiğindeki Yeri

Tür: *Alkanna cordifolia*

Alem: Plantae

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliophyta

Takım: Asteridae

Familiya: Boraginaceae

Cins: *Alkanna* (Tubives, 2024).

2.1.2. Boraginaceae Familyası

Boraginaceae familyası, The Plant List verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 195 cinse ve 2750 türe sahiptir. Çoğunlukla otsu bitkilerden oluşan bu familya, dünya çapında yaygın olsa da en fazla tür çeşitliliği Akdeniz Havzası ve Kaliforniya'da görülmektedir. (WFO, 2024).

2.1.2.1. Boraginaceae Familyasının Botanik Özellikleri

Boraginaceae familyasına ait bitkiler genellikle tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Nadiren de olsa küçük çalılar veya ağaçlar da bu familyada bulunur. Yaprakları almaşlı dizilmiş olup kulakçısız ve basittir. Genellikle sert tüylerle kaplıdır. Çiçekleri, dalların uç kısımlarında salkım, sarmal veya halkavi (cincinnus) şeklinde dizilir, bazen de bileşik salkım (thyrsoid) formunda olabilir. Çanak yaprakları birleşik olup genellikle beş lopludur, ancak nadiren dokuz loplulu veya düzensiz dişli olabilir. Çiçeklenme sonrası çanak yaprakları büyümeye devam edebilir.

Taç yaprakları beş loplu olup genellikle radyal simetridir (aktinomorf), ancak bazı türlerde tek eksenli simetri (zigomorf) görülebilir. Taç yapraklar genellikle belirgin bir tüp şeklinde olup uç kısmı derin loblara ayrılmıştır. Çiçeğin boğaz kısmında genellikle beş ek çıkıntı, küçük tüycükler veya bir tüy halkası bulunur, ancak bazı türlerde tamamen düz ve tüysüz olabilir. Çiçeklerde beş adet erkek organ (stamen) bulunur. Bunlar taç yapraklarla birleşik olup taç loplarıyla dönüşümlü olarak dizilir. Yumurtalık (ovaryum) üst durumlu olup genellikle dört bölmelidir, nadiren iki bölmeli olabilir. Dişicik borusu (stilus) genellikle tabandan çıkan (gynobazik) bir yapıdadır, daha nadiren uç kısımdan çıkabilir ve genellikle bölünmemiştir. Tepecik (stigma) ise bütün ya da iki ila dört loblu olabilir. Meyve genellikle dört küçük parçadan (nutlet) oluşur. Ancak bazen gelişim sırasında bazı parçalar kaybolabilir veya kaynaşabilir. Bu durumda meyve, iki parçalı (merikarp) ya da etli bir yapı (drupa) şeklinde olabilir. Küçük meyveler, düz veya piramidal bir yapı (gynobaz) üzerine yerleşir. Meyvenin bağlanma noktası dar veya geniş olabilir, bazen küçük bir halka ya da sap içerebilir. Meyve yapısı çeşitlidir; bazı türlerde gaga benzeri çıkıntılar, dikenler ya da kabarcıklar bulunabilir. Meyvenin kenarı bazen kanat şeklinde genişleyebilir ya da dikenli olabilir. Ayrıca meyve yüzeyi tüylü, tüysüz veya farklı süslemelere sahip olabilir (Huber-Morath, 1978).

2.1.3. *Alkanna* Cinsinin Botanik Özellikleri

Alkanna cinsi, Hodangiller (Boraginaceae) familyasına ait olup, Akdeniz ve İran-Turan bölgelerinde yayılış gösteren yaklaşık 50 türe sahip bir bitki grubudur. Türkiye'de ise 36 tür ve tür altı taksonlarla birlikte toplam 42 takson bulunmaktadır. Bu taksonların 37'si endemiktir ve endemizm oranı %87'dir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2020).

Alkanna türleri genellikle çok yıllık otsu bitkilerdir ve çiçekleri hoş kokuludur. Yaprakları kısa tüylü (puberulous), uzun tüylü (pilose) veya sert tüylü (setose) olabilir. Üzerlerindeki örtü tüyleri ise ince salgılı ya da salgısız kıllardan, sert ve dikenimsi tüy (seta) yapısına

kadar çeşitlilik gösterebilir. Çiçekler, bitkinin uç kısımlarında yer alır ve bir veya birkaç salkımdan oluşur. Çiçeklerin tabanında brakte adı verilen küçük yapraklar bulunur. Çanak yaprakları neredeyse tabana kadar bölünmüştür ve meyve döneminde bir miktar büyür. Taç yapraklar mavi, sarı veya beyaz renkte olup, genellikle daha koyu renkli bir tüpe sahiptir ve huni şeklindedir. Çiçeğin boğaz kısmında bir tüy halkası bulunur ve bazen küçük girintiler içerebilir (Huber-Morath, 1978).

2.1.3.1. *Alkanna cordifolia* Türünün Botanik Özellikleri

Bu bitkinin taç yaprakları 8-13 mm uzunluğunda olup, taç lobunun çapı 10-11 mm'dir. Çanak yaprakları hafif tüylerle kaplıdır. Meyvesi (nutlet) 4 mm çapında olup, ucu (gagası) orta derecede aşağı doğru kıvrılmıştır. Bitkinin boyu 15-30 cm arasında değişir. Tüy yapısı bakımından salgısız veya seyrek, çok küçük salgılı tüyler içerebilir. Daha uzun tüyler ise salgısız, zayıf ve belirgin olmayan setiform yapıdadır. Bu tüyler yayılıcı veya yarı yatık olup 0,5-2 (-3) mm uzunluğundadır. Bitkinin taban kısmında ya hiç kabarcık bulunmaz ya da çok az kabarcıklıdır. Üzerindeki tüyler, küçük tüylerden uzun tüylere doğru kademeli bir geçiş gösterir. Taban yaprakları düz, tam kenarlı ve doğrusal-mızraksı (lineer-lanseolat) şekildedir. Boyutları 15-25 cm uzunluğunda ve 0,5-1,5 cm genişliğindedir. Gövde yaprakları ise mızraksıdan yumurtamsıya (lanseolat-ovat) değişen bir forma sahiptir ve 2-6 cm uzunluğunda, 1-2 cm genişliğindedir. Çiçek salkımları (cymes) meyve döneminde 10-20 cm uzunluğa ulaşır. Brakteleler (çiçeklerin tabanında bulunan yaprakçıklar) mızraksıdan yumurtamsıya değişir ve 1-4 cm uzunluğunda, 0,3-2 cm genişliğindedir. Çanak yaprakları çiçeklenme döneminde 6-8 mm, meyve döneminde ise 12-15 mm uzunluğundadır ve gevşek tüylerle kaplıdır. Taç yaprakları sarı renklidir ve dış yüzeyi tüsüzdür. Uzunluğu 8-13 mm olup, taç lobunun çapı 10-11 mm'dir. Meyvesi (nutlet) 4 mm çapında olup çukurcuklu ve ağsı desenli (scrobiculate-reticulate) bir yüzeye sahiptir. Meyvenin ucu orta derecede aşağı doğru

kıvrılmıştır. Bu bitki Temmuz ve Ağustos aylarında çiçek açar. 500-2000 metre arasındaki kuru ve taşlık alanlarda doğal olarak yetişir (Huber-Morath, 1978)

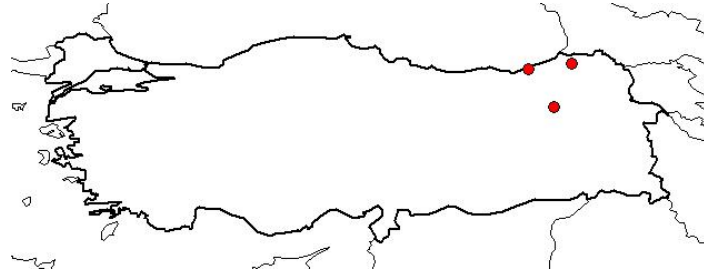
Yayılışı:

Alkanna cinsi, Akdeniz ve İran-Turan bölgelerinde yayılış göstermektedir. Bu bölgeler, cinsin biyocoğrafik dağılımında önemli bir yere sahiptir (Yıldırım ve ark., 2017).

Türkiye’de Yayılışı

Bulunduğu Bölgeler:

Kuzeydoğu Anadolu:A8 Rize: Çimil Vadisi, 1830 m (Bal. 1866:857!) Çoruh: Artvin, 500 m (Stainton 8184!) A8/9 Erzurum: Oltu, Sakal-Tutal, 24 Mayıs 1904 (König!) A9 Çoruh: Ardanuy’un 19 km doğusu, 1020 m (Hub.-Mor. 16076!) B10 Ağrı: Ağrı Dağı etekleri, Iğdır (D.D. Ç., A. Baytop, ISTE4829!) (Huber-Morath, 1978).



Şekil 2.1. *A.cordifolia* türünün Türkiye’deki yayılışı

Alkanna cordifolia, vilayetlere göre Ağrı, Artvin, Erzurum, Rize bölgesinde yayılış göstermektedir (Tubives,2024).

2.2. *Alkanna* Türlerinin Geleneksel Kullanımı

Halk arasında kök kısmının migren ve baş ağrısını hafifletmede kullanıldığı, içeriğindeki bileşiklerin kan dolaşımını iyileştirerek baş ağrısını hafiflettiği kayıtlıdır. Kökten elde edilen yağın, iltihaplı bölgelere uygulandığı ve iltihabın sebep olduğu ağrı ve semptomları azalttığı rapor edilmiştir (Abdel-Gelil, 2019). *Alkanna* türlerinden olan *Alkanna bracteosa* ve *Alkanna tricophila*'nın geleneksel tıpta antiinflamatuvar ve yara iyileştirici etkilerinden dolayı romatizma, artrit ve alerji tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Sevimli-Gür, 2009). Yanık izlerini gidermek için de kullanıldığı kayıtlıdır. Doğal anti-inflamatuvar ve serinletici özelliği sayesinde ciltteki ısıyı emdiği, bu etkisinden dolayı da *Alkanna* kökünün güneş kremi ve güneş yanığı giderici olarak faydalı olduğu belirtilmektedir (Abdel-Gelil, 2019). *Alkanna orientalis* kökü Tokat Reşadiye'de yanık tedavisinde kullanılmaktadır (Yüzbaşıoğlu, 2020). Türkiye'nin doğusunda bulunan birkaç ilde halk hekimliğinde kullanılan geleneksel uygulamaların araştırıldığı başka bir çalışmada *Alkanna tinctoria*'nın tek başına ya da balmumu ile yapılan karışımının yanıklarda ve yaralarda iyileşmeyi sağlamak amacıyla çok sık kullanıldığı saptanmıştır (Gümüş, 2015). Cilt sağlığını güzelleştirmek ve kırışıklıkları azaltmakta kökten elde edilen yağın etkili olduğu görülmüştür. İshal ve mide ülseri tedavisinde de oral olarak kullanımı etkili bulunmuştur (Abdel-Gelil, 2019). Antik çağlardan beri *A. tinctoria*'nın kökleri yara tedavisinde kullanılmıştır (Kheiri, 2017). Gümüşhane Kelkit'te de aynı türün kökleri tereyağına katılarak yaraları iyileştirmede kullanılmaktadır (Korkmaz ve Karakurt, 2014). Bu bitkinin İran halk hekimliğinde yara bandajı, inflamatuvar ve ağrıya bağlı rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığına dikkat çekilmiştir (Salimikia, 2015). Şanlıurfa Yaslıca beldesinde yapılan bir etnobotanik araştırmada *Alkanna strigosa*'nın meyvesi ve sakızının katı yağ ile

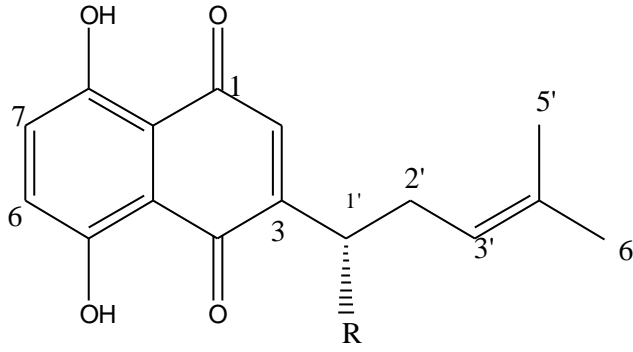
birlikte eritilip sonrasında donması beklenerek yara ve çatlaklarda merhem olarak kullanıldığı, çerez olarak da tüketildiği belirtilmiştir (Aslan ve ark., 2020). *A. tinctoria* köklerinin irinli yaraların ve ülser tedavisinde kullanımı M.Ö. 3. ve 4. yüzyılda yunanlı doktor ve filozof Hippocrates'in çalışmalarıyla başlamıştır (Sarıkürkcü, 2010). M.Ö. 3. ve 4. yüzyılda bitki bilimci ve bilgin Theophrastus'da boya özelliklerinden ve tıbbi uygulamalarından bahsetmiştir (Sarıkürkcü, 2010; Abdel-Gelil, 2019).

2.3. *Alkanna* Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Fitokimyasal Çalışmalar

Alkanna türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu izolasyonu yapılan maddeler, naftokinonlar, flavonoidler, fenolik bileşikler başlıkları altında sunulmuştur.

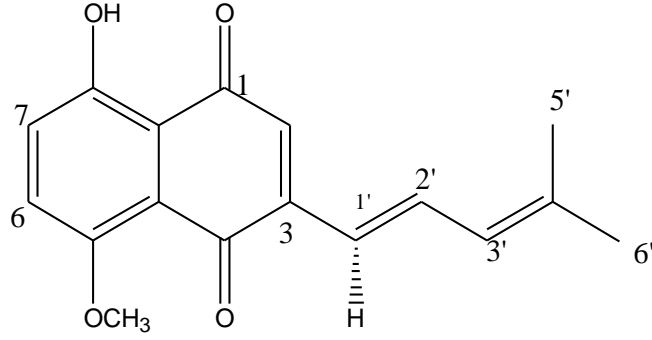
2.3.1. Naftokinonlar

Tablo 2.1. *Alkanna* türlerinden izole edilen başlıca naftokinon türevleri



Bileşik	R	Bulunduğu Bitki	Literatür
Alkanin	OH	<i>A. cappadocica</i> , <i>A. tinctoria</i>	Assimopoulou & Papageorgiou, 2005; Sevimli-Gur ve ark., 2010
Deoksialkanin	H	<i>A. cappadocica</i> , <i>A. tinctoria</i>	Assimopoulou & Papageorgiou, 2005; Sevimli-Gur ve ark., 2010
Asetilalkanin	COCH ₃	<i>A. cappadocica</i> , <i>A. tinctoria</i>	Assimopoulou & Papageorgiou, 2005; Sevimli-Gur ve ark., 2010
β,β -Dimetilakrilalkanin	CH=C(CH ₃) ₂	<i>A. cappadocica</i> , <i>A. tinctoria</i>	Assimopoulou & Papageorgiou,

Tablo 2.1'in devamı

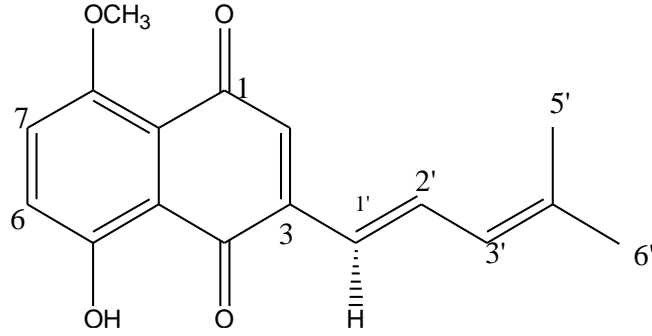


Bileşik
5-Metoksi
deoksialkanin

Bulunduğu Bitki
A. tinctoria

Literatür
Assimopoulou &
Papageorgiou,
2005

Tablo 2.1'in devamı

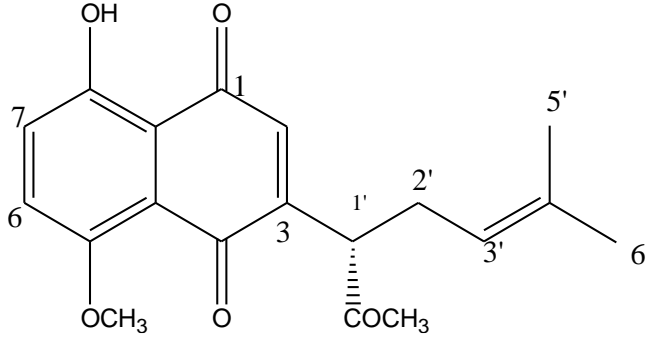


Bileşik
8-Metoksi
deoksialkanin

Bulunduğu Bitki
A. tinctoria

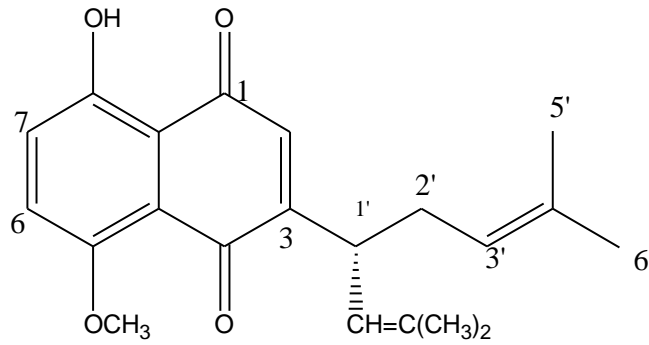
Literatür
Assimopoulou &
Papageorgiou,
2005

Tablo 2.1'in devamı



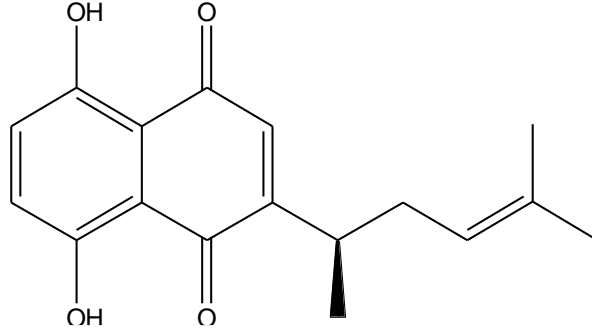
Bileşik	Bulunduğu Bitki	Literatür
5-Metoksi asetilalkanin	<i>A. tinctoria</i>	Assimopoulou & Papageorgiou, 2005

Tablo 2.1'in devamı



Bileşik	Bulunduğu Bitki	Literatür
5-Metoksi β,β - dimetilakrilalkanin	<i>A. tinctoria</i>	Assimopoulou & Papageorgiou, 2005

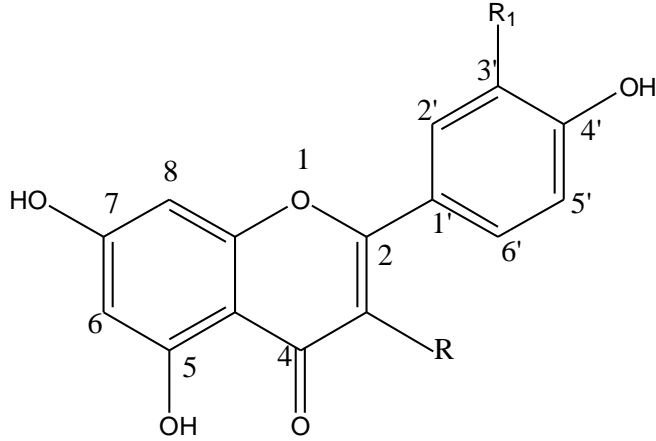
Tablo 2.1'in devamı



Bileşik	Bulunduğu Bitki	Literatür
Şikonin	<i>A. tinctoria</i>	Assimopoulou & Papageorgiou, 2005

2.3.2. Flavonoitler

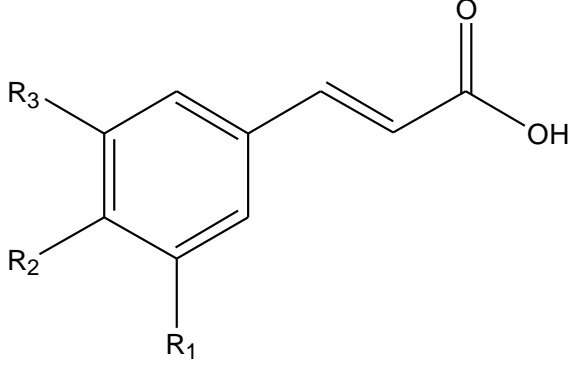
Tablo 2.2. Alkanna türlerinde bulunan flavonoitler



Bileşik	R	R1	Bulunduğu Bitki	Literatür
Kuersetin	OH	OH	<i>A. tinctoria</i>	Ganos ve ark., 2024
Kemferol	OH	H	<i>A. orientalis</i>	Ganos ve ark., 2024
Luteolin	H	OH	<i>A. tinctoria</i>	Ganos ve ark., 2024
Apigenin	H	H	<i>A. orientalis</i>	Ganos ve ark., 2024

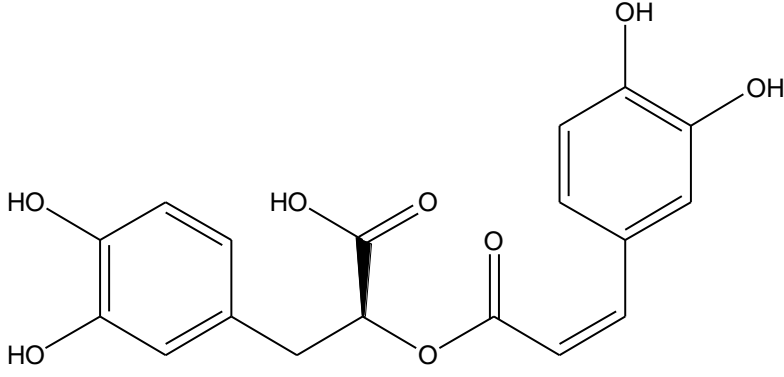
2.3.3. Fenolik Bileşikler

Tablo 2.3. Alkanna türlerinde bulunan fenolik bileşikler



Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bulunduğu Bitki	Literatür
Kafeik asit	H	OH	OH	<i>A. tinctoria</i> , <i>A. orientalis</i>	Ganos ve ark., 2024
<i>p</i> -Kumarik asit	H	OH	H	<i>A. orientalis</i>	Ganos ve ark., 2024
Ferulik asit	OCH ₃	OCH ₃	H	<i>A. orientalis</i>	Ganos ve ark., 2024

Tablo 2.3'ün devamı



Bileşik	Bulunduğu	Literatür.
	Bitki	
Rozmarinik Asit	<i>A. tinctoria</i>	Ganos ve ark., 2024

2.4. Alkanna Türleri Üzerinde Yapılan Farmakolojik Çalışmalar

Alkanna türlerinde yapılan çalışmalar, antioksidan, antimikrobiyal, antitümör, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici etki başlıkları altında verilmiştir.

