ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SURİYE VE BURDUR ORİJİNLİ ÇÖREK OTU (*Nigella sativa* L.) TOHUMLARINDA AKTİVİTE VE İZOLASYON ÇALIŞMALARI

Sena AKDOĞAN

KİMYA ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2019

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sena AKDOĞAN tarafından hazırlanan **"Suriye ve Burdur Orijinli Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Tohumlarında Aktivite ve İzolasyon Çalışmaları"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Tevfik ÖZEN

Üye : Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ

Üye : Doç. Dr. Şevki ADEM

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Tamer KEÇELİ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Y. Lisans Tezi

SURİYE VE BURDUR ORİJİNLİ ÇÖREK OTU (*Nigella Sativa* L.) TOHUMLARINDA AKTİVİTE VE İZOLASYON ÇALIŞMALARI

Sena AKDOĞAN

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ

Bitkilerden ve bitkilerin çeşitli kısımlarından, biyolojik aktif olan moleküllerin izolasyonu, yapı tayinleri, anti-proliferatif etkilerinin belirlenmesi; tıp, geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları, ilaç bilim alanlarına her yeni gün katkıda bulunmaktadır ve bu alanlara olan ilgi ve alakayı daha da arttırmaktadır. Bu çalışmada ise halk arasında çörek otu olarak bilinen *Nigella sativa* L. bitkisinin iki farklı yetişme bölgesinde bulunan Suriye ve Burdur çörek otu tohumları fitokimyasal ve aktivite farklılıkları karşılaştırıldı. Hem bir işleme tabi tutulmaksızın hem de tohumlarının ezilmiş olarak, çözücü ekstrelerinin antiproliferatif (HeLa ve C6 hücrelerine karşı) aktiviteleri, metanol-kloroform ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ve NMR spektroskopileri verileri ile moleküler düzeyde tartışıldı.

2019, 72 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Nigella sativa* L., Suriye, Burdur, çörek otu tohumu, antiproliferatif aktivite, HeLa, C6, NMR, antioksidan aktivite

ABSTRACT

Master of Science Thesis

ACTIVITY AND ISOLATION STUDIES IN BURDUR AND SYRIA ORIGINATED BLACK CUMIN (*Nigella sativa* L.) SEEDS

Sena AKDOĞAN

Çankırı Karatekin University Graduate School of
Natural and Applied Sciences Department of
Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ

The isolation, structure indications, determination of anti-proliferating effects of biologically active molecules, from plants and various parts of plants, contributes to the fields of medicine, traditional and complementary medicine every day and increase the interest in these fields. In these study, Nigella sativa is known as black cumin (çörek otu) among the people the phytochemical and activity differences of the seeds of Syrian and Burdur black seed in two different growing areas of *N. sativa* L. were compared. The antioxidant activities of the methanol-chloroform solvent extracts and antiproliferative (against HeLa and C6 cells) activities of both without a treatment and in crushed seeds, were discussed at the molecular level by NMR spectroscopy data.

2019, 72 pages

Keywords: *Nigella sativa* L.,Suriye, Burdur, black cumin, antiproliferative activity, HeLa, C6, NMR, antioxidant activity

TEŞEKKÜR

Tüm tez çalışmam süresince, bilgi, fikir ve tecrübelerini asla esirgemeyen, bunların yanında manen de desteğini gördüğüm, benim için bu yolda kılavuz olan ve tez yazımında yardımlarını esirgemeyen kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ' a,

Bitkilerimin temini için bana yardımcı olan sayın Prof. Dr. İsa TELCİ' ye,

Tezim için anti-proliferatif çalışmalarımı yürütmemde yardım eden ve manevi desteğini de benden esirgememiş olan sayın Doç. Dr. Ayşe Şahin YAĞLIOĞLU' na,

Tezimin laboratuvar çalışmaları sırasında her türlü bilgi birikimini benimle paylaşan Uzman Ali Rıza TÜFEKÇİ' ye ve Uzman Fatih GÜL' e,

Antioksidan aktivite tayinlerinde ilgi, alaka ve yardımlarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Tevfik ÖZEN' e

Bölümümüzün her türlü imkânından faydalanmamı sağlayan Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü yöneticilerine ve manevi desteklerini esirgemeyen bütün öğretim elemanlarına,

Her anımda yanımda olup desteklerini hep arkamda bildiğim, benim için maddi manevi tüm birikimlerini bilimsel çalışmalarım için feda ederek beni bu noktaya taşıyan aile üyelerim; babam Murat AKDOĞAN' a, annem Şennur AKDOĞAN' a, ve kız kardeşim Şeyma Nur AKDOĞAN' a;

Teşekkürü borç bilirim.