2.4.1. Antioksidan Etki

Alkanin ve şikonin bileşikleri güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Yapılan bir çalışmada, bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir ve domuz yağı, mısır yağı, zeytinyağı ve ayçiçek yağı gibi farklı sıvı ve katı yağlar kullanılarak ekstratlar elde edilmiştir. *Alkanna tinctoria* kökleri, özellikle domuz yağında güçlü antioksidan aktivite göstermiştir (Assimopoulou ve ark., 2004). Bir diğer çalışmada, *A. tinctoria* bitkisinin köklerindeki bileşiklerin antioksidan aktiviteleri DPPH testi ile ölçülmüştür. Sonuçlar, alkaninin güçlü antioksidan etki sergilediğini göstermiştir. Özellikle oda sıcaklığında hazırlanan zeytinyağı ekstresi, iyi bir antioksidan etki ortaya koymuştur (Assimopoulou & Papageorgiou, 2005). *A. tinctoria*'nın uçucu yağı antioksidan aktivite açısından zayıf bulunmuştur. Ancak, su ve metanol ekstratları yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu için güçlü antioksidan etki göstermiştir. Sonuç olarak, *A. tinctoria* doğal bir antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebilir ve ilaç ile kozmetik sanayisinde potansiyel kullanım alanlarına sahiptir (Ozer ve ark., 2010).

2.4.2 Antimikrobiyal Etki

Alkanna tinctoria kök ekstresi güçlü antimikrobiyal özelliklere sahiptir (Das ve ark., 2024). Papageorgiou, 1976 yılında yaptığı deneylerle *A. tinctoria* kök ekstratlarının yara iyileştirici ve antimikrobiyal özelliklerini klinik olarak doğrulamıştır (Papageorgiou, 1999). *Alkanna* türlerinin kök kabukları üzerinde yapılan kimyasal analizler, bu bitkide bulunan alkanin ve şikonin gibi naftokinon bileşiklerinin antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilmesini ortaya koymuştur (Abdel Gelil, 2019). Ayrıca, *Alkanna* türlerinden elde edilen naftokinon türevleri ile gerçekleştirilen biyolojik aktivite çalışmaları, bu

bileşiklerin antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Sevimli-Gür, 2009). Bitkisel kökenli kinonların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Gram pozitif bakteriler *Mycobacterium tuberculosis*, parazitik protozoa ve filamentli mantarlar naftokinonlara en duyarlı olanlardır. Maya benzeri mantarlar (*Candida albicans*) ve bazı Gram negatif bakteriler (*Escherichia coli*) kinonlara nispeten dirençlidir. Bitkisel kökenli kinonlar birçok mikroorganizmanın elektron taşıma sistemlerinin aktivitesini ve ATP üretimini baskılayabilir: solunum zincirinde elektron alıcıları ve NADPH/H₂ oksidasyonunun kofaktörleri olarak görev yapabilirler. *Alkanna orientalis*'ten elde edilen sarothrinin antimikrobiyal bir ajan olarak *Staphylococcus aureus*'un eflüks pompaları aktivitesini inhibe edebileceği ortaya çıkarılmıştır. *A. orientalis* kallus özütlerinin çeşitli mikroorganizmalara karşı inhibe edici etkileri açıkça tanımlanmıştır (Petrosyan ve ark., 2015). Başka bir çalışmada, 0,125 ve 0,185 mg/ml'lik MİK değerleri, *Alkanna strigosa* kökünün hekzan ekstresinin bu çalışmada test edilen bakteri suşlarına karşı bakteriyostatik aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Bu değerler olağan antibiyotiklerin değerleriyle karşılaştırıldığında yüksek olsa da, ham ekstre ile elde edilmiş olmaları nedeniyle bu sonuçlar ilgi çekici bulunmuştur. Alkanin ve şikoninin kiral karışımı ile daha düşük MİK değerlerinin elde edilmiş olması, bu bileşenlerin antibakteriyel aktiviteden sorumlu olduğunu göstermiştir (Aburjai ve ark., 2019).

2.4.3. Antienflamatuar Etki

Yapılan bir çalışmada, *Alkanna tinctoria* bitkisinden elde edilen naftokinon türevlerinin belirgin antienflamatuar etki gösterdiği rapor edilmiştir (Abdel-Gelil, 2019). Benzer şekilde, başka bir çalışmada *Alkanna bracteosa*'nın, *Alkanna tricophila* türüne kıyasla daha güçlü analjezik ve antiinflamatuar özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Özellikle *A. bracteosa*'nın düşük dozlarda dahi etkili bir şekilde ağrı kesici ve

inflamasyon giderici etki gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular, söz konusu bitkilerin romatizmal hastalıklar ve inflamatuvar kökenli ağrıların tedavisinde doğal bir alternatif olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Mahmoudi ve ark., 2012).

2.4.4. Yara İyi Edici Etki

Alkanin esterlerinin nekrotik dokunun rejenerasyonunu hızlandırarak yara iyileşme sürecini desteklediği bildirilmektedir (Papageorgiou, 1978). Özellikle *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olması, bu bileşiği yara enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel bir ajan haline getirmektedir (Khan ve ark., 2015). *Alkanna tinctoria*, geleneksel tıpta yara iyileşmesini desteklemek amacıyla yaygın şekilde kullanılan bitkilerden biridir. Gümüş ve Karaman tarafından yürütülen bir çalışmada, balmumu, zeytinyağı ve *A. tinctoria* içeren bir karışımın ikinci derece yanık yaraları üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, bu karışımın epitelizasyon süresini kısalttığını, ağrıyı azalttığını ve hastanede kalış süresini anlamlı düzeyde kısalttığını ortaya koymuştur. Bu nedenle, söz konusu karışımın ikinci derece yanıkların tedavisinde etkili bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Gümüş ve Karaman, 2017). *Alkanna bracteosa* ve *Alkanna tricophila* gibi türler ise geleneksel tıpta antienflamatuvar ve yara iyileştirici özellikleri nedeniyle romatizma, artrit ve alerji tedavisinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Sevimli-Gür, 2009). Alkanin/şikonin bileşikleri; kronik ülserler, leprotik ülserler, yanık yaralanmaları ve anal fissürler gibi çeşitli doku bozulmalarında yara iyileştirici etkiler göstermektedir. Kheiri (2017) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada, *A. tinctoria*'nın yara iyileştirme etkisi standart pansuman uygulamalarıyla karşılaştırılmıştır. Çalışmada, deney grubuna günlük olarak topikal *A. tinctoria* merhemi uygulanırken, kontrol grubuna plasebo içeren merhem (petrolatum ve steril gazlı bez) uygulanmıştır. Bulgular, *A. tinctoria* içeren merhemin daha yüksek tam iyileşme

oranlarına ulaştığını ve yaraların plaseboya kıyasla daha hızlı iyileştiğini ortaya koymuştur (Kheiri, 2017).

Papageorgiou (1978) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, *A. tinctoria* köklerinden izole edilen alkanin esterlerinin, *ulcus cruris* hastalığına sahip 72 hasta üzerinde yürütülen klinik bir çalışmada oldukça etkili yara iyileştirici özellikler sergilediği rapor edilmiştir. Ayrıca laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan deneyler, bu bitkinin köklerinden elde edilen ekstrelerin cilt ülserlerinde olumlu etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda, söz konusu ekstrelerin farmasötik preparatlar şeklinde formülasyonu için çeşitli klinik çalışmalar yürütülmüştür (Papageorgiou., 1978).

Gümüş (2015) tarafından yapılan bir çalışmada ise *A. tinctoria*'nın, yara iyileşme sürecinin en kritik evrelerinden biri olan anjiogenezi (yeni kan damarlarının oluşumu) uyararak fibroblast üretimini artırdığı belirlenmiştir (Gümüş, 2015). Bununla birlikte, *A. strigosa* köklerinden elde edilen hekzan ekstresinin hem yara iyileştirici hem de antimikrobiyal özellikler göstermesi, bu bitkiyi irinli yara tedavisinde kullanılabilir hale getirmektedir (Aburjai ve ark., 2019).

2.4.5. Antitümör Etki

Alkanna türlerinin çeşitli insan kanseri türlerinin tedavisinde umut verici bir potansiyele sahip olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. *Alkanna tinctoria*'nın kök kabuğunda bulunan alkannin ve angelylalkannin bileşiklerinin, insan kolon kanseri hücrelerinde G1 fazında hücre döngüsünü durdurarak ve apoptozu indükleyerek hücre proliferasyonunu engellediği bildirilmiştir (Abdel-Gelil, 2019). Bazı *Alkanna* türlerinin sitotoksik etkilerine yönelik yürütülen bir çalışmada; *Alkanna cappadocica*, *Alkanna pseudotinctoria*, *Alkanna cordifolia*, *A. tinctoria* ve *Alkanna tubulosa* türlerinin metanolik ekstrelerinin güçlü sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle *A. cordifolia* üzerinde gerçekleştirilen biyoaktivite rehberli fraksiyonlama çalışması, bu

bitkinin DNA topoizomeraz I enzimini inhibe eden yüksek biyolojik aktiviteye sahip bileşikler içerdiğini ortaya koymuştur (Sevimli-Gür, 2009). Bu bileşiklerin antikanser etkileri, *Walker karsinosarkomu* modeli üzerinde yapılan *in vivo* deneylerle de desteklenmiştir (Assimopoulou & Papageorgiou, 2005). Ayrıca, *A. cappadocica* köklerinden izole edilen bazı naftokinon bileşiklerinin çeşitli kanser hücre hatlarına karşı yüksek düzeyde sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular, bitkisel kaynaklı naftokinonların kanser tedavisinde kullanılabilecek potansiyel ajanlar olabileceğini göstermektedir (Sevimli-Gür ve ark., 2010). Alkanin ve türevleri, insan kolon kanseri hücrelerinde G1 fazında hücre döngüsünü durdurarak apoptoz sürecini başlatabilmektedir. *A. cappadocica*'nın farklı kanser türlerine karşı da belirgin sitotoksik etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Bu türden izole edilen 5-O-Metil-11-O-Asetilalkannin, en güçlü antikanser bileşiklerden biri olarak tanımlanmıştır (Abdel-Gelil ve ark., 2019). Benzer şekilde, *A. tinctoria*'dan izole edilen alkanin ve angelylalkanin bileşiklerinin, kolorektal kanser hücrelerinde hücre döngüsünü durdurarak ve apoptozu indükleyerek tümör hücrelerinin çoğalmasını baskıladığı gösterilmiştir. Bu bileşiklerin düşük IC₅₀ değerleri ile güçlü antiproliferatif etkiler gösterdiği, dolayısıyla kanser tedavisinde yeni ilaç geliştirme çalışmalarında potansiyel adaylar olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir (Huu Tung ve ark., 2013).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyali

Türkiye Florası'na kayıtlı, geniş yayılış gösteren, Boraginaceae familyasından *Alkanna cordifolia* bitkisinin toprak üstü kısımları Erzurum'un Oltu ilçesi Dutlu köyünden 21 Haziran 2023 tarihinde Prof. Dr. Zühal Güvenalp, Sümeyra Yılmaz ve Orman Mühendisi Dr. Mehmet Önal tarafından toplanmıştır. Bitkinin kökü ise Erzurum'un Oltu ilçesi Dutlu köyünden Mehmet Önal tarafından aynı yılın Ekim ayında toplanmıştır. Bitkilerin teşhisi Dr. Mehmet Önal tarafından yapılmıştır. Saha çalışmalarında, ayrıca herbaryum örnekleri de alınarak, herbaryum örnekleri vasıtasıyla bitkinin binominal latince adı tayin edilmiştir. Hazırlanan herbaryum örnekleri Atatürk Üniversitesi Biyoçeşitlilik Uygulama ve Araştırma Merkezi Herbaryumu'nda muhafaza edilmektedir. Herbaryum No:

3.2. Kimyasal Maddeler ve Gereçler

3.2.1. Kimyasal Maddeler

3.2.1.1. Fibroblast Hücre Kültürü ve İmmunofloresan Analiz Çalışmaları

RPMI 1640 besi ortamı, Fetal Bovine Serum (FBS), penisilin, streptomisin, amfoterisin B, Fosfat Tamponlu Tuzlu Su (PBS), Bovine Serum Albumin (BSA), Trypsin-EDTA çözeltisi, MTT, Dimetil Sülfoksit (DMSO), Laktat Dehidrogenaz (LDH), ABTS, TAS Elisa kiti, TOS Elisa kiti, Monoklonal anti-BEK, Monoklonal anti-TGF β , Goat anti-mouse FITC, DAPI, %0.1 Triton X-100.

3.2.1.2. Genotoksisite Testleri

9-aminoakridin (9-AA), 4-nitro-o-fenilendiamin (4-NPD), sodyum azit (NaN_3), N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG), Etil Metan Sülfonat (EMS), %2 aseto-orsein boyası, %45'lik asetik asit / 1 N HCl (9:1).

3.2.1.3. Fitokimyasal Çalışmalar

Kimyasal Maddeler: Metanol (%70'lik çözelti)

Diğer Maddeler: Zeytinyağı, Tereyağı

3.2.2. Aletler ve Cihazlar

Tablo 3.1. Kullanılan cihazlar ve markaları

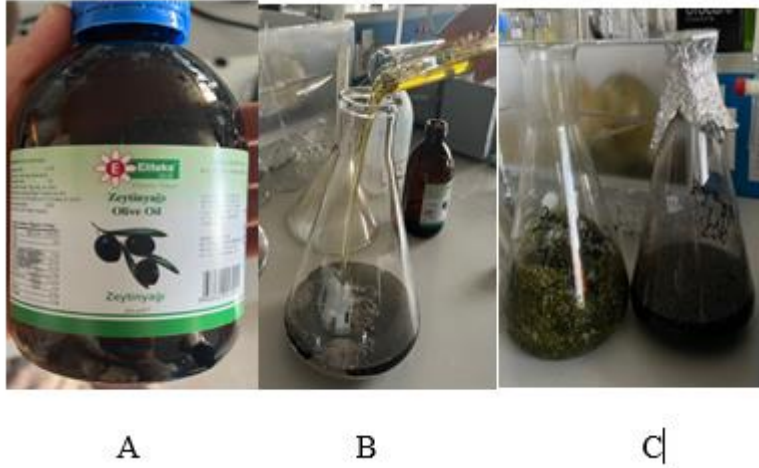
Cihazın Adı	Markası
Rotavapor	Buchi
Manyetik karıştırıcı	Torrey Pines Sci.
Buzdolabı ve Derin dondurucu	Vestel, ESCO Lexicon II ULT, UUS-480A-1-SD-SS
Hassas teraziler	Mettler Toledo AB104-S
Ultrasonik karıştırıcı	Bandelin Sonorex RK 255 H
Etüv	Memmert Typ. UM500
Elisa okuyucu	BT LAB Katalog No: E0530Ra
Santrifüj	Hettich UNIVERSAL 32R®, İngiltere
Floresan mikroskop	Zeiss Axio
Tekli ve çoklu otomatik pipet	Thermo Scientific Finnpiptette
pH metre	Schott CG 842, Filipinler
İnkübatör	NuAire, Amerika
UV Spektroskopisi	Thermo Scientific Multiscan Go
Spektrofotometre (Farmakoloji Lab.)	µQuant, Bad Friedrichshall, Biotek
HPLC Kolon	ACE 5 C18
Liyafilizatör	Christ Alpha 1-2 LD Plus
İTK Plağı	Merck (Silica gel F2254)

3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Toplanan bitkinin toprak üstü ve kök kısımları ayrılıp, hava sirkülasyonu olan, direk güneş almayan bir ortamda kurutuldu. Kök ve toprak üstü kısımlarından ayrı ayrı her ekstre için 100 g tartılıp değirmenden geçirildi ve bitki toz hale getirildi. Toz hale gelen bitki poşetlenip etiketlendi.

3.3.1. Zeytinyağı Ekstresi

100 g toz edilmiş kök üzerine 245 ml zeytinyağı (Eliteks marka) eklendi. Bir erlende ağzı alüminyum folyo ile kapatılıp güneşten uzakta 3-4 gün bekletilmek üzere saklandı. Aynı şekilde toprak üstü kısmı da hazırlandı. Toprak üstü kısmı için 735 ml zeytinyağı kullanıldı. Bekletilen ekstralar süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü.



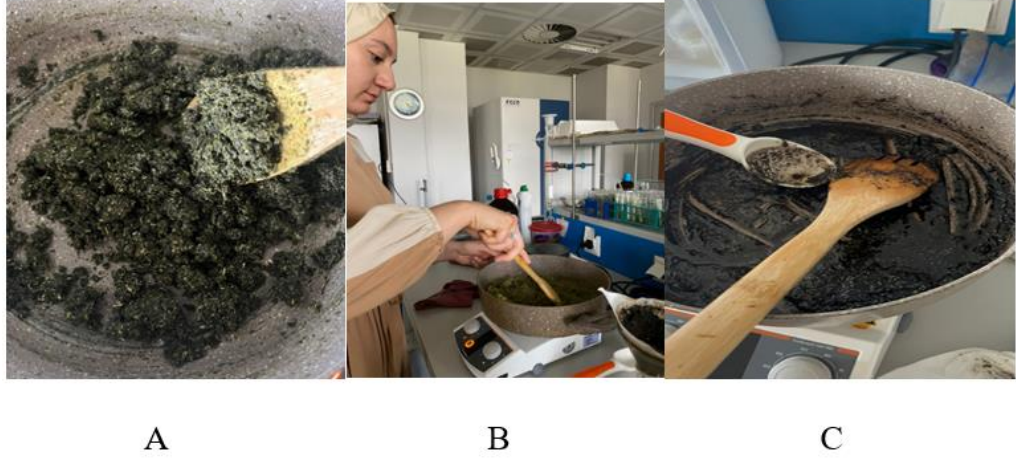
Şekil 3.2. Zeytinyağı ekstresine ait fotoğraflar

A-Kullanılan zeytinyağı B- Ekstraksiyon işlemi C- Toprak üstü ve kök ekstralarının son hali

3.3.2. Tereyağı ekstresi

250 gr tereyağı tavada eritilip üzerine 100 gr toz edilmiş kök eklendi. Yarım saat boyunca karıştırılarak 300°C’de pişirildi. Süzgeç kağıdı ile darısı alınmış kavanoza süzüldü. Küçük bir kavanoza ise süzülmemiş hali alındı. Aynı şekilde toprak üstü kısmı

da hazırlandı. Toprak üstü kısmı tülbent ile süzüldü. Kullanılan zeytinyağı ve tereyağı kontrol amacıyla etiketlenerek saklandı.



Şekil 3.3. Tereyağı ekstresine ait fotoğraflar

A- Tereyağı ve kök karışımı B-Kavurma işlemi C-Tereyağı ekstresi

3.3.3. Metanol Ekstresi

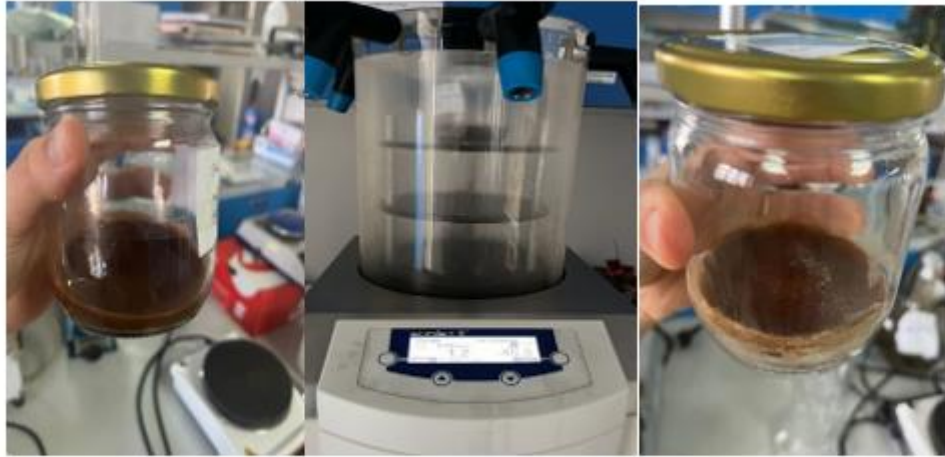
%70'lik metanol elde etmek için 350 ml metanol 150 ml distile su alındı. Toz edilmiş köklerin 100 gramının üzerine aktarıldı. Geri çeviren soğutucu ile ekstre edilmeye hazır hale geldi. Metanol kaynayana kadar 80 derece civarındaydı. Sonrasında 60-70 derecede bırakılıp 2 saat geri çeviren soğutucu altında bekledi. Sonrasında süzgeç kağıdı ile süzüldü. Bu işlem 3 defa tekrarlandı ve metanol rotavapor ile uçuruldu. Toprak üstü kısmı %70 metanol ile tamamlandı. 770 ml metanol, 330 distile su eklenip geri çeviren soğutucuya alındı. 2 saat bekledikten sonra süzgeç kağıdı ile süzüldü. İkinci işlemde 700 ml metanol 300 ml distile su ile işlem tekrarlandı. Üçüncü işlem için 600 ml metanol 400 ml distile su kullanıldı. Sonrasında elde edilen kök (7.686 g) ve toprak üstü (13,226 g) ekstreleri bir miktar distile su ile çözündürüldü ve kavanoza alındı. Daha sonra -80 derece sıcaklıkta bir gün bekletildi. Liyofilizatörde kurutuldu.