Sena AKDOĞAN
ÇANKIRI, Ocak 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGE VE KISALTMALAR ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **viii**
1.GİRİŞ **1**
2.GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Çörek otu **4**
2.1.1. Çörek otunun Biyokimyasal Aktiviteleri **7**
2.2. Timokinonun Etkileri **7**
2.2.1. Antioksidatif Etkisi **7**
2.2.2. Antiproliferatif Etkisi **8**
2.2.3. Analjezik ve Antiinflamatuar Etkisi **9**
2.2.4. Immunolojik Sisteme Etkisi **9**
2.2.5. Sinir Sistemine Etkisi **9**
2.2.6. Solunum Sistemine Etkisi **10**
2.3. Kanser ile İlgili Bilgiler **10**
2.3.1. Kanser Nedir **10**
2.3.2. Kanser Çeşitleri **11**
2.3.2.1. Kan Kanseri **11**
2.3.2.2. Meme Kanseri **12**
2.3.2.3. Kolon Kanseri **13**
2.3.2.4. Pankreas Kanseri **14**
2.3.2.5. Karaciğer Kanseri **14**
2.3.2.6. Akciğer Kanseri **15**
2.3.2.7. Cilt Kanseri **16**
2.3.2.8. Bağ Doku Tümörü **17**
2.3.2.9. Böbrek Kanseri **18**
2.3.2.10. Prostat Kanseri **19**
2.3.2.11. Rahim Ağzı Kanseri **19**
2.3.3. Kanser Hastalığının Tedavi Yöntemleri **20**
2.3.4. Antioksidan Aktivite Açısından Çörek otu **21**
2.3.5. Çörek otu Bitkisine Ait Literatür Bilgisi **21**
3. MATERYAL ve METOD **24**
3.1. Bitkisel Materyal **24**
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler **25**
3.3. Kullanılan Cihazlar **26**
3.4. Ekstraksiyon (Özütlenme) İşlemi **27**
3.5. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS) **30**
3.6. Analizi Gerçekleştirilen Bileşenler **35**
3.7. NMR Spektroskopisi **41**
3.8. Biyolojik Aktivite Testleri **43**

3.8.1. Antioksidan Aktivite Testleri 43
3.8.1.1. Toplam Antioksidan Aktivite.....44
3.8.1.2. İndirgeme Gücü Tayini 44
3.8.1.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH Testi) 44
3.8.1.4. $ABTS^{+}$ Giderme Aktivite 45
3.8.1.5. Süperoksit Anyon Uzaklaştırma Aktivitesi Tayini 45
3.8.2. Antiproliferatif Aktivite Testi 46
3.8.2.1. HeLa ve C6 Hücrelerinin Hücre Kültürü 46
3.8.2.2. Hücrelerin Sayılması İşlemi 46
3.8.2.3. Testler için Ekstrelerin Elde Edilmesi ve Stok Çözeltilerin Hazırlanması 46
3.8.2.4. *İn vitro* Antiproliferasyon Deneyi (kalorimetrik) 47
4. BULGULAR 48
4.1. NMR Verileri.....48
4.2. Antioksidan Aktivite Testleri 57
4.3. Antiproliferatif Aktivite Testleri……58
4.4. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS) Verileri.....63
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 65
KAYNAKLAR 68
ÖZGEÇMİŞ 72