A

B

C



D

E

F

Şekil 3.4. Metanol ekstresinin hazırlanışına ait fotoğraflar

A-Geri çeviren soğutucu ile ekstraksiyon işlemi B- Rotavator ile uçurulma işlemi C- Ekstrenin uçurulmuş hali D- Liyofilizasyon işlemi için ekstre hazırlığı E- Liyofilizasyon işlemi F- Ekstrenin son hali

3.4. Hücre Kültürü

Çalışmamız için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar etik kurulundan B.30.2.ATA.0.01.00/114 sayı numarası ile etik kural izni alınmış olup tüm uygulamalar etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. İnsan Dermal Fibroblast Hücre Kültürü

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Bölümü'nden temin edilen insan fibroblast hücre hattı (ATCC, USA) kullanıldı. *In vitro* şartlarda yapılan hücre kültürü çalışmalarında kullanılan besi ortamı, hücrelerin büyümesi, yaşaması ve proliferasyonu için Fetal bovine serum (FBS), antibiyotik (penisilin-streptomisin-amfotrisin B) ve RPMI 1640 besi ortamı içermektedir. Hücreler, %90 nem, 37°C ve %5 CO₂ ortamında inkübe edildi. Çoğaltılan hücreler, planlanan deneyler için plakelere alındı ve farklı dozlarda ekstreler hazırlanıp fibroblast hücreleri ile kaplanan her kuyucuğa eklendi. Tüm deneyler üç tekrar ile gerçekleştirildi ve elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

3.4.2. İmmunofloresan Yöntem

Hücreler -20° C'de 5 dakika süreyle metanol ile fikse edilerek PBS ile yıkandı. Daha sonra oda ısısında 0.1% Triton X-100 içeren PBS ile 15 dakika bekletildi. Yıkama işleminden sonra 2%'lik BSA içeren PBS ile 60 dakika oda ısısında inkubasyona bırakıldı. Tekrar yıkama işleminden sonra monoclonal anti-BEK (Santa cruz, Katalog no. sc-6930) ve monoclonal anti- TGFβ (Santa cruz, Katalog no. sc-130348) primer antikorları ile 1/200 dilusyon oranında +4°C'de bir gece inkubasyona bırakıldı. PBS ile yıkanan hücreler kullanılan primer antikorlarla uyumlu olacak şekilde goat anti-mouse FITC (Jackson ImmunoResearch, Katalog no. 115-095-003) sekonder antikor ile 1/50 dilusyon oranında 1 saat süreyle oda ısısında karanlık ortamda inkubasyona bırakıldı. Son olarak yıkanan hücrelerin üzerine 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) damlatılarak

floresans mikroskopta (Zeiss Axio) incelendi. İncelemede hücrelerdeki floresans pozitifliklerinin yoğunluğu Fiji Image J programı ile değerlendirildi. Elde edilen veriler SPSS 20.0 programında one-way ANOVA, post hoc Tukey testi ile analiz edildi. Önemlilik derecesi $p < 0.001$ kabul edildi.

3.5. MTT Testi (Sitotoksosite Analizi)

MTT testi, sitotoksosite analizi için kullanılan bir yöntemdir ve temelde MTT (3-(4,5-dimethyl thiazole 2 yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide) adlı PBS'te çözünebilir bir maddeye dayanır. Bu test, canlı hücrelerin MTT'yi işleyerek formazan kristallerine indirgeyerek hücre canlılığını değerlendirir. MTT çözeltisi, PBS içinde çözünebilen MTT maddesini içerir. Hücre kültürü plakalarına eklenen hücrelere ilgili tedaviler uygulandı. Canlı hücreler, MTT çözeltisindeki MTT'yi indirgeyerek formazan kristallerini oluşturdu. Oluşan formazan kristallerini çözünebilir hale getirmek için her kuyucuğa 100 µl dimetilsülfoksit (DMSO) eklendi. Bu adım, hücrelerden formazanın çözeltiye transferini sağladı. DMSO eklenen kuyular, 4 saat boyunca tekrar inkübasyona bırakıldı. Bu süreç, formazanın tam olarak çözünmesini sağladı ve son olarak, spektrofotometre cihazı (örneğin µQuant, Bad Friedrichshall, Biotek) kullanılarak 570 nm dalga boyunda absorban ölçümü yapıldı. Bu, formazan kristallerinin yoğunluğunu ölçer. Canlılık oranı, her deney kuyusunun absorbanının kontrol kuyucuğunun absorbanına oranlanmasıyla hesaplandı. Sonuçlar SPSS istatistiksel analiz programı kullanılarak one-way ANOVA yöntemi ile analiz edildi.

3.6. Laktat Dehidrojenaz (LDH) Testi

Laktat dehidrojenaz (LDH), organizmadaki hemen tüm hücrelerde bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Hücreler toksik bir ajana maruz kaldığında, plazma membranının bütünlüğü bozulur ve LDH enzimi hücre dışına sızar. Hücre kültür ortamına salınan LDH düzeyi, hücre zar bütünlüğünün bozulduğuna işaret eder. Bu çalışma

kapsamında, kültür süpernatantındaki LDH aktivitesi, spektrofotometrik yöntemle nicel olarak belirlendi ve hücre hasarının bir göstergesi olarak değerlendirildi (Fotakis & Timbrell, 2006; Kumar, Nagarajan, & Uchil, 2018).

Kültür süpernatantları 3000xrpm de 20 dakika santrifüj (Hettich UNIVERSAL 32R®, İngiltere) edildi. Elde edilen süpernatant kısımlarında serotonin düzeyleri ELISA kiti (BT LAB Katalog No: E0530Ra) ile ölçüldü. Bütün reaktifler ve örnekler deneye başlamadan 30 dk önce oda sıcaklığına (18-25°C) bekletilerek çözülmeye bırakıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda konsantrasyonları 320-20 U/L (320; 160; 80; 40; 20; U/L) arasında değişen standartlar hazırlandı ve prosedür uygulandı. LDH düzeyleri standart grafik üzerinden hesaplandı ve sonuçlar sağlıklı kontrollerden elde edilen değerlerle kıyaslandı.

3.7. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Analizi

Total antioksidan kapasitesi (TAS) analizi, Erel tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, biyolojik örneklerde bulunan antioksidan bileşiklerin, güçlü oksidanlara karşı oluşturduğu toplam savunma kapasitesini değerlendirmeye yöneliktir. Analiz sırasında, koyu mavi-yeşil renkli ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)] radikali, örnekteki antioksidanlar tarafından indirgenerek renksiz hâle gelir. Bu renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülür ve renk yoğunluğundaki azalma, örnekteki total antioksidan kapasiteyle doğru orantılıdır (Erel, 2004).

Kültür süpernatantları 10000xg de 10 dakika santrifüj (Hettich UNIVERSAL 32R®, İngiltere) edildi. Elde edilen süpernatant kısımlarında serotonin düzeyleri ELISA kiti (Elabscience, Katalog No: E-BC-K801-m) ile ölçüldü. Bütün reaktifler ve örnekler deneye başlamadan 30 dk önce oda sıcaklığına (18-25°C) bekletilerek çözülmeye bırakıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda konsantrasyonları 2-0 mmol/L (2; 1.8;

1.6; 1.4; 1.2; 0.8; 0.4; 0 mmol/L) arasında değişen standartlar hazırlandı ve prosedür uygulandı. TAS kapasiteleri standart grafik üzerinden hesaplandı ve sonuçlar sağlıklı kontrollerden elde edilen değerlerle kıyaslandı.

3.8.Total Oksidan Seviyesi (TOS) Analizi

Toplam Oksidan Kapasitesi (TOS) düzeyi, Erel (2005) tarafından geliştirilen kolorimetrik bir yöntem kullanılarak analiz edildi. Bu yöntemde, numunede bulunan oksidan bileşikler, ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara oksitlemektedir. Asidik ortamda oluşan ferrik iyonlar, kromojen bir madde ile etkileşime girerek renkli bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin renk yoğunluğu, numunedeki toplam oksidan miktarı ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür. (Erel, 2005)

Kültür süpernatantları 10000xg de 10 dakika santrifüj (Hettich UNIVERSAL 32R®, İngiltere) edildi. Elde edilen süpernatant kısımlarında serotonin düzeyleri ELISA kiti (Elabscience, Katalog No: E-BC-K802-M) ile ölçüldü. Bütün reaktifler ve örnekler deneye başlamadan 30 dk önce oda sıcaklığına (18-25°C) bekletilerek çözülmeye bırakıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda konsantrasyonları 100-0 µmol/L (100; 80; 60; 40; 20; 10; 0 µmol/L) arasında değişen standartlar hazırlandı ve prosedür uygulandı. TOS kapasiteleri standart grafik üzerinden hesaplandı ve sonuçlar sağlıklı kontrollerden elde edilen değerlerle kıyaslandı.

3.9. Genotoksik ve Antigenotoksik Etkinliklerin Belirlenmesi

3.9.1.Test Maddelerinin Uygulama Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Test maddelerinin *S. typhimurium* suşları üzerinde sitotoksik olmayan en uygun konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılan uygulama çözeltileri bu maddelerin dimetilsülfoksit (DMSO) içinde çözülmesiyle hazırlandı. Araştırma için öngörülen ideal uygulama konsantrasyonları için üst limit belirlendi ve ona göre çalışma yapıldı.

Çalışmalardan anlamlı sonuçlar alınabilmesi maksadıyla her bir test maddesinin en az 5 farklı konsantrasyonu test edildi.

3.9.2. Ames/Salmonella Test Sistemi ile Genotoksik Aktivite Çalışmaları

Hazırlanan örneklerin potansiyel genetik tehlikesini belirlemek için Ames/Salmonella, *E. coli* WP2 ve *Allium cepa* deney sistemleri kullanıldı. Ortak test edilen suşlar *Salmonella typhimurium* TA97a, TA98, TA100, TA1535 ve TA1537, Ames/Salmonella bakteriyel reversiyon deneyinde kullanıldı ve ekstrelerin tek baz değişimi ve ekleme/silme tipi gen mutasyonlarına yol açma potansiyelini tespit etmek için kullanıldı. Pozitif kontrol ajanı olarak 9-Aminoakridin (9-AA: 50 µg/plaka) TA97a ve TA1537 için seçildi, TA98 için 4-nitro-o-fenilendiamin (4-NPD: 2.5 µg/plaka) ve TA100 ile TA1535 için sodyum azit (NaN₃: 5 µg/plaka) belirlendi. Negatif/araç kontrol olarak dimetil sülfoksit (DMSO: 100 µl/plaka) kullanıldı. Mutajenite testi için, ekstrelerin 100 µl (2-10 mg/plaka) ve test suşunun 100 µl'si (A540: 0.1-0.2) sodyum fosfat tamponuna (pH: 7.4) eklendi. Ardından, sınırlı L-histidinle takviye edilmiş erimiş agarın 2000 µl'si eklendi, iyice karıştırılıp karışım hemen glukoz minimal agar plakalarına döküldü. 48 saat boyunca 37 °C'de inkübasyonun ardından histidin bağımsız koloniler sayılacak ve sonuçlar plaka inkorporasyon yöntemi ile değerlendirildi. Bir test materyali, test grubunda negatif/araç grubuna göre iki kat artış görüldüğünde mutajenik olarak belirlendi. *Escherichia coli* WP2uvrA test suşu, tek baz değişimine neden olan ekstreleri tespit etmek için *E. coli* WP2 bakteriyel reversiyon deneyinde kullanıldı. Pozitif kontrol olarak N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG: 1 µg/plaka) seçildi ve negatif/araç kontrol olarak DMSO (100 µl/plaka) kullanıldı. Mutajenite deney prosedürü Ames/Salmonella deneyiyle tamamen benzerdir. Tek farklılık erimiş agarın sınırlı L-histidin yerine sınırlı L-triptofan ile takviye edilmesidir. Bakteriyel genotoksisite güvenlik değerlendirmesindeki tüm deneyler üç kez tekrarlandı ve veriler üç örnek

ortalaması ile standart sapma olarak ifade edildi. Allium cepa deneyinde, bireysel soğancıkların kök öncüleri suya batırılacak ve 24 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Ardından, örneklerin test gruplarına, pozitif kontrol grubuna etil metan sülfonat (EMS: 25 mM) ve negatif kontrol grubuna su eklendi. Tüm gruplar, hücre bölünmesinin maksimum sayısına ulaşmak için aynı koşullarda 48 saat boyunca korundu. Daha sonra kök uçları sivri uçlu penslerle toplandı, %45 asetik asit - %1 HCl (9:1) çözeltisi ile sabitlendi ve %2 aseto-orsein boyası ile 2 dakika boyunca boyandı. Lamelalar mitotik indeksin (MI) hesaplanması ve kromozomal anomalilerin belirlenmesi için mikroskop altında incelendi, $MI = (\text{Bölünen hücre sayısı} / \text{Toplam hücre sayısı}) \times 100$ Mitotik indeksin ve kromozomal anomalilerin hesaplanması için her konsantrasyondaki en az 5.000 mitotik kök hücresi gözlemlendi, sonuçlar yüzde (%) değerleri olarak ifade edildi ve istatistiksel olarak Fisher's kesin testi ve Doğrusal eğilim ($p < 0.05$) ile analiz edildi (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

3.9.3.Allium Testi İle Ekstrelerin Biyogüvenliğinin Araştırılması

Çalışmada kullanılacak soğan yumruları yerel marketlerden temin edildi. Deney aşamasında öncelikle yumruların dış kabukları steril bir pens yardımıyla soyulacak daha sonra yumrular saf suda 24 saat süreyle oda sıcaklığında köklenmeye bırakıldı. Bekleme süresinin ardından kökleri sağlıklı uzama gösteren yumrular seçildi ve aşağıdaki çalışma grupları oluşturuldu.

Negatif Kontrol (NK): Saf su ile geliştirilen yumrular

Pozitif Kontrol (PK): Etil metan sülfonat muamelesiyle geliştirilen yumrular

Test 1: 25 µg test maddesi muamelesiyle geliştirilen yumrular

Test 2: 50 µg test maddesi muamelesiyle geliştirilen yumrular

Test 3: 100 µg test maddesi muamelesiyle geliştirilen yumrular

Hazırlanan alışma grupları ilave 24 saat boyunca oda sıcaklığında gelişmeye bırakıldı. Süre sonunda her bir gruptan kökler toplandı ve %45'lik asetik asit/1 N HCl (9:1) fiksatifile 50  C'de 6 dk muamele edildi. Fikse edilen köklerin uçlarından 2 mm boyutundaki parçalar steril bistüri ile alınarak lam üzerine taşındı ve burada 3 dk boyunca aeto-orsein ile boyandı. Daha sonra preparatların lamelleri kapatılacak ve hücrelerin yayılması için hafifçe ezildi. Hücrelerin incelemeleri ışık mikroskobunda (400 X) yapılarak her bir grup için en az 1000 hücre sayıldı ve bu hücrelerin sitogenetik durumları kayda alındı (Feretti vd.,2007). Deneylerin istatistiksel değerlendirilmesinde "Fisher's exact test" ve "Linear trend" analizleri kullanıldı.

4. BULGULAR

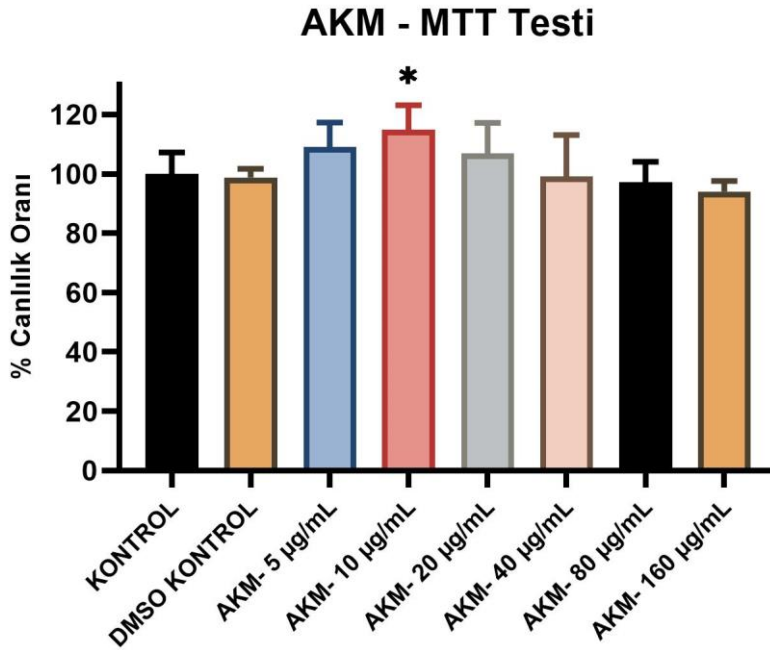
Alkanna cordifolia bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstreler, insan fibroblast hücre hattında MTT, LDH TAS, TOS ve immünofloresan analizleri ile değerlendirilmiştir.

4.1. *Alkanna cordifolia* Kök ve Toprak Üstü Kısımından Hazırlanan Ekstrelelere ait MTT Analizi Sonuçları

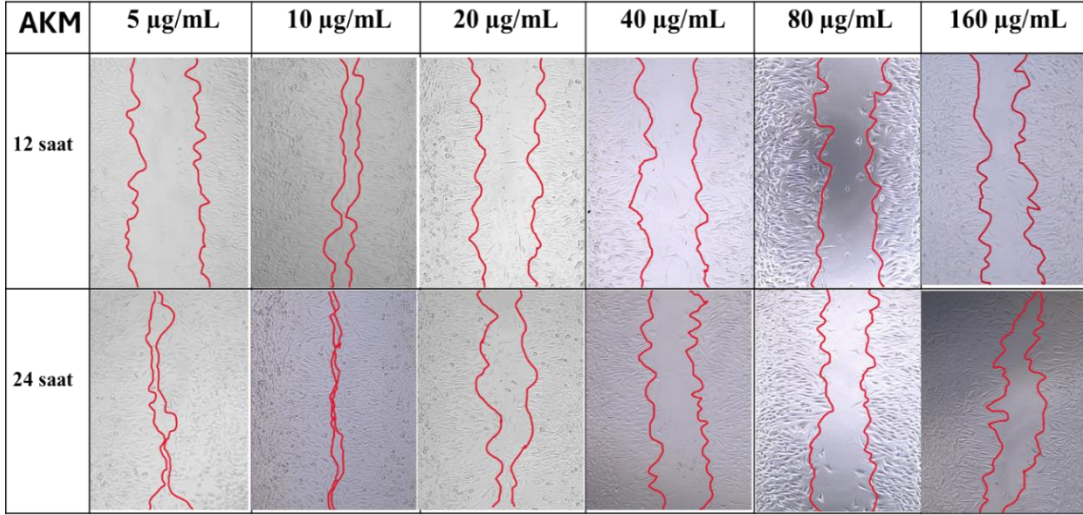
Alkanna cordifolia kök metanol ekstresi (AKM), *A. cordifolia* kök tereyağı ekstresi (AKT), *A. cordifolia* kök zeytinyağı ekstresi (AKZ), *A. cordifolia* toprak üstü metanol ekstresi (ATM), *A. cordifolia* toprak üstü tereyağı ekstresi (ATT) ve *A. cordifolia* toprak üstü zeytinyağı ekstresi (ATZ)'nin insan fibroblast hücre hattında *in vitro* yapılan MTT analizlerine ait bulgular aşağıda verilmiştir.

4.1.1. *Alkanna cordifolia* Kök ve Toprak Üstü Ekstreleri Üzerinde Yapılan MTT Testine Ait Bulgular

MTT analizi sonuçlarına göre (Şekil 4.1, Şekil 4.2) kontrol grubu ile AKM ekstresinin dozları kıyaslandığında AKM-10 µg/mL (2.511 ± 0.15) dozunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır (* $p < 0.05$).

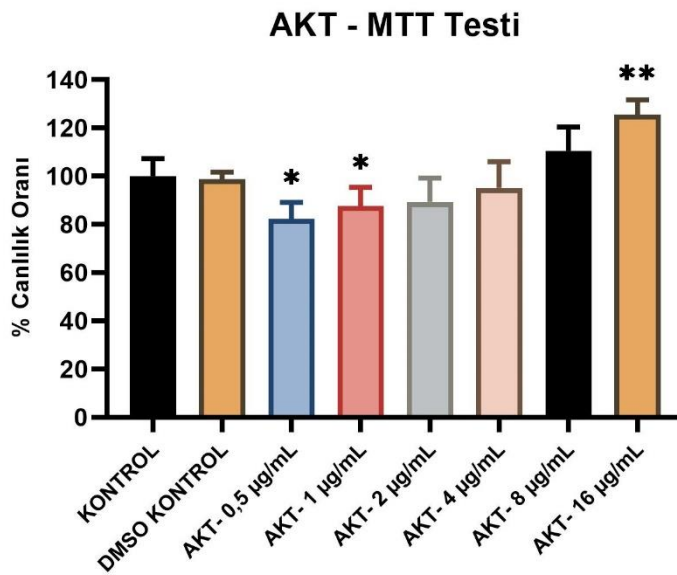


Şekil 4.1. AKM ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları

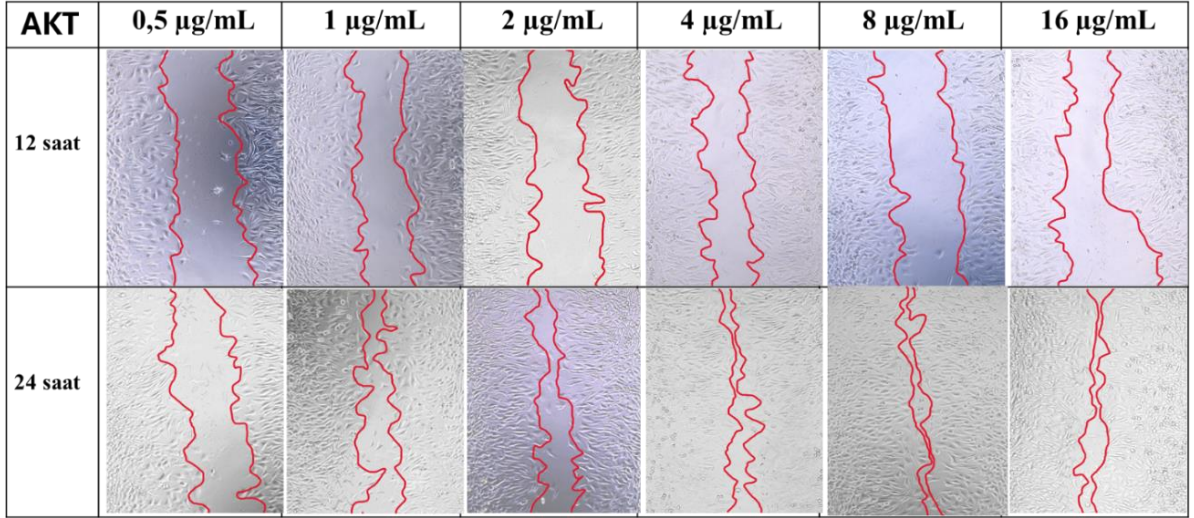


Şekil 4.2. AKM ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi

MTT analizi sonuçlarına göre (Şekli 4.3, Şekil 4.4) kontrol grubu ile AKT ekstresinin dozları kıyaslandığında AKT-16 µg/mL (12.745 ± 0.13) dozunun istatistiksel verilere bakıldığında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı (** $p < 0.01$) olduğu tespit edildi. Aynı zamanda kontrol grubu ile AKT ekstresinin dozları kıyaslandığında AKT-0.5 µg/mL (1.795 ± 0.15) ve AKT-1 µg/mL (1.913 ± 0.16) dozlarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır (* $p < 0.05$).

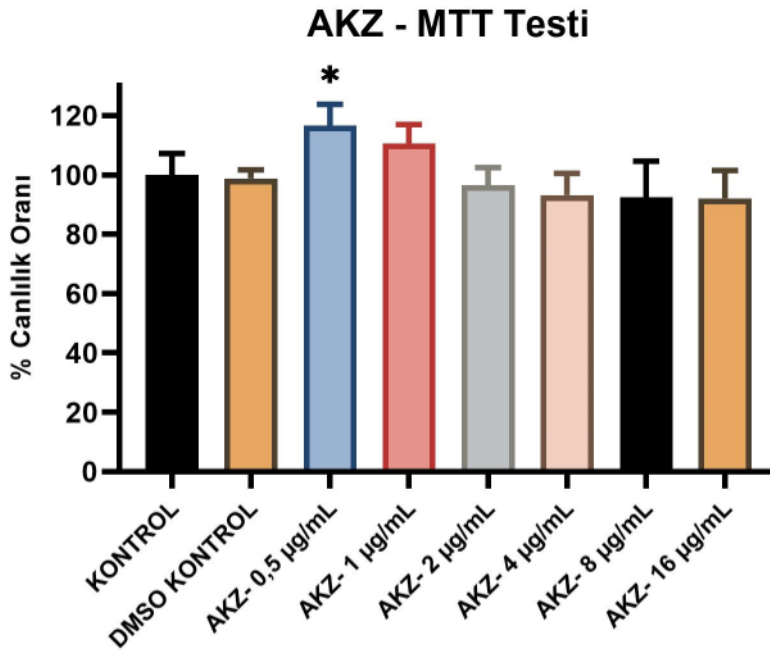


Şekil 4.3. AKT ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları

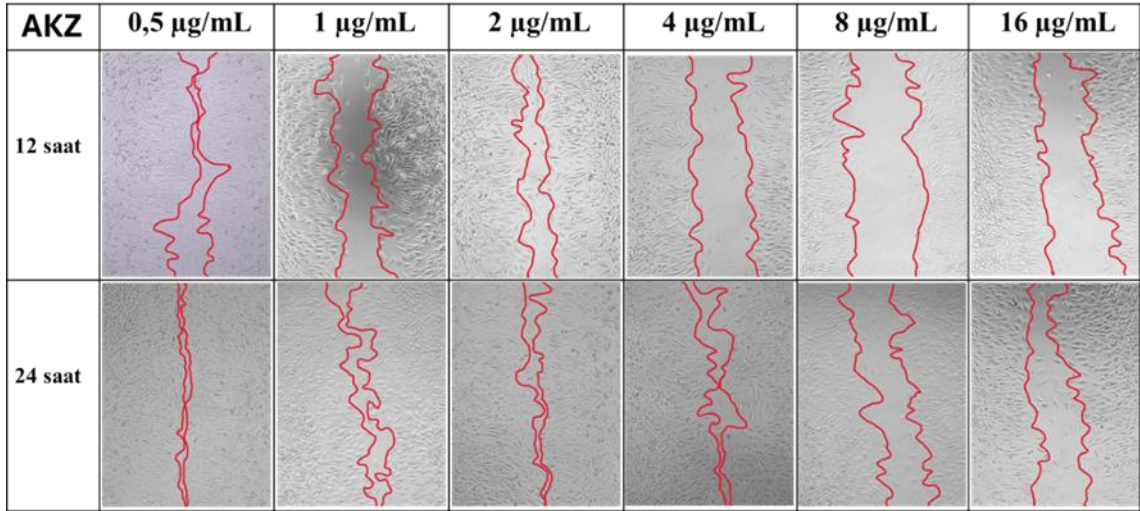


Şekil 4.4. AKT ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi

İnsan fibroblast hücre hattına uygulanan AKZ ekstresinin MTT analiz sonuçlarına göre (Şekil 4.1, Şekil 4.2), AKZ-0.5 µg/mL (2.547 ± 0.20) dozunun kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ($*p < 0.05$) olduğu tespit edildi.

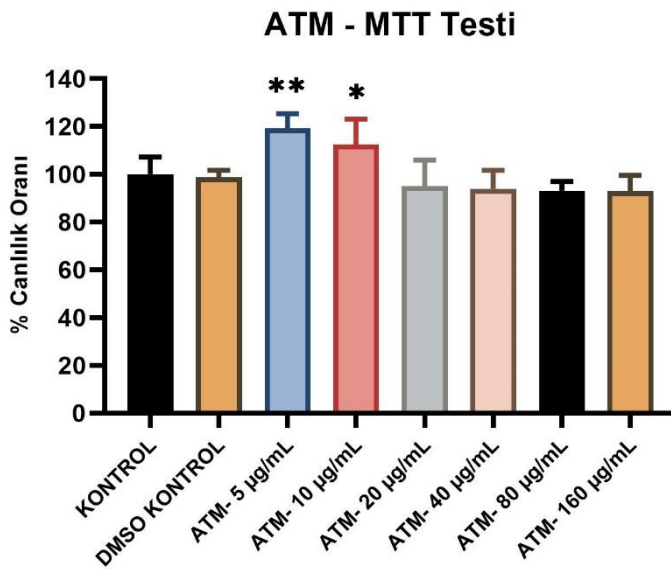


Şekil 4.5. AKZ ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları

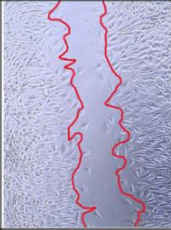
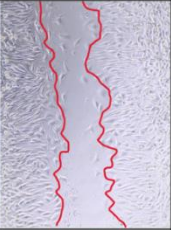
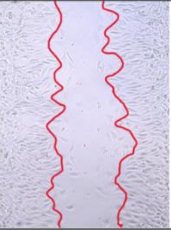
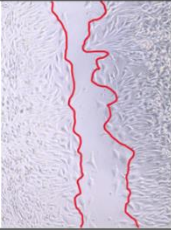
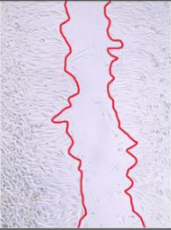

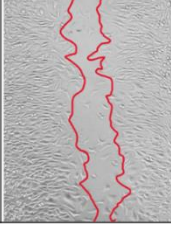
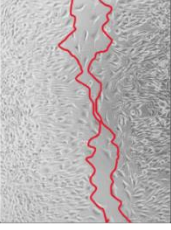
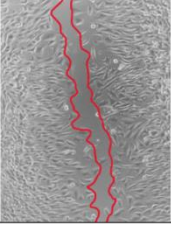
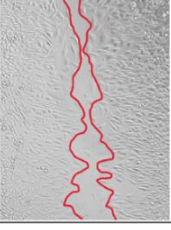
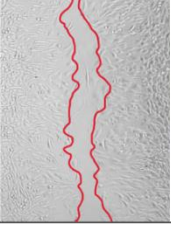
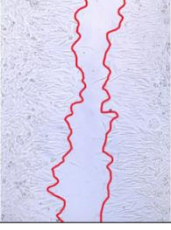


Şekil 4.6. AKZ ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi

MTT analizi sonuçlarına göre (Şekil 4.11, Şekil 4.12) kontrol grubu ile ATM ekstresinin dozları kıyaslandığında ATM-5 µg/mL (2.604±0.13) dozunun istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı (**p<0.01) olduğu, aynı zamanda kontrol grubu ile ATM ekstresinin dozları kıyaslandığında ise ATM-10 µg/mL (2.457±0.23) dozu istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır (*p<0.05).

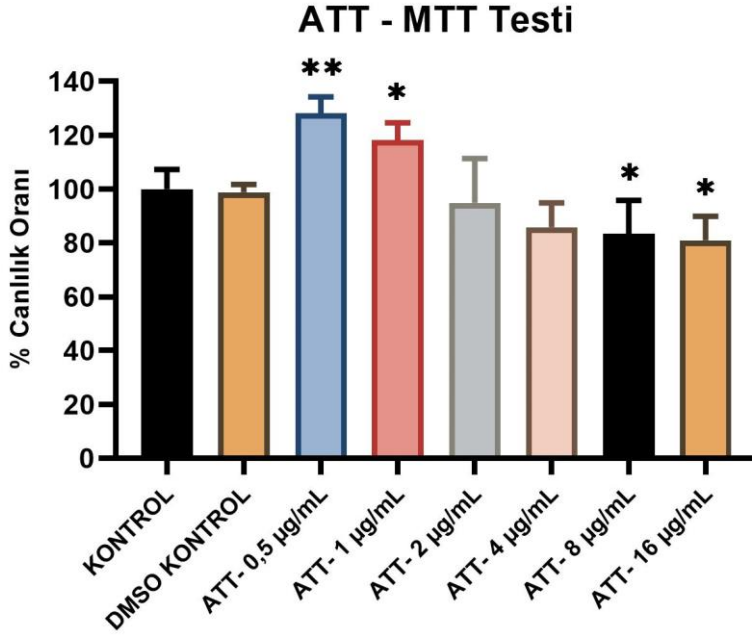


Şekil 4.7. ATM ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları

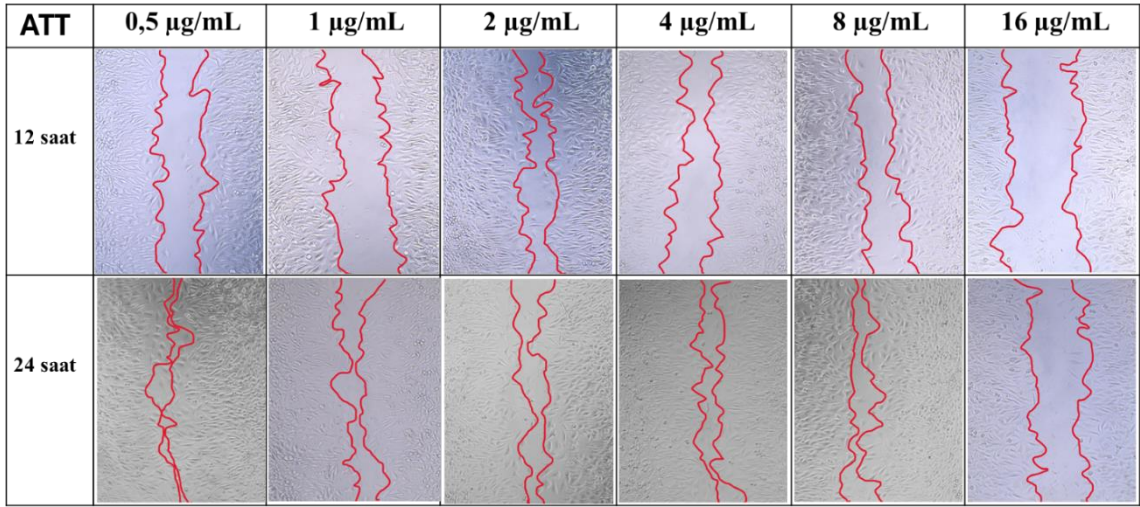
ATM	5 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	80 µg/mL	160 µg/mL
12 saat						
24 saat						

Şekil 4.8. ATM ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi

MTT analizi sonuçlarına göre (Şekil 4.9, Şekil 4.10) kontrol grubu ile ATT ekstresinin dozları kıyaslandığında ATT-0,5 µg/mL (2.801 ± 0.13) dozunun istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı (** $p < 0.01$) olduğu, aynı zamanda kontrol grubu ile ATT ekstresinin dozları kıyaslandığında ise ATT-1 µg/mL (2.582 ± 0.13) dozu, ATT-8 µg/mL (1.820 ± 0.27) ve ATT-16 µg/mL (1.767 ± 0.19) dozunun istatistiksel olarak anlamlı (* $p < 0.05$) olduğu tespit edildi.

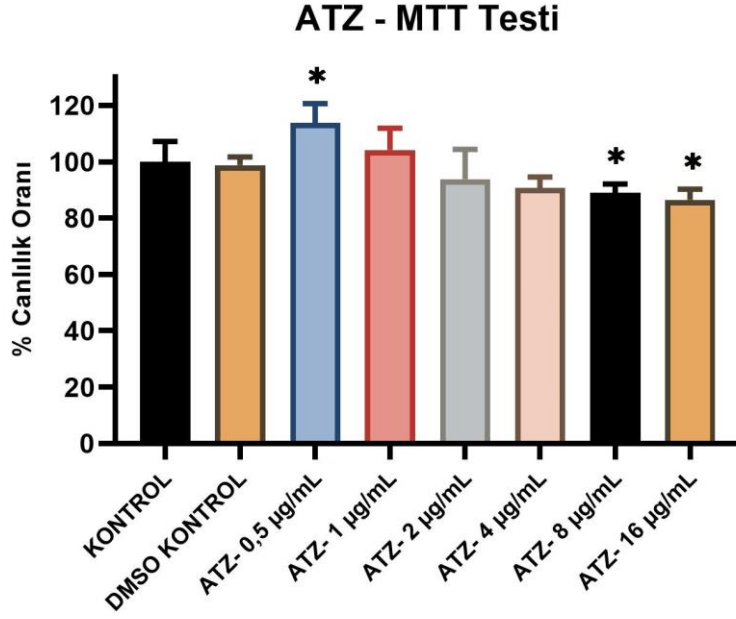


Şekil 4.9. ATT ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları

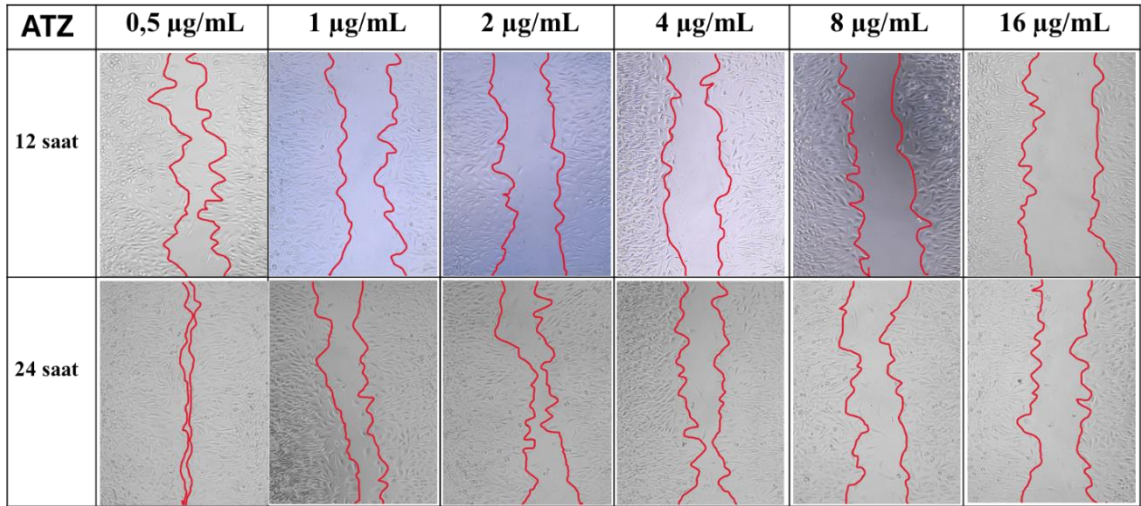


Şekil 4.10. ATT ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi

MTT analizi sonuçlarına göre (Şekil 4.7, Şekil 4.8) kontrol grubu ile ATZ ekstresinin dozları kıyaslandığında ATZ-0,5 µg/mL (2.486 ± 0.14), ATZ-8 µg/mL (1.943 ± 0.06), ATZ-16 µg/mL (1.889 ± 0.08) dozlarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır (* $p < 0.05$).



Şekil 4.11. ATZ ekstresinin dozlarının MTT testi sonuçları



Şekil 4.12. ATZ ekstresinin farklı konsantrasyonlarının hücre göçü üzerindeki etkisinin yara kapanma testi ile değerlendirilmesi

4.2. *Alkanna cordifolia*'dan Hazırlanan Ekstrelerin İmmünfloresans Analiz

Bulguları

Alkanna cordifolia kök metanol ekstresi (AKM), *A. cordifolia* kök tereyağı ekstresi (AKT), *A. cordifolia* kök zeytinyağı ekstresi (AKZ), *A. cordifolia* toprak üstü metanol ekstresi (ATM), *A. cordifolia* toprak üstü tereyağı ekstresi (ATT) ve *A. cordifolia* toprak

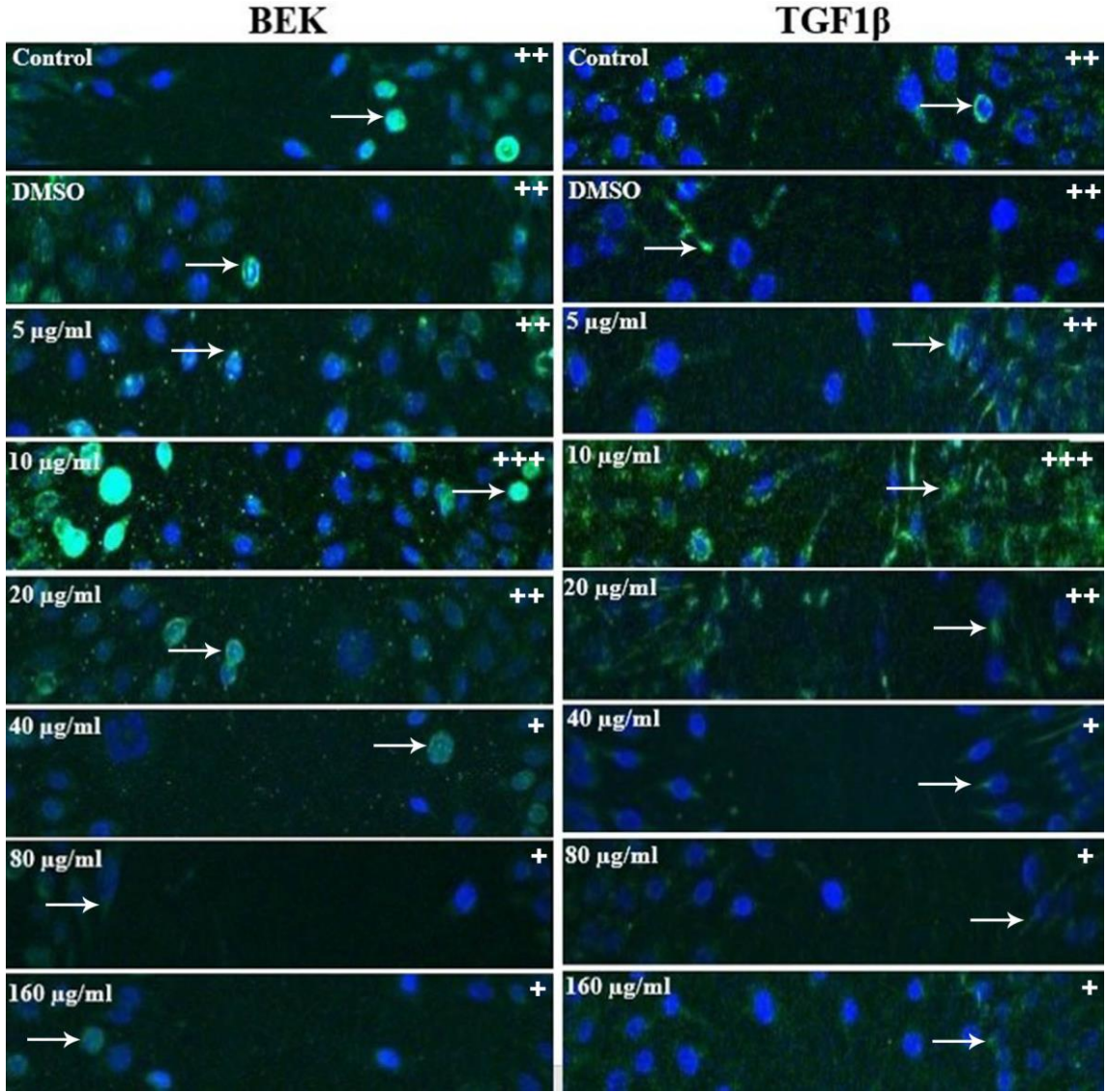
üstü zeytinyağı ekstresi (ATZ) gruplarında BEK ve TGF1 β yönünden immunfloresans boyamalar yapıldı ve elde veriler SPSS 20.0 programında one-way ANOVA, post hoc Tukey testi ile analiz edildi.

AKM grubunda yapılan boyamalarda 40 μ g/ml, 80 μ g/ml ve 160 μ g/ml doz gruplarında hafif düzeyde, kontrol, DMSO, 5 μ g/ml ve 20 μ g/ml doz gruplarından orta, 10 μ g/ml doz grubunda ise şiddetli düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitifliklerine rastlandı (Tablo 4.1, Şekil 4.13).