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simge	Açıklama
TBHQ	Tert-Bütil Hidrokinon
BHT	Butil Hidroksi Toluen
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
MS	Kütle Spektroskopisi
HeLa	İnsan Rahim Kanser Hücresi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation-Heteronükleer tek kuantum tutarlılık
TQ	Timokinon
ppm	Milyonda bir kısım
B.Ç.O.	Burdur çörek otu
S.Ç.O.	Suriye çörek otu
TCA	Trikloroasetik asit
NBT	Nitrotolue Tetrazolium
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
PMS	Ferrozin Meta Sülfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. *Nigella sativa* L. bitkisi.....6
Şekil 1.2. Timokinon……7
Şekil 2.1. Kan Kanseri Hücresi……...12
Şekil 2.2. Meme Kanseri Hücresi……13
Şekil 2.3. Kolon Kanseri Hücresi……13
Şekil 2.4. Pankreas Kanseri Hücresi.....14
Şekil 2.5. Karaciğer Kanseri Hücresi……..15
Şekil 2.6. Akciğer Kanseri Hücresi……16
Şekil 2.7. Cilt Kanseri Hücresi……17
Şekil 2.8. Bağ Doku Tümörü Hücresi……18
Şekil 2.9. Böbrek Kanseri Hücresi……..18
Şekil 2.10. Prostat Kanseri Hücresi……19
Şekil 2.11. Rahim Ağzı Kanseri Hücresi.....20
Şekil 3.1. Suriye Çörek Otu Tohumları……...24
Şekil 3.2. Burdur Çörek Otu Tohumları……..25
Şekil 3.3. Çözücü karışımındaki (MeOH-$CHCL_3$) Burdur ve Suriye çörek otu tohumları……27
Şekil 3.4. Çözücü karışımında bekletildikten sonraki süzme aşaması…….…….....28
Şekil 3.5.Havanda ezilmek üzere hazırlanan çörek otu tohumları……..28
Şekil 3.6.Hegzan çözücüsündeki Suriye ve Burdur çörek otları 29
Şekil 3.7.Evaporatör cihazı.....30
Şekil 3.8.Suriye çörek otu GC-MS Kromatogramı.....32
Şekil 3.9. Burdur çörek otu GC-MS Kromatogramı.....34
Şekil 3.10. 600 MHz NMR cihazı 42
Şekil 4.1. ^{13}C NMR spektrumu 49
Şekil 4.2. ^{1}H NMR spektrumu… 50
Şekil 4.3. DEPT ^{13}C NMR spektrumu.....51
Şekil 4.4. HSQS NMR spektrumu 52
Şekil 4.5. HMBC NMR spektrumu.....52
Şekil 4.6. COSY ^{1}H NMR spektrumu 53
Şekil 4.7. ^{13}C NMR spektrumu (sıvı kısım).....54
Şekil 4.8. DEPT ^{13}C NMR spektrumu (sıvı kısım)..... 55
Şekil 4.9. HSQC NMR spektrumu (sıvı kısım)……...……55
Şekil 4.10 HMBC NMR spektrumu (sıvı kısım)…...……...…..56
Şekil 5.1. Ezilmiş çörek otu örneklerinin C6 (A) ve HeLa (B) hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları
..... .59
Şekil 5.2. Ezilmeyen çörek otu örneklerinin C6 (A) ve HeLa (B) hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları..... .61
Şekil 5.3. Çörek otu hekzan ekstrelerinin C6 (A) ve HeLa (B) hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları..... .63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. *Nigella sativa* L. Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırılması.....1
Çizelge 1.2. Çörek otu Tohumunun Kimyasal Bileşimi.....4
Çizelge 2.1. Suriye Çörek otu GC-MS Sonucu..... 31
Çizelge 2.2. Burdur Çörek otu GC-MS Sonucu… 33
Çizelge 3.1. Suriye Çörek otu Tohumu Hegzan Ekstreli Sabit Yağ Analizi 35
Çizelge 4.1. Çörek otlarının Antioksidan Aktivite Test Sonuç.....43
Çizelge 5.1. Çörek otu Örneklerinin IC_{50} ve IC_{75} Değerleri.....47

1. GİRİŞ

Geçmiş yıllarda, tedavi yöntemlerinin yeterince gelişmediği zamanlarda insanlar hastalıkların tedavisi için şimdinin alternatif tıbbı olan bitkileri farklı yöntemlerle şifa kaynağı olarak kullanıyorlardı (Bilgin & Kocabağlı, 2010). Günümüzde hala bu tedavi yöntemleri kullanılıyor olsa dahi geçmişteki kullanımla aralarında bazı farklar vardır. Bitkiler günümüzde sadece tedavi amaçlı değil kozmetik ve ilaç sanayisinde de fazlasıyla kullanılmaktadır (Bilgin & Kocabağlı, 2010). Sağlık sektöründe tedavi amaçlı kullanılan bitkilerden biri olan çörek otu birçok özelliği sebebiyle yıllardır araştırılmaya devam edilen bir bitki olmuştur (Gün, 2011). Çörek otu; bitkiler âleminin düğün çiçeğigiller (Ranunculaceae) familyasından ve özellikle Türkiye'de 12 türü olduğu bilinen, latince adı *Nigella sativa* olan bitkidir (Kar, Sen, & Tekeli, 2007; Özçelik & Bayram, 2012).

Çizelge 1.1 *Nigella sativa* L. Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırılması

	BİLİMSEL SINIFLANDIRMA
Âlem	Plantae (Bitkiler)
Bölüm	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım	Ranunculales
Familya	Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller)
Cins	Nigella

Aynı zamanda dünyanın çoğu yerinde yetiştiği gibi Türkiye'de de özellikle Isparta, Konya, Burdur gibi illerde yetişen yaprakları ince yaklaşık 35-40 cm boylarında, siyah küçük tohumlara sahip bir bitkidir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda bu bitkinin ve bileşenlerinin antikanserojenik, antioksidan vb. etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Güllü & Gülcan, 2013). Özellikle de çörek otundaki bu etkilere sahip olan önemli bileşen timokinondur (Dedeli & Karadakovan, 2011). Tedavi edici olarak kullanım alanları: astım ve bronşiyal problemler, sırt ağrısı ve romatizma çeşitleri, şeker hastalığı, AIDS, sitomegalo, alerji, yüksek tansiyon, kas ağrıları, uyku bozukluğu ve kanser olduğu bilinmektedir (Akova & Üstün, 2010).

Günümüzde en çok tedaviye ihtiyaç duyulan hastalık olan kanser için de çörek otu bitkisinin etkilerine bakılmış olup, kan kanseri, meme kanseri, kolon kanseri, pankreas kanseri, karaciğer kanseri, akciğer kanseri, cilt kanseri, bağ doku tümörü, böbrek kanseri, prostat kanseri gibi kanser çeşitleri üzerine çalışmalar yapılmıştır (Erbaycu, Gülpek, Tuksavul, Uslu, & Güçlü, 2010; Erdoğan, Çınar, & Şimşek, 2013; Karacan et al.). Ayrıca bir kanser hücresi olan HeLa hücresi (rahim ağzından izole edilerek alınan kanser hücresi) üzerine de birçok çalışma yapılmış olduğu görülmüştür (Özenoğlu et al., 2013; Sen, Ozbas, Akbuga, & Bitis, 2015). Bu nedenle de çok önemli iki kanser hücresi olan HeLa ve C6 hücrelerinin anti-kanser çalışmalarına çörek otu tohumundaki bileşenlerin etkileri araştırılmış olduğu bilgisinden hareketle, izolasyon ve yapı aydınlatma hakkında sınırlı sayıda çalışma olduğu bilgisine varılmış ve bu hücreler üzerine çalışılmıştır. Aynı zamanda da çörek otu bitkisi literatürde çok fazla yer almasına rağmen çoğunlukla tek bir bölge ya da alanda yetişen çörek otları baz alınarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ise diğer çalışmalardan farklı olarak coğrafik özellikleri birbirinden farklı, iki yetişme bölgesi olan Suriye ve Burdur'da yetişen çörek otu bitkisinin tohumları kullanılarak, bu tohumlardaki kimyasal bileşenler çeşitli spektroskopik yöntemlerle açığa çıkartılmış ve bulunan sonuçlar karşılaştırılmıştır. Bitkilerdeki kimyasal bileşenler ve bu bileşenlerin yapılarının aydınlatılabilmesi için çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılmaktadır.

NMR (Nükleer Manyetik Rezonans), GC-MS, HPLC-TOF/MS vs yöntemler bunlardan bazılarıdır. Nükleer manyetik rezonans cihazına verilen maddelere belli oranda manyetik alana maruz bırakma sonucunda, NMR cihazına bağlı olan ekranda, organik bileşiklerin H ve C bağlarını gösteren çeşitli pikler oluştuğu görülür ve bu piklerin doğru okunmasıyla organik bileşiklerin yapılarının aydınlatılması sağlanır.