Tablo 4.1. AKM ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).

a,b,c Aynı sütundaki farklı harfler dozlar arası farklılığı göstermektedir.

AKM	BEK	TGF1β
Kontrol	18,90 \pm 5,48 ^a	15,83 \pm 3,21 ^a
DMSO	20,61 \pm 4,83 ^a	16,54 \pm 2,05 ^a
5 μg/ml	19,42 \pm 3,05 ^a	15,09 \pm 3,26 ^a
10 μg/ml	32,40 \pm 6,18 ^b	26,92 \pm 5,49 ^b
20 μg/ml	21,68 \pm 4,01 ^a	17,27 \pm 3,03 ^a
40 μg/ml	12,39 \pm 2,27 ^c	8,24 \pm 1,04 ^c
80 μg/ml	13,11 \pm 2,64 ^c	6,97 \pm 1,81 ^c
160 μg/ml	11,53 \pm 4,6 ^c	7,55 \pm 2,16 ^c

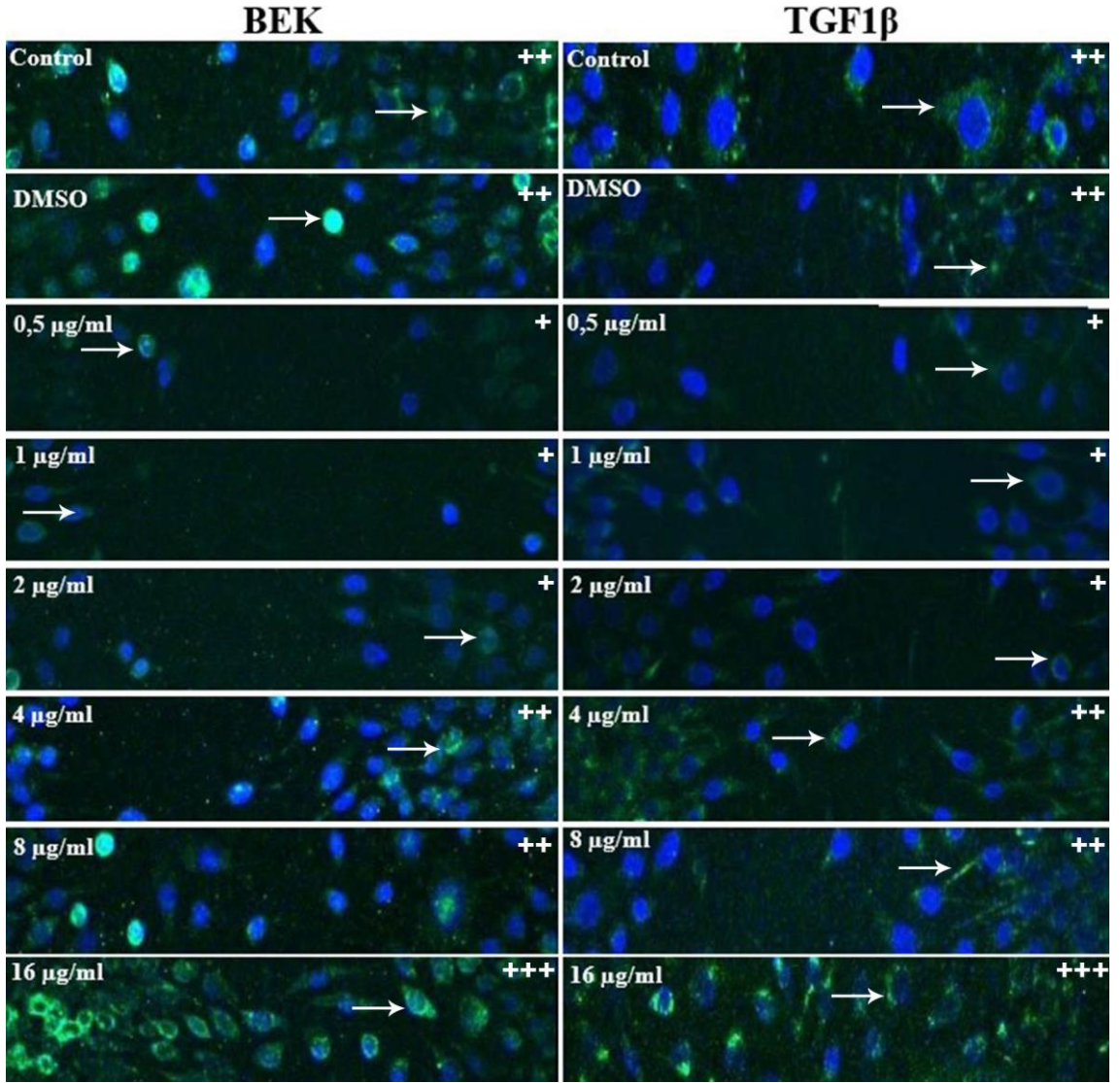


Şekil 4.13. AKM ekstresinin 10 μ g/ml doz grubunda şiddetli, Kontrol, DMSO, 5 μ g/ml ve 20 μ g/ml doz gruplarında orta diğer gruplarda hafif düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri (\rightarrow), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++). IF.

AKT grubunda yapılan boyamalarda şiddetli düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri 16 μ g/ml doz grubundaki gözlemlendi. Diğer gruplardan Kontrol, DMSO, 4 μ g/ml ve 8 μ g/ml doz gruplarında orta, 0,5 μ g/ml, 1 μ g/ml ve 2 μ g/ml doz gruplarında hafif düzeyde pozitifliklere rastlandı (Tablo 4.2, Şekil 4.14)

Tablo 4.2. AKT ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).

AKT	BEK	TGF1β
Kontrol	21,16 \pm 4,73 ^a	17,27 \pm 4,19 ^a
DMSO	19,48 \pm 5,06 ^a	16,93 \pm 3,71 ^a
0,5 μg/ml	12,07 \pm 3,82 ^b	9,61 \pm 2,50 ^b
1 μg/ml	13,51 \pm 4,95 ^b	8,97 \pm 3,29 ^b
2 μg/ml	12,48 \pm 5,24 ^b	10,55 \pm 4,36 ^b
4 μg/ml	20,41 \pm 6,03 ^a	19,94 \pm 3,90 ^a
8 μg/ml	18,96 \pm 5,49 ^a	20,35 \pm 3,61 ^a
16 μg/ml	32,44 \pm 7,16 ^c	28,18 \pm 5,31 ^c

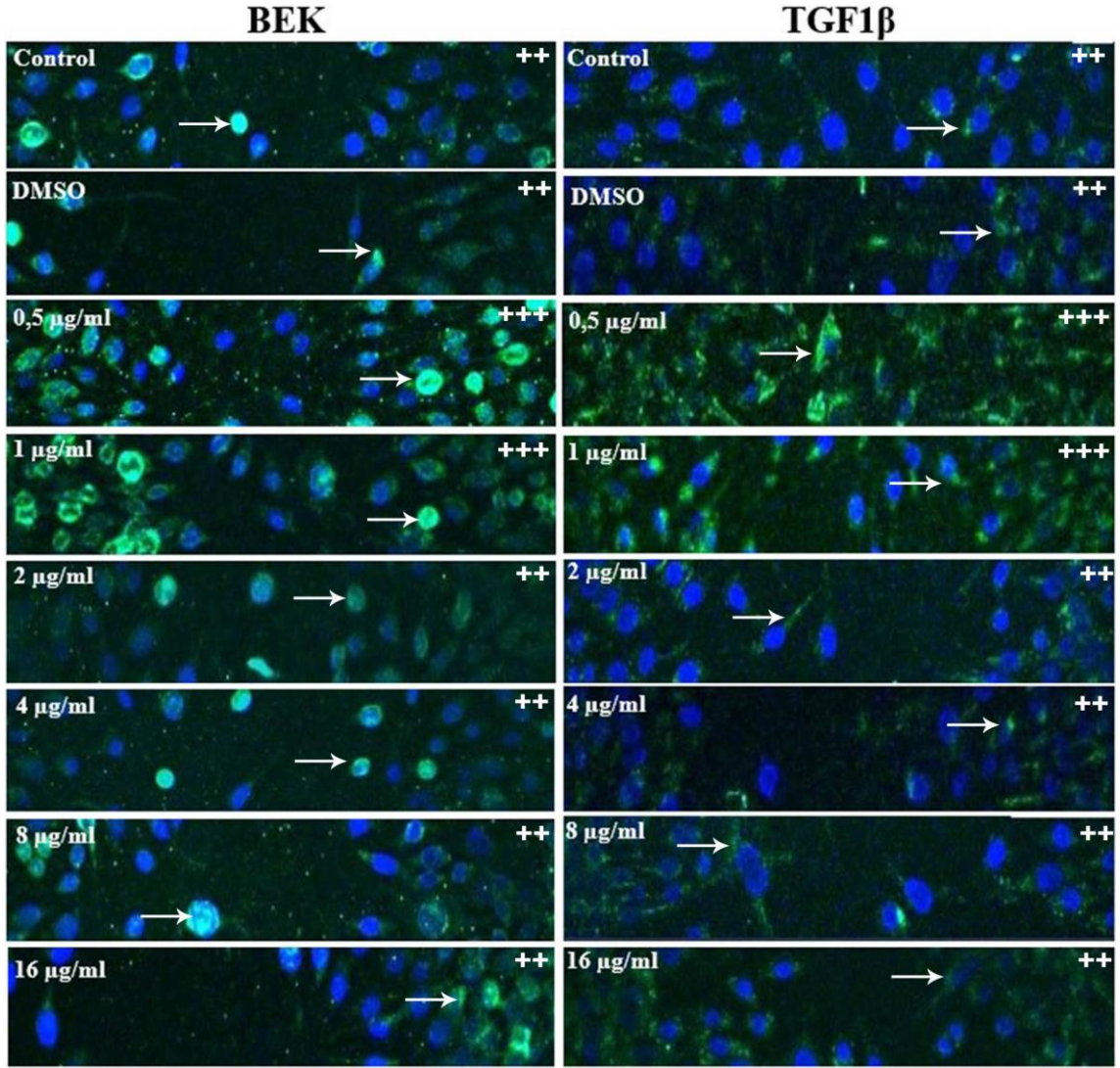


Şekil 4.14. AKT ekstresinin 16 μ g/ml doz grubunda şiddetli, Kontrol, DMSO, 4 μ g/ml ve 8 μ g/ml doz gruplarında orta, 0,5 μ g/ml, 1 μ g/ml ve 2 μ g/ml doz gruplarında hafif düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri (\rightarrow), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++). IF.

AKZ grubunda yapılan boyamalarda şiddetli düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri 0,5 μ g/ml ve 1 μ g/ml doz grubundaki gözlemlendi. Diğer uygulama gruplarında ise orta düzeyde pozitifliklere rastlandı (Tablo 4.3, Şekil 4.15).

Tablo 4.3. AKZ ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu ($p<0.001$). a,b Aynı sütundaki farklı harfler dozlar arası farklılığı göstermektedir.

AKZ	BEK	TGF1β
Kontrol	20,81 \pm 5,41 ^a	16,72 \pm 2,28 ^a
DMSO	19,20 \pm 4,82 ^a	18,06 \pm 3,86 ^a
0,5 μg/ml	33,48 \pm 5,17 ^b	29,20 \pm 6,13 ^b
1 μg/ml	31,95 \pm 4,01 ^b	28,39 \pm 4,06 ^b
2 μg/ml	21,03 \pm 2,89 ^a	17,12 \pm 5,03 ^a
4 μg/ml	22,51 \pm 3,64 ^a	16,07 \pm 2,47 ^a
8 μg/ml	20,12 \pm 4,67 ^a	18,11 \pm 5,60 ^a
16 μg/ml	19,97 \pm 3,20 ^a	18,33 \pm 4,03 ^a

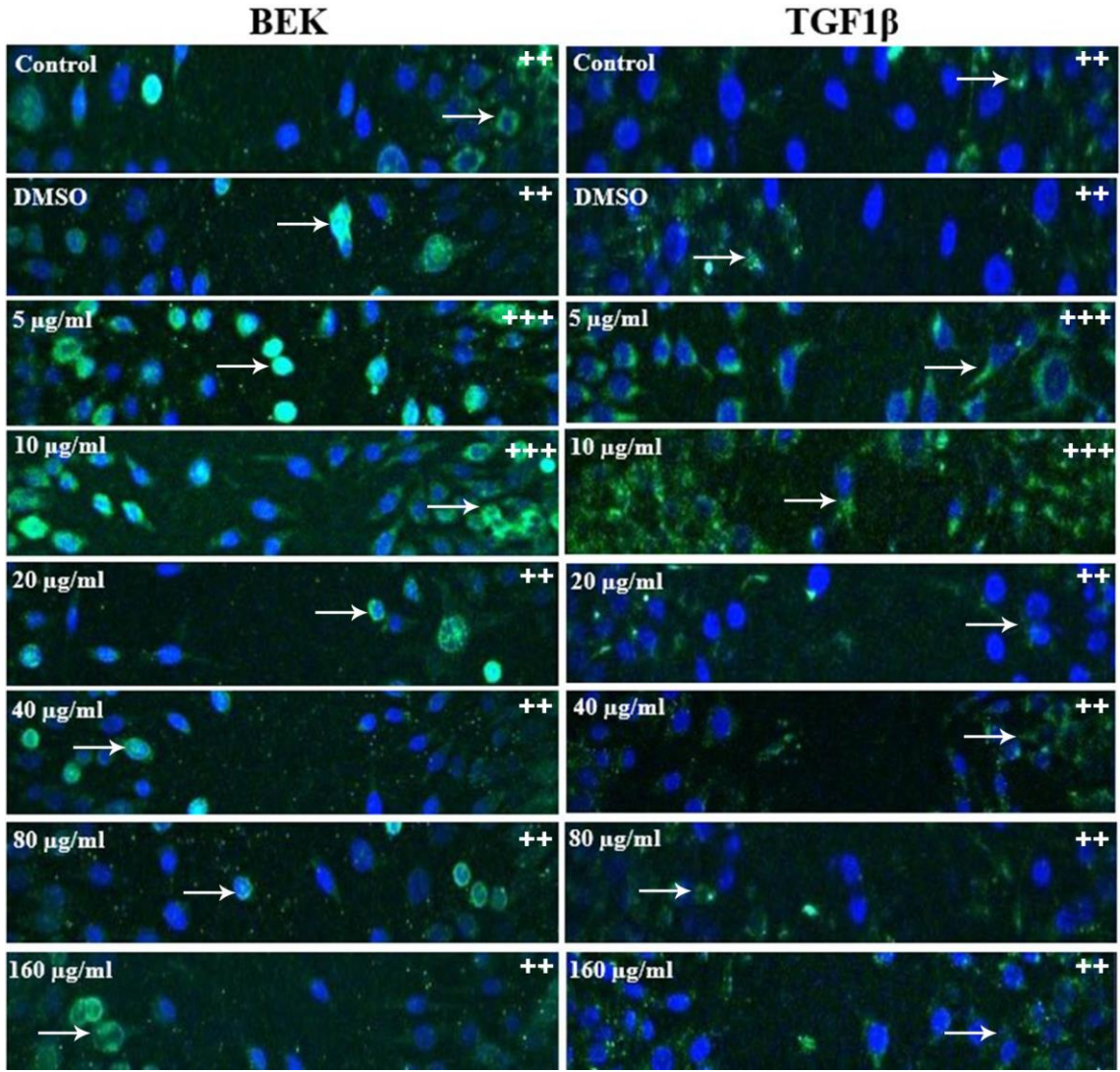


Şekil 4.15. AKZ ekstresinin 0,5 μ g/ml ve 1 μ g/ml doz grubunda şiddetli, diğer gruplarda orta düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri (\rightarrow), orta (++) , şiddetli (+++). IF.

ATM grubunda yapılan boyamalarda da şiddetli düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri 5 μ g/ml ve 10 μ g/ml doz grubundaki gözlemlendi. Diğer uygulama gruplarında ise orta düzeyde pozitifliklere rastlandı (Tablo 4.4, Şekil 4.16).

Tablo 4.4. ATM ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).

ATM	BEK	TGF1β
Kontrol	22,13 \pm 4,16 ^a	18,61 \pm 2,64 ^a
DMSO	21,07 \pm 3,63 ^a	17,40 \pm 3,21 ^a
5 μg/ml	34,52 \pm 5,92 ^b	29,07 \pm 5,34 ^b
10 μg/ml	33,04 \pm 2,63 ^b	28,31 \pm 1,37 ^b
20 μg/ml	19,33 \pm 3,97 ^a	16,95 \pm 4,80 ^b
40 μg/ml	20,01 \pm 5,69 ^a	17,64 \pm 4,19 ^a
80 μg/ml	22,39 \pm 4,30 ^a	18,51 \pm 3,11 ^a
160 μg/ml	19,07 \pm 2,51 ^a	18,34 \pm 6,28 ^a

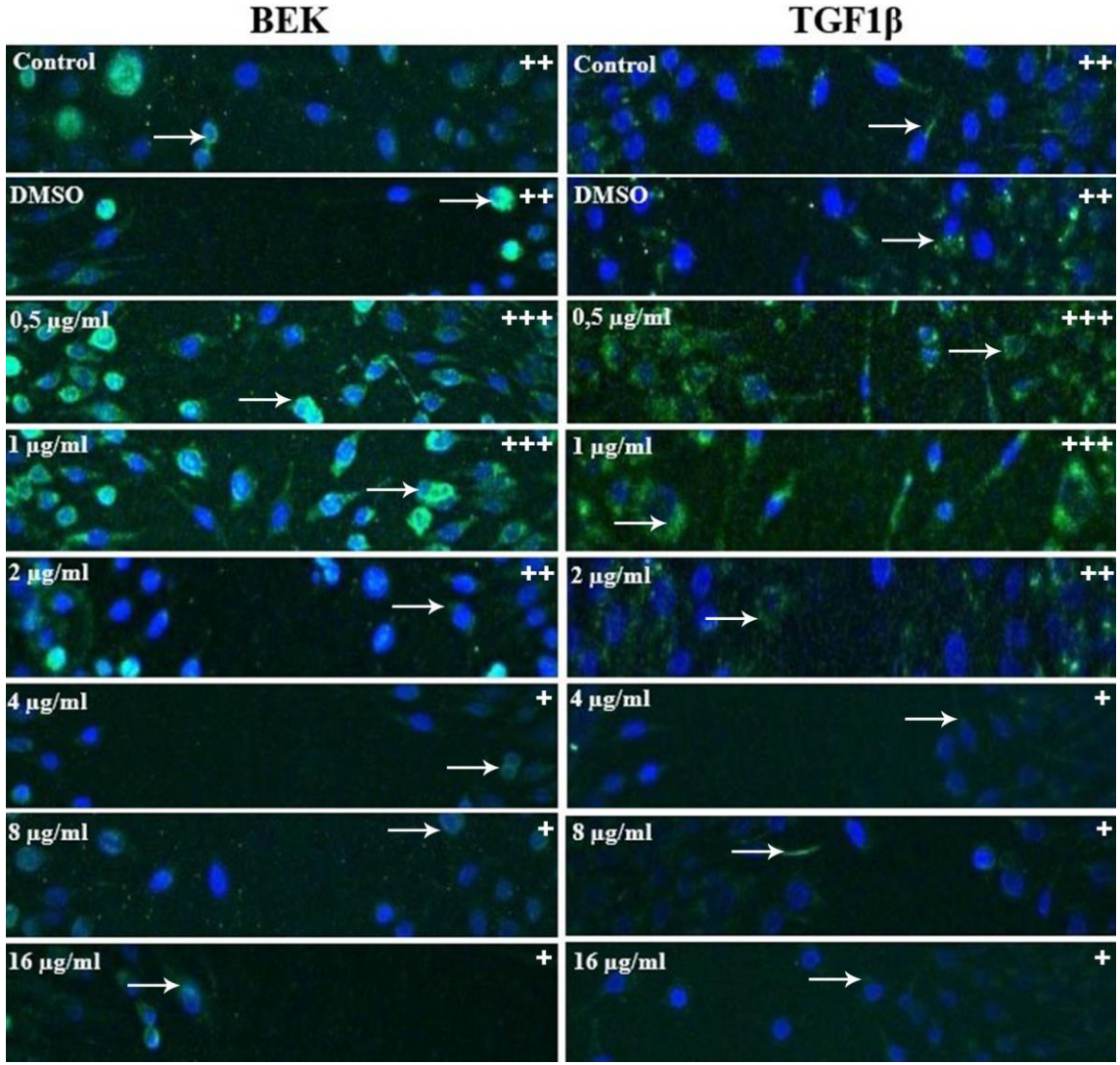


Şekil 4.16. ATM ekstresinin 5 μ g/ml ve 10 μ g/ml doz grubunda şiddetli, diğer gruplarda orta düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri, orta (++) , şiddetli (+++). IF.

ATT grubunda yapılan boyamalarda BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri 0,5 μ g/ml ile 1 μ g/ml doz gruplarında şiddetli düzeyde Kontrol, DMSO ile 2 μ g/ml doz gruplarında orta düzeyde, 4 μ g/ml, 8 μ g/ml ve 16 μ g/ml doz gruplarında ise hafif düzeyde tespit edildi (Tablo 4.5, Şekil 4.17).

Tablo 4.5. ATT ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu ($p < 0.001$).