GC-MS cihazı da organik bileşiğin ağırlığının tayin edilebilmesi için kullanılır. Bu cihazların dışında da diğer spektroskopik yöntemler kullanılarak bir bileşiğin yapısı tam anlamıyla tayin edilebilmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında, çörek otu tohumları Suriye ve Burdur'dan temin edildi. Çalışmanın ilk aşamasında temin edilen çörek otu tohumlarına metanol ve kloroform çözücü karışımları ilave edilip yedi gün ekstraksiyona bırakıldı. Daha sonra ekstraksiyonlar evaporatör cihazı yardımıyla çözücüleri uçuruldu. Geriye kalan ekstraktlardan belli miktarlarda alınıp çeşitli spektroskopik yöntemlerle yapıları belirlendi. Aynı zamanda da metanol-kloroform ekstrelerine antioksidan aktivite testleri yapıldı. Bunların dışında metanol-kloroform ve hegzan ekstrelerine de HeLa ve C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite testleri uygulandı. Aynı işlemler havanda ezilen Suriye ve Burdur çörek otu tohumları üzerinde de gerçekleştirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çörek Otu

Çörek otunun latince ismindeki Nigella kelimesi siyahi anlamına gelen nigellus'tan türetilerek ortaya çıkmıştır. Çörek otu bitkisi % 35- 40 oranında yağ, % 15-20 oranlarında protein, demir, kalsiyum, sodyum, potasyum, % 1,4 oranında uçucu yağ, tanen, saponin, thymochinon (safra söktürücü), nigelon (bronşit nöbetleri için) içermektedir (Kar, Sen, & Tekeli, 2007;Özçelik&Bayram, 2012). Çörek otu içerisinde monosakkaritlerden ramnoz, glikoz, ksiloz, arabinoz, linoleik ve oleik yağ asitleri, sekiz tanesi esansiyel aminoasit olmak üzere toplam onbeş aminoasit, kalsiyum, demir, karoten, potasyum ve sodyum gibi maddeleri de içermektedir.

Çörek otu tohumunun kimyasal bileşimi Çizelge 1.2'de verilmiştir. Günlük olarak kullanılan bazı gıdalarda (kek, bisküvi), görsel amaçlı olarak kullanılan çörek otu, aromatik özellikleri sebebiyle ve de tat vermesi açısından kullanılmaktadır.

Çizelge 1.2 Çörek otu tohumunun kimyasal bileşimi (Bulca, 2014)

Çörek otu Bileşenleri (%)	**Bileşenlerin Miktarları (%)**
Su	7
Protein	23
Yağ	39
Nişasta	15
Ham lif	5.4
Diyet lifi	16
Kül	4.3

Çörek otu tohumlarında eser miktarda B1, B2 ve B6 vitaminleriyle demir, magnezyum, çinko, kalsiyum ve selenyum gibi mineraller de bulunmaktadır (Kar, Sen, & Tekeli, 2007; Özçelik & Bayram, 2012). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda bu bitkinin ve bileşenlerinin antikanserojenik, antioksidan vb. etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Güllü & Gülcan, 2013). Tedavi edici olarak kullanım alanları: Astım ve bronşiyal problemler, sırt ağrısı ve romatizma çeşitleri, şeker hastalığı, AIDS, sitomegalo, alerji, yüksek tansiyon, kas ağrıları, uyku bozukluğu ve kanser olduğu bilinmektedir (Dedeli & Karadakovan,).