ATT	BEK	TGF1β
Kontrol	21,65 \pm 4,19 ^a	15,82 \pm 1,18 ^a
DMSO	22,74 \pm 3,87 ^a	17,01 \pm 2,32 ^a
0,5 μg/ml	35,12 \pm 6,69 ^b	28,87 \pm 3,41 ^b
1 μg/ml	36,51 \pm 4,20 ^b	27,01 \pm 5,60 ^b
2 μg/ml	20,79 \pm 3,41 ^a	16,03 \pm 6,18 ^a
4 μg/ml	12,31 \pm 3,44 ^c	7,39 \pm 1,61 ^c
8 μg/ml	13,26 \pm 2,03 ^c	8,70 \pm 3,40 ^c
16 μg/ml	14,97 \pm 2,57 ^c	7,03 \pm 2,28 ^c

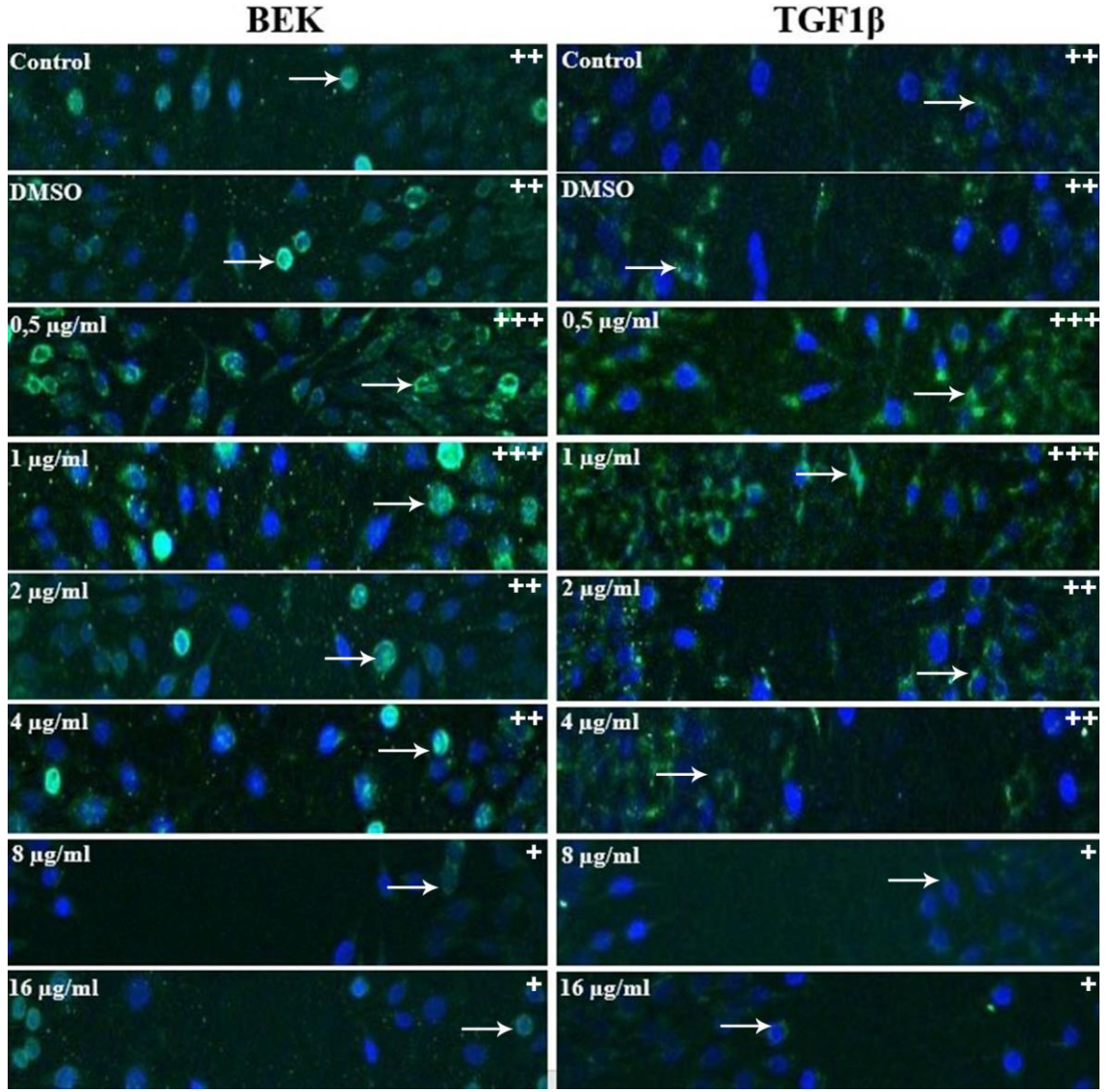


Şekil 4.17. ATT ekstresinin 0.5 μ g/ml ve 1 μ g/ml doz grubunda şiddetli, kontrol, DMSO ve 2 μ g/ml doz gruplarında orta, 4 μ g/ml, 8 μ g/ml ve 16 μ g/ml doz grubunda hafif düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri. Hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++).

ATZ grubunda yapılan boyamalarda BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri 0,5 μ g/ml ile 1 μ g/ml doz gruplarında şiddetli düzeyde Kontrol, DMSO, 2 μ g/ml ile 4 μ g/ml doz gruplarında orta düzeyde, 8 μ g/ml ve 16 μ g/ml doz gruplarında ise hafif düzeyde tespit edildi (Tablo 4.6, Şekil 4.18).

Tablo 4.6. ATZ ekstresinin BEK ve TGF1 β floresans pozitifliklerinin istatistiksel analiz tablosu (p<0.001).

ATZ	BEK	TGF1β
Kontrol	19,30 \pm 2,28 ^a	16,42 \pm 3,47 ^a
DMSO	18,97 \pm 2,04 ^a	15,33 \pm 2,92 ^a
0,5 μg/ml	33,71 \pm 4,32 ^b	26,04 \pm 5,26 ^b
1 μg/ml	32,86 \pm 5,10 ^b	27,18 \pm 3,79 ^b
2 μg/ml	18,63 \pm 5,42 ^a	14,42 \pm 6,23 ^a
4 μg/ml	20,04 \pm 4,58 ^a	16,39 \pm 2,06 ^a
8 μg/ml	12,48 \pm 1,29 ^c	7,20 \pm 1,31 ^c
16 μg/ml	13,54 \pm 1,62 ^c	6,96 \pm 2,50 ^c



Şekil 4.18. ATZ ekstresinin 0.5 μ g/ml ve 1 μ g/ml doz grubunda şiddetli, kontrol, DMSO, 2 μ g/ml ve 4 μ g/ml doz gruplarında orta, 8 μ g/ml ve 16 μ g/ml doz grubunda hafif düzeyde BEK ile TGF1 β floresans pozitiflikleri. Hafif (+), orta (++) şiddetli (+++).

4.3. *Alkanna cordifolia* Ekstreleri Üzerinde Yapılan TAS, TOS, LDH

Deneylerine Ait Bulgular

Bu çalışma kapsamında, hücre kültüründe oksidatif stres düzeyi ve hücre zar bütünlüğündeki değişiklikleri değerlendirmek amacıyla toplam antioksidan seviyesi (TAS), toplam oksidan seviyesi (TOS) ve laktat dehidrogenaz (LDH) analizleri yapıldı. Yapılan analizler, farklı ekstrelerin uygulandığı gruplar arasındaki biyokimyasal değişimleri ortaya koymak ve hücre yanıtlarını karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

İnsan fibroblast hücre hattı (L929)'da LDH, total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidan seviyesi (TOS) analizleri yapıldı.

4.3.1. Toplam Antioksidan Seviyelerine Ait Bulgular

TAS, hücrelerin oksidatif strese karşı koyma kapasitesini yansıtan önemli bir biyokimyasal parametredir.

AKM uygulamasında (Şekil a) 5 µg/mL dozundan itibaren TAS değerinde anlamlı bir artış olduğu ($p < 0.5$), dozun yükseltilmesiyle birlikte bu artış daha da belirgin hale geldiği ve özellikle 160 µg/mL'de en yüksek seviyeye ulaştığı ($p < 0.001$) tespit edildi. Bu veriler, AKM'nin doz-bağımlı şekilde antioksidan kapasiteyi artırarak hücreleri oksidatif strese karşı koruma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

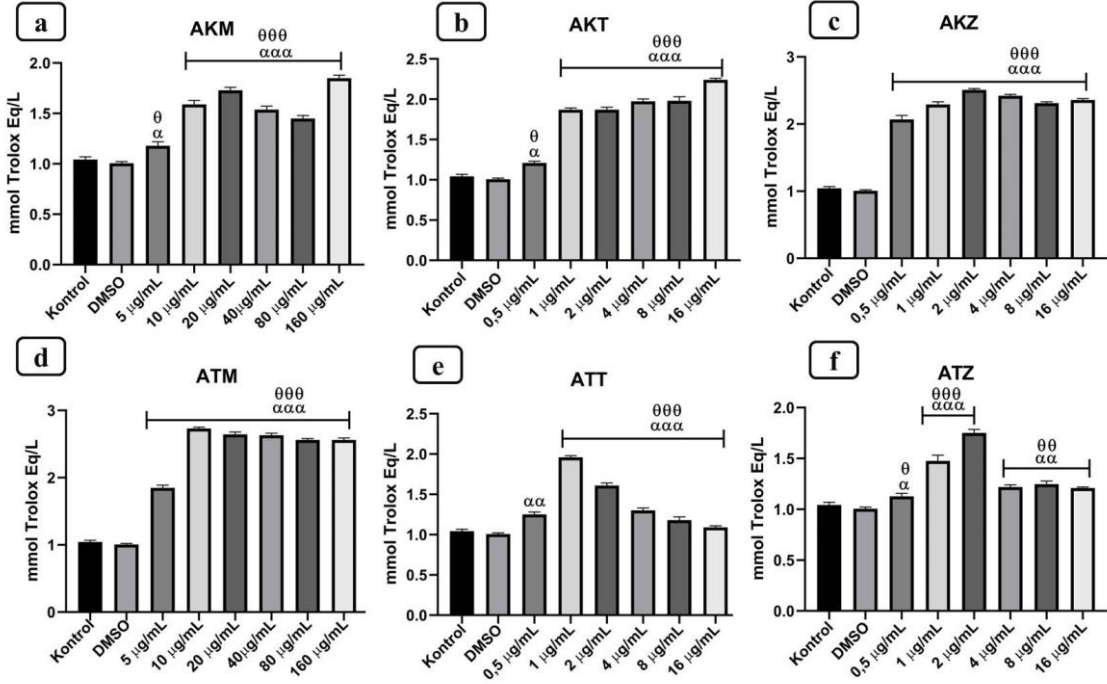
AKT uygulamasında (Şekil b), 1 µg/mL dozundan itibaren belirgin bir TAS artışı olduğu, bu artışın dozla birlikte devam ettiği ve 16 µg/mL'de en yüksek düzeye ulaştığı tespit edildi ($p < 0.001$). Bu sonuçlar, AKT'nin güçlü ve doz-bağımlı bir antioksidan etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

AKZ uygulamasında (Şekil c) TAS seviyeleri 0.5 µg/mL dozdan itibaren artış göstermiş ve 4 µg/mL konsantrasyonunda maksimum etki gözlenmiştir ($p < 0.001$). Ancak 8 ve 16 µg/mL dozlarında hafif bir düşüş gözlenmiştir. Bu durum, AKZ'nin belirli bir doza kadar antioksidan etki gösterdiğini, ancak yüksek dozlarda bu etkinin plato yapabileceğini veya kısmen azalabileceğini düşündürmektedir.

ATM grubunda (Şekil d), 10 µg/mL dozundan itibaren TAS seviyelerinde hızlı bir artış olduğu ve 20 µg/mL'de maksimum düzeye ulaştığı, daha yüksek dozlarda artış plato yaparak sabitlendiği tespit edildi. Bu bulgular, ATM'nin belirli bir konsantrasyona kadar güçlü bir antioksidan etki gösterdiğini, sonrasında bu etkinin dengeye ulaştığını göstermektedir.

ATT uygulamasında (Şekil e), 1 µg/mL dozunda anlamlı bir artış ($p < 0.01$, 2 µg/mL dozunda maksimum TAS düzeyine ulaştığı, ancak daha yüksek dozlarda TAS seviyesi kademeli olarak azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçlar, ATT'nin yalnızca düşük ve orta dozlarda antioksidan etki gösterdiğini, yüksek dozlarda ise etkinliğinin azaldığını veya prooksidan bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

ATZ uygulamasında (Şekil f), TAS düzeyleri 2 µg/mL dozunda artmaya başladı, 4 µg/mL’de en yüksek seviyeye ulaştığı, ancak 8–16 µg/mL aralığında belirgin bir azalma meydana geldiği ($p < 0.01$) tespit edildi. Bu durum, ATZ’nin düşük dozlarda antioksidan etki gösterdiğini, ancak yüksek dozlarda bu etkinin zayıfladığını ve hücrel savunma kapasitesinde düşüş yaşandığını ortaya koymaktadır.



Şekil 4.19. Kontrol, DMSO ve farklı konsantrasyonlardaki ekstre uygulamalarının hücrelerde toplam antioksidan seviyesi (TAS) üzerindeki etkileri. Veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak sunulmuştur. DMSO: Dimetilsülfoksit; α : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\alpha p < 0.05$, $\alpha\alpha p < 0.01$, $\alpha\alpha\alpha p < 0.001$; θ : DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\theta p < 0.05$, $\theta\theta p < 0.01$, $\theta\theta\theta p < 0.001$)

AKM, AKT, AKZ ve ATM örnekleri, genel olarak doz artışıyla birlikte antioksidan kapasiteyi yükselterek olumlu bir hücrel koruma etkisi göstermektedir. Buna karşılık, ATT ve ATZ örnekleri ise sadece düşük ve orta dozlarda anlamlı antioksidan aktivite sergilemiş, yüksek dozlarda ise bu etkinlikte düşüş gözlenmiştir. Bu durum, bazı bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda antioksidan etkilerini kaybedip prooksidan hale gelebileceğini göstermektedir.

4.3.2. Toplam Oksidan Seviyelerine Ait Bulgular

TOS analizi, hücre ortamındaki toplam oksidan yükü değerlendirilerek oksidatif stres durumu hakkında bilgi veren bir göstergedir.

AKM uygulamasında (Şekil a) 10 µg/mL dozunda en yüksek TOS seviyesi tespit edildi. Bu dozda elde edilen değer, hem kontrol grubuna hem de DMSO grubuna göre istatistiksel olarak oldukça anlamlı ($p < 0.001$) olduğu, daha yüksek dozlarda (40–160 µg/mL) TOS seviyeleri yüksek kalmaya devam etse de, 10 µg/mL'ye kıyasla bir miktar azalma göstermektedir (Şekil a). Bu durum, AKM'nin belli bir dozdan sonra prooksidan etkisinin azalabileceğini ve olası bir doz eşiği sonrası etkinliğinin sınırlanabileceğini düşündürmektedir.

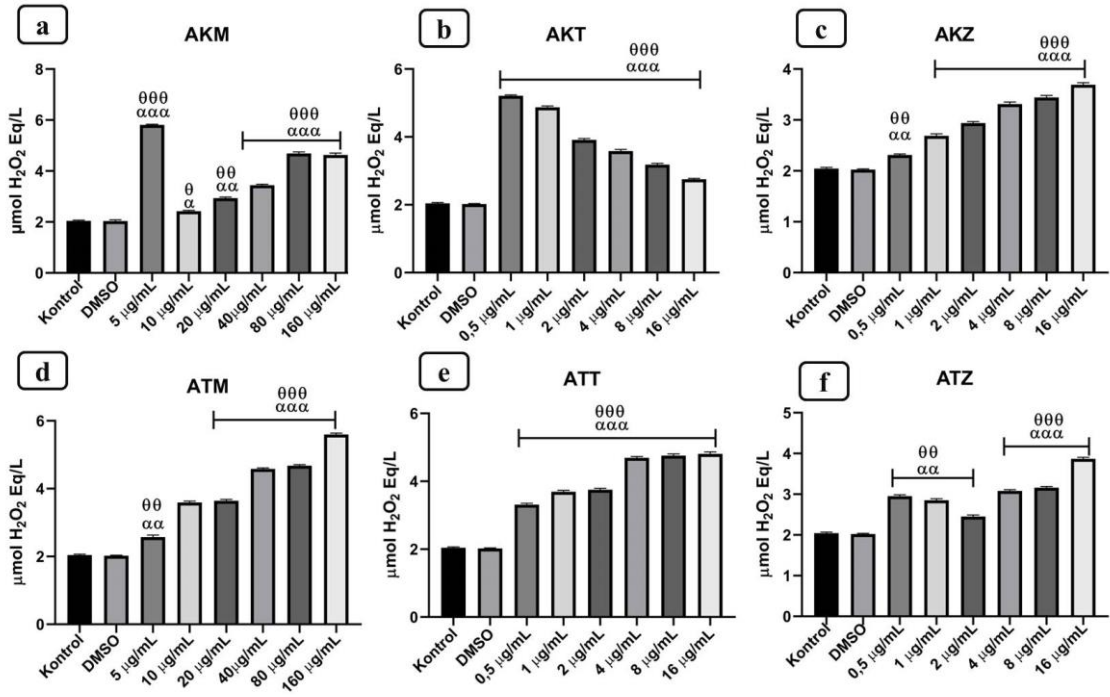
AKT için elde edilen veriler, düşük dozlarda (özellikle 0.5 ve 1 µg/mL) TOS seviyesinin yüksek olduğunu ancak doz arttıkça (örneğin 16 µg/mL) bu seviyenin azaldığını göstermektedir (Şekil b). Bu durum, AKT'nin düşük dozlarda oksidatif stres oluşturduğu, ancak yüksek dozlarda bu etkinin azaldığı, hatta olasılıkla antioksidan bir mekanizmanın aktive olduğu yönünde yorumlanabilir.

AKZ uygulamasında doz arttıkça TOS seviyesinde belirgin ve düzenli bir artış gözlemlendi. En yüksek değer 16 µg/mL dozunda olduğu (Şekil c), kontrol ve DMSO gruplarına göre bu artış yüksek derecede anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Bu veriler, AKZ'nin güçlü bir doz-bağımlı prooksidan etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

ATM grubunda, TOS düzeylerinde DMSO kontrolünden itibaren sürekli bir artış olduğu ve en yüksek değer 160 µg/mL dozunda olduğu gözlemlendi (Şekil d). Yüksek doz uygulamalarında elde edilen artışlar, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Bu sonuçlar, ATM'nin konsantrasyonla birlikte oksidan üretimini arttıran doz-bağımlı bir prooksidan ajan olduğunu göstermektedir.

ATT uygulamasında da TOS seviyelerinde artışın doza bağımlı olduğu, 16 µg/mL'de en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edildi (Şekil e). Uygulanan tüm dozlar, hem kontrol hem de DMSO gruplarına kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek TOS değerleri olduğu ($p < 0.001$) gözlemlendi. Bu bulgular, ATT'nin hücrelerde belirgin şekilde oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir.

ATZ örneğinde de benzer şekilde doz artışına paralel olarak TOS seviyelerinde kademeli bir yükseliş gözlemlendi (Şekil f). 16 µg/mL'de ölçülen en yüksek TOS seviyesi, hem kontrol hem de DMSO gruplarına göre anlamlı fark göstermektedir ($p < 0.001$). Bu veriler, ATZ'nin doz-bağımlı bir oksidatif stres indükleyicisi olduğunu kanıtlamaktadır.



Şekil 4.20. Kontrol, DMSO ve farklı konsantrasyonlardaki ekstre uygulamalarının hücrelerde toplam oksidan seviyesi (TOS) üzerindeki etkileri. Veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak sunulmuştur. DMSO: Dimetilsülfoksit; α : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\alpha p < 0.05$, $\alpha\alpha p < 0.01$, $\alpha\alpha\alpha p < 0.001$; θ : DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\theta p < 0.05$, $\theta\theta p < 0.01$, $\theta\theta\theta p < 0.001$)

TOS analizleri, test edilen tüm örneklerin farklı konsantrasyonlarda hücrelerde oksidatif stres oluşturma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle AKZ, ATM, ATT ve ATZ örnekleri, doz artışı ile birlikte TOS seviyesinde anlamlı artışlar göstererek güçlü prooksidan özellikler sergilemiştir. AKT örneğinde ise doz artışıyla birlikte oksidatif etkinin azaldığı gözlemlenmiş, bu da farklı mekanizmaların devreye girdiğini düşündürmektedir.

4.3.3. Laktat Dehidrogenaz Aktivitesi Bulguları

LDH, hücre zar bütünlüğünün bozulması sonucu ortama salınan bir enzimdir. Bu nedenle LDH aktivitesindeki artış, hücresel hasar veya sitotoksikite göstergesi olarak kabul edilir.

AKM uygulamasında, 10 $\mu\text{g/mL}$ dozundan itibaren LDH aktivitesinde belirgin bir artış olduğu, en yüksek aktivitenin ise 160 $\mu\text{g/mL}$ 'de ölçüldüğü tespit edildi. Bu artışlar,

hem kontrol hem de DMSO gruplarına göre yüksek derecede anlamlı ($p < 0.001$) olduğu, elde edilen verilerin, AKM'nin doz-bağımlı sitotoksik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Şekil a).

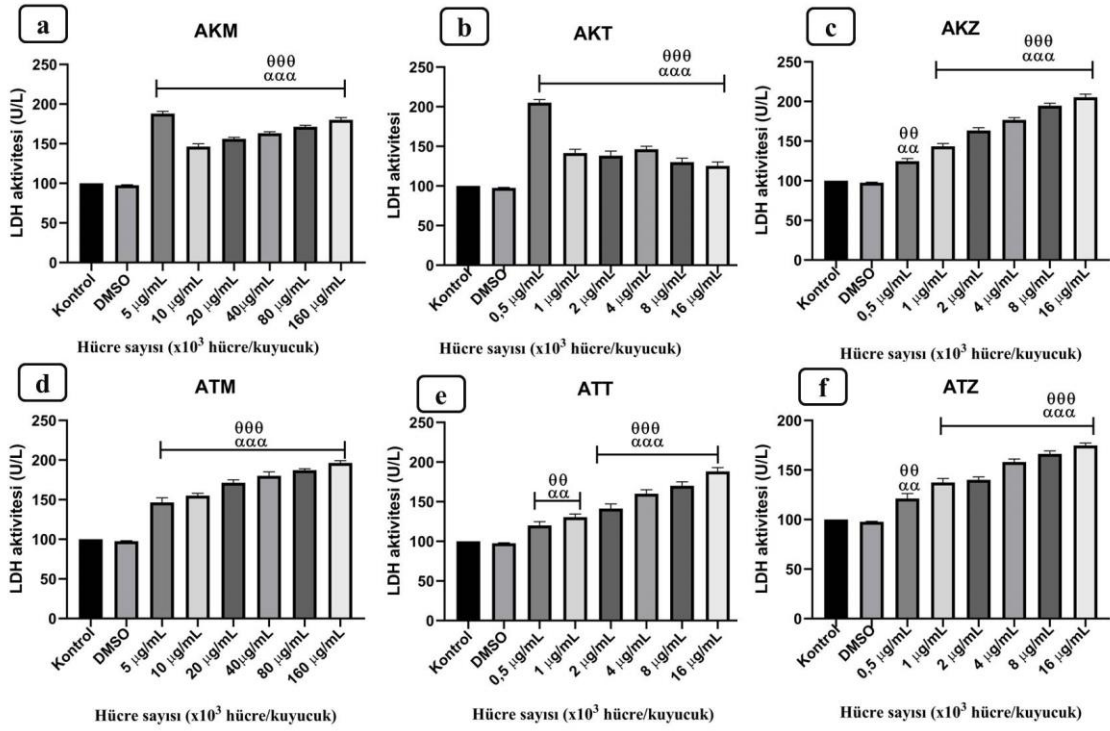
AKT için LDH aktivitesinin en yüksek olduğu doz $1 \mu\text{g/mL}$ olduğu belirlendi. Daha yüksek konsantrasyonlarda LDH düzeyinin azaldığı, bu durumun, düşük dozda hücre zar bütünlüğünün daha fazla zarar gördüğünü, yüksek dozlarda ise hücre ölümünün tamamlanmış olabileceğini ve dolayısıyla daha az LDH salınımı gerçekleştiğini düşündürmektedir. Bu, olası bifazik (iki aşamalı) bir sitotoksik etkiyi işaret edebilir (Şekil b).

AKZ uygulamasında LDH aktivitesinde doz ile birlikte sürekli ve anlamlı bir artış tespit edildi. LDH aktivitesi, $16 \mu\text{g/mL}$ dozunda en yüksek seviyeye ulaşmış olup; bu artış, kontrol ve DMSO gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Bu bulgular, AKZ'nin klasik bir doz-bağımlı sitotoksik etki profili sergilediğini göstermektedir (Şekil c).

ATM uygulamasına bağlı olarak tüm dozlarda LDH aktivitesinde kademeli bir artış olduğu, $160 \mu\text{g/mL}$ dozunda ise maksimum seviyeye ulaştığı tespit edildi. Bu sonuçlar, ATM'nin artan konsantrasyonlarla birlikte hücre zarında hasara yol açtığını ve belirgin sitotoksik etkiler oluşturduğunu göstermektedir (Şekil d).

ATT uygulamasında LDH aktivitesindeki artış $0.5 \mu\text{g/mL}$ dozundan itibaren başladığı ve $16 \mu\text{g/mL}$ dozunda maksimum düzeye ulaştığı tespit edildi. Elde edilen veriler, ATT'nin düşük dozlardan itibaren anlamlı sitotoksik etkiye neden olduğunu ve bu etkinin dozla birlikte arttığını ortaya koymaktadır (Şekil e).

ATZ grubunda da LDH aktivitesinin doz artışına bağlı olarak düzenli şekilde yükseldiği, en yüksek aktivitenin $16 \mu\text{g/mL}$ dozunda ölçüldüğü ve bu artışların hem kontrol hem de DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Bu bulgular, ATZ'nin doz-bağımlı güçlü bir sitotoksik etki potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Şekil f).



Şekil 4.21. Kontrol, DMSO ve farklı konsantrasyonlardaki ekstre uygulamalarının hücrelerde laktat dehidrogenaz (LDH) üzerindeki etkileri. Veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak sunulmuştur. DMSO: Dimetilsülfoksit; α : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\alpha p < 0.05$, $\alpha\alpha p < 0.01$, $\alpha\alpha\alpha p < 0.001$; θ : DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklar $\theta p < 0.05$, $\theta\theta p < 0.01$, $\theta\theta\theta p < 0.001$)

Bu analiz, test edilen tüm bileşiklerin hücre zar bütünlüğünü bozarak LDH salınımını artırdığı ve dolayısıyla farklı derecelerde sitotoksosite oluşturduğu sonucunu desteklemektedir. Özellikle AKM, AKZ, ATM, ATT ve ATZ örneklerinde doz artışıyla birlikte anlamlı ve sürekli bir LDH aktivitesi artışı, bu bileşiklerin doz-bağımlı sitotoksik özelliklere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. AKT örneğinde gözlenen non-lineer (bifazik) yanıt ise farklı hücrel mekanizmaların etkili olabileceğine işaret etmektedir.

4.4. *Alkanna cordifolia* Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Alkanna cordifolia ekstresine 20-100 µg/petri uygulama konsantrasyonlarının genotoksik açıdan biyogüvenlikleri histidin oksotrofu mutant *Salmonella typhimurium* TA97a, TA98, TA100, TA1535, TA1537 ve triptofan oksotrofu mutant *Escherichia coli* WP2uvrA test suşları kullanılarak test edilmiştir. Oksotrofiye neden olan bölgelerde geri mutasyona bağlı olarak prototrofiye geçişin gözlenmesi esasına dayanan genotoksosite denemelerinde test bileşenlerinin hiçbirinin negatif kontrol grubundaki geri dönen koloni

sayısına kıyasla anlamlı derecede geri mutasyona sebep olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Ames/Salmonella ve E. coli WP2 bakteriyel genotoksisite testi sonuçları

Test Grupları (µg/Petri)	Geri Dönen Koloni Sayıları (Mean ± S.D.)					
	<i>S. typhimurium</i> TA1535	<i>S. typhimurium</i> TA100	<i>S. typhimurium</i> TA1537	<i>S. typhimurium</i> TA97a	<i>S. typhimurium</i> TA98	<i>E. coli</i> WP2
AKM						
50	42,2 ± 3,76	64,2 ± 9,58	26,5 ± 4,37	43,3 ± 5,39	50,0 ± 6,75	32,0 ± 2,53
100	39,7 ± 7,53	69,0 ± 5,90	29,5 ± 5,01	42,5 ± 4,89	52,8 ± 6,05	33,2 ± 3,76
150	42,3 ± 4,97	67,0 ± 2,83	24,7 ± 4,68	46,3 ± 5,05	55,2 ± 7,63	35,8 ± 2,64
200	36,0 ± 5,80	62,2 ± 6,68	29,0 ± 7,01	46,2 ± 4,88	50,3 ± 6,19	33,8 ± 3,06
250	40,7 ± 6,44	63,5 ± 8,60	32,5 ± 4,68	44,7 ± 3,88	55,2 ± 6,34	30,3 ± 3,67
AKT						
50	42,8 ± 4,17	65,0 ± 8,29	28,3 ± 3,50	45,3 ± 3,14	55,2 ± 7,57	33,7 ± 3,72
100	38,7 ± 3,98	60,2 ± 5,27	24,7 ± 4,27	45,8 ± 5,04	51,5 ± 9,48	31,2 ± 3,54
150	36,0 ± 4,43	66,2 ± 7,63	26,3 ± 4,97	43,5 ± 5,09	53,2 ± 7,63	31,3 ± 3,39
200	40,5 ± 5,86	62,0 ± 8,10	30,2 ± 4,54	44,3 ± 4,80	56,5 ± 8,92	31,8 ± 4,54
250	37,7 ± 5,61	63,8 ± 6,65	33,0 ± 3,74	45,7 ± 3,61	50,8 ± 9,91	32,0 ± 4,15
AKZ						
50	40,5 ± 4,81	66,0 ± 7,46	25,5 ± 4,89	44,5 ± 4,37	51,0 ± 5,55	29,5 ± 2,88
100	38,3 ± 6,56	63,3 ± 8,12	29,2 ± 5,53	44,7 ± 4,93	52,0 ± 8,63	29,7 ± 3,08
150	40,0 ± 3,79	67,5 ± 5,36	28,2 ± 7,05	47,7 ± 3,08	57,7 ± 5,43	30,8 ± 5,04
200	39,2 ± 5,23	61,8 ± 9,28	26,2 ± 4,75	42,3 ± 3,27	49,2 ± 8,33	30,0 ± 3,16
250	38,0 ± 4,52	72,2 ± 5,91	30,3 ± 8,09	44,8 ± 5,19	51,3 ± 9,40	34,7 ± 4,03
ATM						
50	38,8 ± 4,12	67,2 ± 8,28	31,7 ± 5,47	44,8 ± 4,71	55,0 ± 6,57	33,8 ± 3,87
100	41,3 ± 4,37	62,8 ± 8,23	24,8 ± 6,27	41,8 ± 4,54	52,7 ± 5,20	29,3 ± 3,78
150	36,0 ± 5,59	65,8 ± 8,64	26,2 ± 3,13	44,2 ± 5,19	48,7 ± 8,57	27,0 ± 2,53
200	38,8 ± 5,91	63,2 ± 8,73	27,3 ± 6,41	45,7 ± 5,20	46,2 ± 5,42	31,7 ± 4,50
250	38,3 ± 4,08	62,2 ± 6,55	28,7 ± 4,46	44,2 ± 2,48	57,5 ± 7,92	31,7 ± 4,93

ATT						
50	42,3 ± 4,37	64,2 ± 6,65	27,8 ± 5,78	46,8 ± 3,66	53,0 ± 5,59	30,0 ± 3,90
100	37,3 ± 7,26	68,3 ± 6,98	24,3 ± 3,78	46,0 ± 4,15	57,5 ± 7,79	30,8 ± 6,24
150	37,3 ± 6,02	67,0 ± 6,29	25,0 ± 4,05	42,7 ± 5,47	47,3 ± 10,65	27,7 ± 2,50
200	39,2 ± 4,79	70,3 ± 6,02	31,5 ± 4,68	44,7 ± 4,50	56,8 ± 5,78	35,2 ± 2,64
250	38,5 ± 6,25	61,2 ± 5,64	29,5 ± 5,86	44,7 ± 3,93	48,2 ± 6,74	29,2 ± 4,75
ATZ						
50	37,8 ± 6,27	66,0 ± 5,14	27,5 ± 5,68	41,3 ± 4,03	51,3 ± 3,83	32,2 ± 2,64
100	37,5 ± 4,23	65,3 ± 5,50	28,3 ± 6,86	44,2 ± 5,53	55,3 ± 8,12	32,0 ± 3,95
150	36,3 ± 4,32	63,3 ± 7,81	25,2 ± 5,60	44,5 ± 3,62	57,7 ± 4,13	32,0 ± 3,29
200	37,3 ± 5,85	65,7 ± 6,59	31,2 ± 4,62	42,3 ± 5,82	58,8 ± 6,85	30,2 ± 3,06
250	42,0 ± 5,18	68,7 ± 4,55	27,0 ± 2,00	47,2 ± 4,12	54,0 ± 6,75	33,5 ± 4,23
Pozitif Kontroller NaN ₃ (5 µg) 9-AA (50 µg) 4-NPD (2.5 µg) MNNG (1 µg)	424,0 ± 16,14	668 ± 19,65	303,7 ± 12,13	489,8 ± 12,97	628,5 ± 12,60	398,2 ± 8,80
Negatif Kontroller DMSO (100 µl)	38,5 ± 4,32	62,3 ± 8,50	25,2 ± 3,92	44,2 ± 3,76	51,7 ± 5,68	29,0 ± 4,34

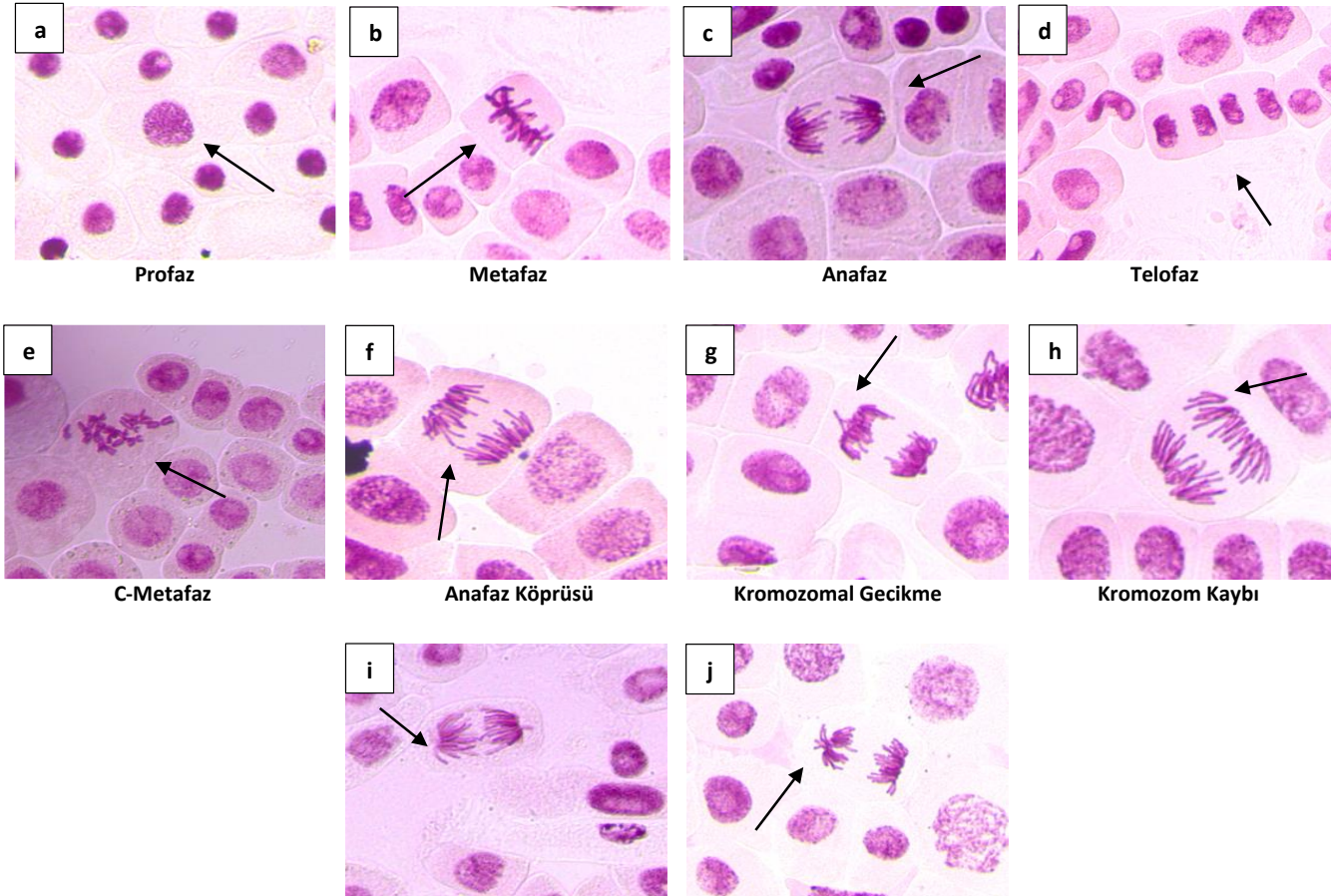
Tablo 4.8. *Allium* testinde mitotik indeks ve kromozomal aberasyon değişimleri

Test Grubu (mg/L)	Mitotik İndex (%)	Kromozom Aberasyonu (%)								İstatistiksel Analiz	
		AK	KK	KG	KKy	CM	YK	T	Fisher's exact test	Linear trend	
AKM											
50	19.0	0.2	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.5	NS	NS	
100	19.9	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.3	NS		
150	19.5	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.4	NS		
200	18.7	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.5	NS		
250	19.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.6	NS		
AKT											
50	19.3	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	NS	NS	
100	19.3	0.1	0.0	0.2	0.1	0.0	0.0	0.4	NS		
150	19.4	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.4	NS		
200	19.3	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.6	NS		
250	19.2	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.4	NS		
AKZ											
50	19.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	0.6	NS	NS	
100	18.9	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.2	0.5	NS		
150	19.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.0	0.1	0.7	NS		
200	19.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.6	NS		
250	19.2	0.1	0.0	0.2	0.1	0.0	0.2	0.6	NS		
ATM											

50	19.1	0.2	0.1	0.2	0.0	0.0	0.1	0.6	NS	NS
100	19.2	0.2	0.1	0.2	0.0	0.0	0.3	0.8	NS	
150	19.2	0.1	0.1	0.0	0.1	0.0	0.1	0.4	NS	
200	19.0	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.5	NS	
250	18.9	0.3	0.0	0.1	0.1	0.0	0.2	0.7	NS	
ATT										
50	19.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.0	0.0	0.7	NS	NS
100	19.0	0.2	0.1	0.2	0.0	0.0	0.1	0.6	NS	
150	19.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.6	NS	
200	19.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.0	0.2	0.5	NS	
250	19.3	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	0.7	NS	
ATZ										
50	19.3	0.2	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.5	NS	NS
100	19.1	0.1	0.1	0.3	0.1	0.0	0.2	0.8	NS	
150	19.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	0.6	NS	
200	19.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.5	NS	
250	19.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.6	NS	
Kontroller										
Negatif Kontrol: ddH ₂ O	19.4	0.2	0.1	0.1	0.0	0.0	0.2	0.6		
Pozitif Kontrol: EMS (25 mM)	11.1	2.3	0.2	1.1	0.7	0.4	1.4	6.1		

AK: anafaz köprüsü, KK: kromozom kırığı, KG: kromozom gecikmesi, KKy: kromozom kaybı, CM: C-metafaz, YK: yapışkan kromozom, T: toplam kromozom

aberrasyonu, S: negatif kontrole kıyasla istatistiksel açıdan önemli ve NS: istatistiksel açıdan önemsiz ($p < 0.05$).



Şekil 4.22. Mitotik A. cepa kök hücrelerinde normal mitoz bölünme safhaları (a–d) ve EMS tarafından indüklenen kromozomal aberasyonlar (e–j).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızın hipotezi, *Alkanna cordifolia* bitkisinin toprak üstü kısımları ve köklerinden elde edilen yağ ve metanolik ekstralarının *in vitro* insan fibroblast hücre hattı üzerinde yara iyileştirici etkisini tespit etmektir. Bu çalışma kapsamında elde edilen bulgular; MTT analizlerinde AKZ ekstresinin 0,5 mg/mL dozunda hücre proliferasyonunu artırdığı, TAS analizlerinde AKZ ekstresinin 0.5 µg/mL dozlarında yüksek antioksidan kapasite olduğu, TOS ve LDH analizlerine göre, AKZ, ATM, ATT ve ATZ ekstralarında, doz artışı ile birlikte TOS ve LDH seviyesinde anlamlı artışlar olduğu tespit edildi.

MTT testinde elde edilen bulgular, tüm ekstraların hücre canlılığı üzerinde doz-bağımlı değişimler oluşturduğunu ortaya koymuştur. Çalışmada gerçekleştirilen MTT testi sonuçları, *A. cordifolia* bitkisinin kök kısmından elde edilen zeytinyağı ekstresinin (AKZ), özellikle 0,5 µg/mL gibi düşük bir konsantrasyonda fibroblast hücre canlılığını en fazla artıran fraksiyon olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuç, zeytinyağı ekstresinin yara iyileşme sürecinde etkili bir destekleyici ajan olabileceğini göstermektedir. Özellikle düşük dozda elde edilen yüksek canlılık oranı, sitotoksik etki göstermeden biyolojik aktivite sağladığını düşündürmektedir. Buna karşın, doz arttıkça canlılıkta azalma gözlenmesi, bu fraksiyonun da doz bağımlı bir etki profiline sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular ışığında, AKZ fraksiyonu yara iyileştirici formülasyonlarda düşük dozda kullanım için öncelikli aday olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızda *A. cordifolia* bitkisinden elde edilen çeşitli ekstraların toplam antioksidan kapasiteleri (TAS) değerlendirilmiştir. Sonuçlar genel olarak, metanol ekstralarının (özellikle AKM ve kısmen ATM), diğer yağ bazlı ekstre türlerine kıyasla daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir. AKM ekstresi, özellikle 160 µg/mL dozunda, anlamlı ve doz-bağımlı bir antioksidan artış sağlamıştır. ATM ekstresi de yüksek dozlarda belirli bir etki göstermiş ancak AKM kadar güçlü bir

sonuç elde edilememiştir. Bununla birlikte, dikkat çeken bir diğer bulgu da, bazı yağ bazlı ekstrelerin (özellikle AKZ ve ATT) düşük konsantrasyonlarda antioksidan kapasiteyi artırmalarıdır. Örneğin, AKZ ekstresi 0.5–4 µg/mL aralığında belirgin bir TAS artışı göstermiş; benzer şekilde ATT ekstresi de 1–2 µg/mL dozlarında anlamlı düzeyde antioksidan etki ortaya koymuştur. Bu durum, ekstrelerin biyolojik etkilerinin yalnızca maksimum etki düzeyine değil, aynı zamanda uygulanan doz aralığına bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir. Dolayısıyla, sadece en yüksek TAS değerine ulaşan ekstreyi "en etkili" olarak değerlendirmek, potansiyel etkileri tam olarak yansıtmayabilir. Özellikle farmasötik veya kozmetik amaçlı formülasyon geliştirme süreçlerinde, düşük dozlarda etkili olan ve daha az toksisite riski taşıyan örneklerin de dikkate alınması önemlidir. Bu bağlamda, düşük dozlarda antioksidan etki gösteren AKZ ve ATT ekstrelerinin, alternatif ve güvenli antioksidan kaynakları olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

TOS analizi sonuçları, farklı ekstrelerin oksidatif stres üzerindeki etkilerinde belirgin farklılıklar olduğunu göstermiştir. Özellikle AKM (kök metanol ekstresi), TOS düzeyini düşük tutarak en az oksidatif stres oluşturan fraksiyon olmuştur. Buna karşın AKZ, ATZ, ATT ve ATM ekstrelerinde doz arttıkça TOS değerlerinde anlamlı yükselme gözlenmiş, bu da bu fraksiyonların prooksidan etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, AKM ekstresinin hücre ortamında daha güvenli ve dengeleyici bir etki sunduğunu göstermekte, yara iyileştirici formülasyonlar için tercih edilebilir bir aday olduğunu desteklemektedir.