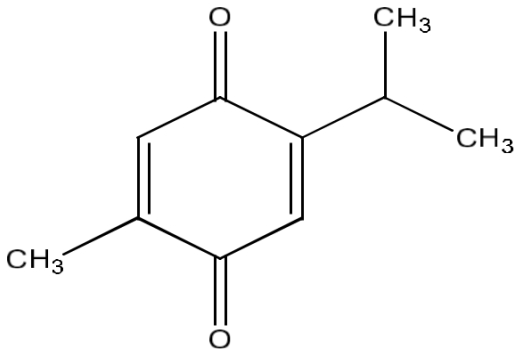
Günümüzde en çok tedaviye ihtiyaç duyulan hastalık olan kanser için de çörek otu bitkisinin etkilerine bakılmış olup, kan kanseri, meme kanseri, kolon kanseri, pankreas kanseri, karaciğer kanseri, akciğer kanseri, cilt kanseri, bağ doku tümörü, böbrek kanseri, prostat kanseri gibi kanser çeşitleri üzerine çalışmalar yapılmıştır (Erbaycu, Gülpek, Tuksavul, Uslu, & Güçlü, 2010; Erdoğan, Çınar, & Şimşek, 2013; Karacan et al.). Ayrıca bir kanser hücresi olan HeLa hücresi (rahim ağzından izole edilerek alınan kanser hücresi) üzerine de birçok çalışma yapılmış olduğu görülmüştür(Özenoğlu et al., 2013; Sen, Ozbas, Akbuga, & Bitis, 2015).



Şekil 1.1. *Nigella sativa* L. Bitkisi (URL 1)

2.1.1. Çörek otunun Biyokimyasal Aktiviteleri

Çörek otu tohumları genel olarak siyah tohum veya kutsal tohum olarak bilinir (Ali & Blunden, 2003). Çörek otu tohumunun hem sabit hem de uçucu yağlarında protein, alkaloit ve saponin olduğu tespit edilmiştir (Ali & Blunden, 2003). Çörek otu tohumu ve yağı antienflamatuar, antioksidan, analjezik, antipiretik, antimikrobiyal ve antineoplastik aktiviteye sahip olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Çörek otunda bulunan farmakolojik etkilere sahip fraksiyonlar Ghosheh ve ark., (1999) tarafından timokinon, dihidrotimokinon, timohidrokinin ve timol olarak bildirilmiştir (Bulca, 2015). Çörek otu uçucu yağında en yüksek oranda ve en önemli biyoaktif bileşen olan timokinon (TQ) çörek otu uçucu yağında yaklaşık olarak % 18.4-24 oranında bulunmaktadır (Bacak Güllü & Avci, 2013; Rooney & Ryan, 2005).



Şekil 1.2 Timokinon

2.2. Timokinonun Etkileri

2.2.1. Antioksidatif Etkisi

Ortaklanmamış elektronları bulunmasından dolayı kararsız bir yapı gösteren serbest radikallerin biyolojik yapılarda ortaya çıkardığı oksitleyici hasarlar, özellikle de kardiyovasküler bozukluklar ve kanser gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır. Serbest radikaller elektrik yüklü olup, hücre membranı içerisinden geçerek insan vücudundaki

Nükleik asitler, proteinler ve enzimler ile reaksiyona girip yıkım meydana getirirler (Salem, 2005).

Çeşitli mekanizmalar ile antioksidan özellik gösteren TQ'nun süperoksit radikal anyonu ve hidroksil radikallerini içeren birçok reaktif oksijen türlerinin süpürücüsü olduğu (Badary, Abdel-Naim, Abdel-Wahab, & Hamada, 2000) ve 5-hidroksieikozatetraenoik asit ile 5-lipoksijenaz sentezini inhibe ettiği bildirilmektedir (El-Dakhakhny, Madi, Lembert, & Ammon, 2002). Aynı zamanda sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada hiperhomosisteinemiye karşı timokinonun koruma sağladığı ve yine ratlarda hipertansiyon ve renal hasar üzerine de koruma sağladığı, streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda ise kalp ve beyinde bulunan oksidatif stres üzerine yapılan araştırmada hem çörek otundaki yağın hem de aktif bileşeni olan timokinonun fark edilir derecede yararı olduğu araştırmalarca sabittir (Güllü & Gülcan, 2013).

2.2.2. Antiproliferatif Etkisi

Kanser hastalığı hücrelerin kontrolsüz, hızlı ve sürekli bölünmesi olarak tanımlayabiliriz (Güllü & Gülcan, 2013). Modern hayatın en büyük sorunlarından biri olmasından dolayı her yıl milyonlarca insan kanserin farklı türlerinden dolayı hayatlarını kaybetmektedirler (M. A. Khan, Chen, Tania, & Zhang, 2011).