LDH analiz bulguları, ekstrelerin sitotoksik etkilerinin dozla nasıl değiştiğine dair önemli bilgiler sunmuştur. AKM ekstresi, 10 µg/mL dozundan itibaren LDH salınımını artırmaya başlamış ve 160 µg/mL dozunda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Bu durum, AKM'nin yüksek dozlarda hücre zar bütünlüğünü bozarak belirgin sitotoksisite

oluşturduğunu göstermektedir. Ancak düşük ve orta dozlarda etkisi sınırlı kalmış, bu da kontrollü kullanımda güvenli bir profil sunabileceğini düşündürmektedir. AKT ekstresi için LDH düzeyleri 1 µg/mL dozunda zirve yapmış, ancak daha yüksek dozlarda LDH salınımında azalma gözlenmiştir. Bu durum, düşük dozlarda hücre zar hasarının başladığını, yüksek dozlarda ise hücre ölümünün gerçekleşmiş olabileceğini ve bu nedenle LDH'nin dışarı salınımının azaldığını düşündürmektedir. Bu yanıt, potansiyel olarak bifazik bir toksisite profiline işaret eder. AKZ, ATT ve ATZ ekstrelerinde LDH aktivitesi, uygulanan dozla birlikte kademeli ve istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır. Bu artışlar, bu ekstrelerin klasik bir doz-bağımlı sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Hücre zarında meydana gelen hasar, bu ekstrelerin yüksek konsantrasyonlarda fibroblastlar üzerinde olumsuz etkiler oluşturabileceğini göstermektedir. ATM uygulamasında da benzer şekilde LDH düzeylerinde sürekli bir artış gözlenmiş ve en yüksek seviyeye 160 µg/mL'de ulaşılmıştır. Bu bulgular, ATM'nin yüksek konsantrasyonlarda zar bütünlüğünü bozduğunu ve belirgin sitotoksik etki yarattığını göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, LDH analizleri farklı fraksiyonların sitotoksik profillerini ayırt edebilme açısından önemli ipuçları sunmuştur. AKT ekstresinde gözlenen bifazik yanıt, farklı hücresel mekanizmaların etkili olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşılık AKZ, ATT, ATM ve ATZ ekstrelerinde ise daha klasik, lineer bir doz-artış ilişkisi gözlenmiştir. Bu nedenle, söz konusu ekstrelerin yara iyileştirici formülasyonlara dahil edilmesinde doz optimizasyonunun büyük öneme sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

İmmüno Floresan analiz sonuçları, *A. cordifolia* ekstrelerinin yara iyileşme sürecine katkı sağlayabilecek hücresel düzeydeki etkilerini desteklemektedir. Özellikle BEK (bazal epitel keratin) ve TGF-β1 (transforming growth factor beta 1) proteinlerinin floresans pozitiflik dereceleri, bu proteinlerin ilgili ekstrelerle uyarılabildiğini

göstermiştir. Bu bulgular, hücre yenilenmesi, proliferasyon ve matriks yeniden yapılanması gibi yara iyileşmesini destekleyen biyolojik süreçlerin aktive olabileceğini düşündürmektedir. AKM ve ATM gruplarında BEK ve TGF- β 1 proteinlerine ait floresans sinyalleri 5–10 μ g/mL dozlarında en yüksek düzeye ulaşmış, daha yüksek dozlarda ise anlamlı azalmalar görülmüştür. Bu durum, bu ekstrelerin belirli doz aralıklarında proliferatif etkiler gösterdiğini; ancak daha yüksek konsantrasyonlarda hücresel stres veya toksisiteye neden olabileceğini göstermektedir. Yağ bazlı ekstreler arasında AKZ, ATT ve ATZ gruplarında da benzer şekilde düşük dozlarda (0.5–1 μ g/mL) BEK ve TGF- β 1 pozitifliğinde belirgin artışlar gözlenmiştir. Özellikle ATT ve ATZ gruplarında 0.5–1 μ g/mL dozlarında yüksek floresans yoğunluğu izlenmiş, bu etki daha yüksek dozlarda azalmıştır. Bu bulgular, söz konusu ekstrelerin fibroblast aktivasyonu ve doku yenilenmesinde potansiyel taşıdığını, ancak bu etkinin dozla sınırlı olduğunu ortaya koymaktadır. AKT grubunda ise farklı bir desen izlenmiş; 16 μ g/mL’de BEK ve TGF- β 1 floresans pozitifliği en yüksek düzeyde olup, bu durum diğer gruplardan farklı olarak yüksek dozda uyarım sağlandığını göstermektedir. Bu, AKT'nin diğer ekstrelerden farklı bir etki profiline sahip olabileceğine işaret eder. Sonuç olarak, immüno floresan veriler; AKM, ATM, AKZ, ATT ve ATZ gibi ekstrelerin düşük dozlarda fibroblastlarda yara iyileşmesine katkı sağlayabilecek proteinleri aktive edebildiğini ortaya koymaktadır. Bu proteinlerin hücre içinde aktive olması, yara bölgesinde doku onarımına aracılık eden büyüme faktörleri ve yapısal proteinlerin sentezini destekler. Ancak etkili ve güvenli doz aralığının belirlenmesi, sitotoksikite ve proliferatif kapasitenin birlikte değerlendirilmesiyle mümkün olacaktır.

Bu veriler bir arada değerlendirildiğinde, AKM ekstresi, antioksidan dengeyi sağlamadaki etkinliği ve düşük toksisite profili ile ön plana çıkarken; AKZ ve ATT ekstreleri, hücre canlılığını artırıcı etkileriyle dikkat çekmektedir. Bu farklı biyolojik

etkiler, her bir fraksiyonun yara iyileşmesinin farklı evrelerinde potansiyel olarak fayda sağlayabileceğini düşündürmektedir. Ancak tüm fraksiyonlar için doz optimizasyonunun büyük önem taşıdığı, yüksek konsantrasyonlarda ise olumsuz hücresel etkilerin ortaya çıkabileceği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, literatürde yer alan benzer çalışmalarla da örtüşmektedir. Nitekim bitkisel ekstrelerin antioksidan etkilerinin genellikle doz aralığına bağlı olduğu, yüksek dozların hücrelerde toksik etkiler yaratabileceği çeşitli *in vitro* çalışmalarla da gösterilmiştir (Halliwell & Gutteridge, 2015; Lobo et al., 2010).

Bu çalışmanın literatüre katkısı, farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan *A. cordifolia* ekstrelerinin hücre düzeyindeki etkilerinin ilk kez karşılaştırmalı olarak detaylı biçimde değerlendirilmiş olmasıdır. Sonuç olarak, çalışma hipotezleri doğrulanmış; *A.cordifolia*'nın bazı ekstrelerinin uygun doz aralıklarında hücre koruyucu ve yara iyileştirici potansiyel taşıdığı, ancak yüksek dozlarda bu etkinin tersine dönebileceği ortaya konmuştur. Bu bağlamda, bitkisel kaynaklı tedavi yaklaşımlarında hem uygun dozun hem de çözücü seçiminin belirlenmesinin biyogüvenlik ve etkinlik açısından kritik öneme sahip olduğu vurgulanmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnsan fibroblast hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilen biyolojik testler sonucunda, özellikle düşük konsantrasyonlardaki bazı ekstrelerin hücre canlılığını artırdığı, antioksidan kapasiteyi yükselttiği ve yara iyileşmesinde önemli rol oynayan BEK ve TGF- β 1 proteinlerinin aktivasyonunu olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir. Metanolik ekstrelerin (AKM ve ATM), antioksidan etkiler açısından diğer ekstre türlerine kıyasla daha güçlü biyolojik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yüksek doz uygulamalarında, özellikle tereyağı ve zeytinyağı bazlı ekstrelerde belirgin sitotoksik ve oksidatif etkiler gözlenmiştir. Bu bulgular, ekstrelerin biyolojik etkilerinin doza bağımlı olduğunu ortaya koymakta ve optimal etkinlik için dikkatli bir doz ayarlamasının gerekliliğini vurgulamaktadır.

Genotoksisite değerlendirmeleri kapsamında gerçekleştirilen Ames ve Allium cepa testleri, çalışmada kullanılan konsantrasyonlar dâhilinde mutajenik bir risk taşımadığını ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, uygun doz aralığında kullanılan *Alkanna cordifolia* ekstrelerinin güvenli olabileceğini düşündürmektedir.

Tüm bu bulgular doğrultusunda, *A. cordifolia* bitkisi yara iyileştirici potansiyele sahip doğal bir kaynak olarak ön plana çıkmaktadır. Ancak bu potansiyelin farmasötik ürünlere dönüştürülebilmesi, yalnızca *in vitro* sonuçlarla sınırlı kalmayıp, *in vivo* modellerle de desteklenmesini gerektirmektedir. Bu kapsamda, ileri çalışmaların hayvan modelleri üzerinde ekstrelerin yara iyileşmesine etkilerini değerlendirmesi, *in vivo* etkinliğin doğrulanması açısından önem arz etmektedir. Ayrıca, bitkisel ekstrelerin topikal uygulamalara uygunluğunu belirlemek amacıyla krem, merhem ya da jel formülasyonlarıyla uygulanabilirliğini inceleyen araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu alışma, literatürde sınırlı sayıda veriye sahip olan *A. cordifolia*'nın yara iyileştirici etkilerine dair bilimsel bir temel sunarak, gelecekteki fitoterapötik ürün geliştirme çalışmalarına katkı sağlamayı amaçlamaktadır. Geleneksel kullanımı bilimsel verilerle desteklenen bu bitkinin modern fitoterapi alanında değerlendirilmesi için, etken bileşiklerin izolasyonu, etki mekanizmalarının aydınlatılması ve uygun dozaj çalışmalarına dayalı ileri düzey farmasötik geliştirme süreçlerinin yürütülmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Abdel-Gelil, Omhashem EA, ve diğeri. "Alkanna türleri: ümit verici bir bitkisel ilaç ve kullanımları." Gıda Bilimi ve Beslenme Araştırmaları Dergisi 2.4 (2019): 309-315.
2. Aburjai, T., Al-Janabi, R., Al-Mamoori, F., & Azzam, H. (2019). In vivo wound healing and antimicrobial activity of *Alkanna strigosa*. Wound Medicine, 25(1), 100152. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2019.100152>.
3. Aslan, S., Akan, H., Pekmez, H., 2020, The ethnobotanical investigation of Yaslıca town and Arıkök neighborhood, Dergipark, 13, 18, <https://dergipark.org.tr/en/download/articlefile/1092047>, 16.10.2021
4. Assimopoulou, A. N., & Papageorgiou, V. P. (2005). Radical scavenging activity of *Alkanna tinctoria* root extracts and their main constituents, hydroxynaphthoquinones. Phytotherapy research : PTR, 19(2), 141–147. <https://doi.org/10.1002/ptr.1645>.
5. Assimopoulou, A. N., Boskou, D., & Papageorgiou, V. P. (2004). Antioxidant activities of alkannin, shikonin and *Alkanna tinctoria* root extracts in oil substrates. Food Chemistry, 87(3), 433–438. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.017>.
6. BERK, A., DOKUMACI, A. H., & Kaymaz, M. B., (2015). Yara İyileşmesi ve Diyabetik Yara Tedavisinde Kullanılan Tıbbi Bitkiler. Sağlık Bilimleri Dergisi , vol.24, no.3, 185-192.
7. Das, A., Biswas, S., Satyaprakash, K., Bhattacharya, D., Nanda, P. K., Patra, G., Moirangthem, S., Nath, S., Dhar, P., Verma, A. K., et al. (2024). Ratanjot (*Alkanna tinctoria* L.) root extract, rich in antioxidants, exhibits strong antimicrobial activity against foodborne pathogens and is a potential food preservative. Foods, 13(2254). <https://doi.org/10.3390/foods13142254>.

8. Dresler, S., Szymczak, G., & Wójcik, M. (2017). Comparison of some secondary metabolite content in the seventeen species of the Boraginaceae family. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 691-695.
9. Eminağaoğlu, Ö., Akyıldırım Beğen, H., & Aksu, G. (2021). Flora of Kılıçkaya Village (Yusufeli Artvin, Turkey).
10. Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277-285.
11. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
12. Feretti, D., Zerbini, I., Zani, C., Ceretti, E., Moretti, M., & Monarca, S. (2007). *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food additives and contaminants*, 24(6), 561–572.
<https://doi.org/10.1080/02652030601113602>
13. Fotakis, G., & Timbrell, J. A. (2006). In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology letters*, 160(2), 171-177.
14. Ganos, C., Zengin, G., Chinou, I., Aligiannis, N. ve Graikou, K. (2024). Boraginaceae Ailesindeki Üç Akdeniz *Alkanna* Türünün (*A. orientalis* , *A. tinctoria* , *A. kotschyana*) Havai Kısımlarının Fitokimyasal Profillenmesi ve Biyolojik Değerlendirmesi. *Bitkiler* , 13 (2), 278.
<https://doi.org/10.3390/plants13020278>.
15. Gümüş 2015, Balmumu, zeytinyağı ve *Alkanna tinctoria* karışımının yanık yarası üzerine etkisi / The effect of beeswax, olive oil, and *Alkanna tinctoria* mixture on

burn injuries, Atatürk Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Cerrahi Hastalıkları Hemşireliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi.

<https://doi.org/10.1016/j.ctim.2017.08.001>

16. Gümüş, K., & Karaman Özlü, Z. (2017). The effect of a beeswax, olive oil and *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch mixture on burn injuries: An experimental study with a control group. *Complementary Therapies in Medicine*, 34, 66–73.
17. GÜNER,H.D.,&BOT,Ş.İ.TÜREYLEMPLANI.
([https://bolge4.tarimorman.gov.tr/Documents/Mu%C4%9Fla%20Yal%C4%B1%20Havacivas%C4%B1%20\(Alkanna%20mughlae\)%20T%C3%BCr%20Koruma%20Eylem%20Plan%C4%B1.pdf](https://bolge4.tarimorman.gov.tr/Documents/Mu%C4%9Fla%20Yal%C4%B1%20Havacivas%C4%B1%20(Alkanna%20mughlae)%20T%C3%BCr%20Koruma%20Eylem%20Plan%C4%B1.pdf))
18. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
19. Huber-Morath, A. (1978). Boraginaceae. In P. H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Vol. 6, pp. 237–436). Edinburgh University Press.
20. Huu Tung, N., Du, G. J., Wang, C. Z., Yuan, C. S., & Shoyama, Y. (2013). Naphthoquinone components from *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch show significant antiproliferative effects on human colorectal cancer cells. *Phytotherapy Research*, 27(1), 66–70. <https://doi.org/10.1002/ptr.4680>.
21. Khan, U. A., Rahman, H., Qasim, M., Hussain, A., Azizullah, A., Murad, W., Khan, Z., Anees, M., & Adnan, M. (2015). *Alkanna tinctoria* leaves extracts: A prospective remedy against multidrug resistant human pathogenic bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 127. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0646-z>
22. Kheiri, A., Amini, S., Javidan, A. N., Saghafi, M. M., & Khorasani, G. (2017). The effects of *Alkanna tinctoria* Tausch on split-thickness skin graft donor site

- management: a randomized, blinded placebo-controlled trial. BMC complementary and alternative medicine, 17(1), 253. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1741-0>.
23. Korkmaz, S. (1996). Fibroblast hücre kültürlerinde yara iyileştirici etkinin araştırılması (Master's thesis, Anadolu Üniversitesi).
24. Korkmaz, M., Karakurt, E., 2014, Kelkit (Gümüşhane) aktarlarında satılan tıbbi bitkiler, Dergipark, 18,3,66,
<https://dergipark.org.tr/en/pub/sdufenbed/issue/20805/222167>, 16.10.2021
25. Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018). Analysis of cell viability by the lactate dehydrogenase assay. Cold spring harbor protocols, 2018(6), pdb. prot095497.
26. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy Reviews, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
27. Mahmoudi, S. Z., Seyedabadi, M., Esfahani, H. R. M., Amanzadeh, Y., & Ostad, S. N. (2012). Anti-inflammatory and analgesic activity of *Alkanna bracteosa* and *Alkanna tricophila*. Natural Product Research, 26(6), 564-569.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2010.532795>
28. Mortelmans K, Zeiger E (2000) The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutat Res 455:29–60. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00064-6](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00064-6)
29. Ozer, M. S., Sarikurkcu, C., Tepe, B., & Can, S. (2010). Essential oil composition and antioxidant activities of alkanet (*Alkanna tinctoria* subsp. *tinctoria*). Food Science and Biotechnology, 19(5), 1177–1183. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0168-x>
30. Papageorgiou, V.P., Assimopoulou, A.N., Couladouros, E.A., Hepworth, D. and Nicolaou, K.C. (1999), The Chemistry and Biology of Alkannin, Shikonin, and

Related Naphthazarin Natural Products. *Angewandte Chemie International Edition*, 38: 270-301. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19990201\)38:3<270::AID-ANIE270>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19990201)38:3<270::AID-ANIE270>3.0.CO;2-0)

31. Papageorgiou, V. P. (1978). Wound healing properties of naphthaquinone pigments from *Alkanna tinctoria*. *Experientia*, 34(11), 1499-1501.
32. Petrosyan, M., Shcherbakova, Y., Sahakyan, N. ve diğ erleri. *Alkanna orientalis* (L.) Boiss. Bitki izole kùltùrleri ve ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi: fenomen, farklı faktòrlere bağımlılık ve bakterilerin bazı membranla ilişkili özellikleri üzerindeki etkiler. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 122 , 727–738 (2015).
<https://doi.org/10.1007/s11240-015-0806-3>
33. Salimikia, Iraj ve ark. "İran'da yetişen dört *Alkanna* türünün in vitro antioksidan ve serbest radikal temizleme aktivitesi." *Farmakognozi Araştırması* 7.1 (2015): 100.
34. Sarıkürkcü, C., (2010). Yaygın Olarak Yetişen Bazı Orman Bitkilerinin (*Alkanna tinctoria* (L.) Tausch subsp. *tinctoria*, *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis* ve *Phlomis bourgaei* Boiss.) Kimyasal İçerik Bazında Total Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Manisa. 113s.
35. Sevimli Gür, C. (2009). Bazı *Alkanna* türlerinin biyoaktivite rehberli izolasyon yöntemi kullanarak çeşitli kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin in vitro ortamlarda taranarak, hücresel mekanizmalara ve apoptoz yolaklarına olan etkilerinin araştırılması (Yayımlanmamış doktora tezi). Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir.
36. Sevimli-Gur, C., Akgun, I. H., Deliloglu-Gurhan, I., Korkmaz, K. S., & Bedir, E. (2010). Cytotoxic naphthoquinones from *Alkanna cappadocica*. *Journal of Natural Products*, 73(5), 860–864. <https://doi.org/10.1021/np900778j>

37. Tarım ve Orman Bakanlığı. (2020). *Alkanna mughlae* (Yalı Havacıvası) Tür Eylem Planı. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü. (<https://www.tarimorman.gov.tr>)
38. Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES). *Alkanna cordifolia*. http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=6718 1 Temmuz 2025.
39. WFO (World Flora Online). (2024). Boraginaceae. WFO Plant List. <https://www.worldfloraonline.org/>
40. Yüzbaşıoğlu, E., Tütenocaklı, T., Uysal, İ., 2020, Reşadiye ve Çevresindeki Bitkilerin Etnobotanik Özellikleri, Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 7, 2, 425-431, <https://dergipark.org.tr/en/dowland/article-file/1067797>, 16.10.2021
41. Yıldırım, H., Altuğ, Y., & Balos, M. M. (2017). Resimli Türkiye Florası'na Katkılar 3: *Alkanna strigosa* Boiss. & Hohen. (Boraginaceae) türünün Türkiye'de varlığı üzerine. Bağbahçe Bilim Dergisi, 4(3), 1–6. (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/bagbahce/issue/34919/387278>).
42. ÖZKORKMAZ, E. G., & ÖZAY, Y. (2009). Yara İyileşmesi ve Yara İyileşmesinde Kullanılan Bazı Bitkiler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi(2), 63-67.

EKLER

EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Sümevra YILMAZ
Öğrencinin Numarası	22021002005
Ana Bilim Dalı	Farmakognozi
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%5	% 15
II. Genel Bilgiler	%10	% 35
III. Materyal ve Metod	%11	% 35
IV. Bulgular	%15	% 15
V. Tartışma	%0	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Sümevra YILMAZ	Prof. Dr. Zühal GÜVENALP
10.7.2025	10.7.2025
İmza:	İmza:

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp tezin Ekler kısmına EK-1 olarak eklenmelidir.

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

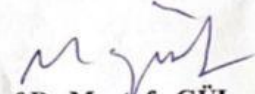
Bölümü : Dekanlık
Servisi : Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/114
Konu : Etik Kurul Kararı

21.02.2024

Sayın: Prof. Dr. Zühal GÜVENALP
Eczacılık Fakültesi
Farmakognozi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz "*Alkanna cordifolia* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarının yara iyileştirici etkisinin in vitro yöntemlerle incelenmesi" isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.


Prof.Dr.Mustafa GÜL
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı

Sorumlu Araştırmacı :

1. Prof. Dr. Zühal GÜVENALP

Yardımcı Araştırmacı :

1. Yüksek Lisans Öğrencisi Sümeyra GÜLER



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR

ETİK KURULU	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul25@gmail.com
BAŞKAN	BAŞKAN	Prof. Dr. Zühal GÜVENALP
AŞTIRMACININ AÇIK ADI	Alkanna cordifolia bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarının yara iyileştirici etkisinin in vitro yöntemlerle incelenmesi	
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı:1 Karar No:120	Tarih:21.02.2024
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin BAP tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi.	
Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.		

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Ayşe Nur AKSOY
Üye

Prof. Dr. Elif GADİRCİ
Üye

Prof. Dr. K. Meltem ÇOLAK
Üye

Doç. Dr. M. Enes AYDIN
Üye

Doç. Dr. Ayşe ÖZDEN
Üye

Doç. Dr. Zafer BAYRAKTUTAN
Üye

Doç. Dr. Esra LAZIOĞLU
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Sinan SİNCAN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Sinan YILMAZ
Üye

Uzm. Dr. Emre ŞAM
Üye

Uzm. Dr. Tark SAĞLAM
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet GÖDEKLİ
Üye

Gamze ALBAYRAK
Üye