Yeni yöntemler geliştiriliyor olsa bile hala tam anlamıyla bir çözüm bulunamamıştır. Birçok in vivo ve in vitro araştırmalar sonuncunda *Nigella sativa* ve aktif bileşenlerinin antitümöral ve antikanserojenik etkileri gözlenmiştir (Güllü & Gülcan, 2013).

Fibrosarkoma, akciğer kanseri, prostat kanseri vb. Kanser türlerine çörek otundaki timokinonun inhibe etki gösterdiği araştırmalarca saptanmıştır (Roepke et al., 2007; Shafi et al., 2009). Ayrıca da Hepatoselüler karsinoma hücrelerini büyük oranda yavaşlattığı ve hepatoselüler tedavisi için timokinon bileşiği anti kanser çalışmalarına

Umut ışığı olmuş bir bileşiktir (Güllü & Gülcan, 2013; Randhawa & Alghamdi, 2011). Bu ve bunlar gibi daha birçok tümör ve anti kanser çalışmaları için timokinon iyileştirici etkiye sahip bir bileşen olmuştur.

2.2.3. Analjezik ve Antiinflamatuar Etkisi

Antiinflamatuar ve analjezik etki, iltihaplarla savaşan ve ağrı kesici etkileri olan ilaçlar anlamına gelir. Timokinonun polimorfnüklear lökositlerden olan 5-lipooksijenazı ve 5-hidroksieikozatetraenoik asit üretimini inhibe ettiğini ve inflamatuar hastalıkların iyileştirilmesi sürecinde etkili olduğu belirlenmiştir (El-Dakhakhny et al., 2002). Timokinonun Pankreas duktal adenokarsinoma hücrelerinde doz, süre ve sürece bağlı olarak COX-2, interlökin-1beta, TNF-α sentezini önemli ölçüde azalttığı ve NF-κb'
nin inhibisyonuna bağlı olarak antiinflamatuar etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Chehl, Chipitsyna, Gong, Yeo, & Arafat, 2009).

2.2.4. İmmunolojik Sisteme Etkisi

İmmun sistem canlı vücudundaki hastalıklara karşı koruma görevi olan, patojenleri ve tümörlü hücreleri fark edip onları yok eden sistemin bütünüdür. *Nigella sativa'*daki yağın ve timokinonun T hücrelerine ve immün yanıta aracı olan ölümcül hücrelerin artmasını sağladığı ve çok önemli immünomodülatör etki gösterdiği belirtilmiştir (Salem, 2005). İnflamasyonlu ve otoimmun hastalıkların tedavisinde timokinonun yararlı olduğu saptanmıştır (El-Mahmoudy et al., 2002).

2.2.5. Sinir Sistemine Etkisi

Sinir sistemi organizmadaki tüm sistemlerin ve organların birbirleriyle ilişkisini ve görevlerini düzenleyen karmaşık bir sistemdir. İnsanlardaki nöral bozuklukların patojilerinde timokinonun nöroprotektif etkili bir bileşik olduğu ortaya çıkarılmıştır (Al-

Majed, Al-Omar, & Nagi, 2006; Güllü & Gülcan, 2013).

2.2.6. Solunum Sistemine Etkisi

Akut akciğer yaralanmaları ve akut solunum sıkıntısı sendromlarında tamamıyla çözüm bulunamamış olup tedaviler halen destekleyici niteliktedir. Bu sıkıntıların giderilmesiyle ilgili yapılan bir araştırmada ratlar üzerinde bazı denemeler yapılmış ve timokinonun akciğer dokusunu zararlı maddelerin etkilerinden koruduğu saptanmıştır (Güllü & Gülcan, 2013; Işık, Kati, Bayram, & Özbek, 2005).Aynı zamanda timokinon, akciğer dokularında allerjen maddenin indüklediği eozinofilik inflamasyonu ve kadeh hücrelerinden mukus üretimini belirgin oranda inhibe etmiştir. Buna çok benzer bir çalışmada ise timokinonun deneysel astımda antiinflamatuar etkisi olduğu belirlenmiştir (El Gazzar et al., 2006; Güllü & Gülcan, 2013).

2.3. Kanser İle İlgili Bilgiler

2.3.1. Kanser Nedir

Kanser; yüzyıllardır insanoğlunun üzerinde çalışmalar yaptığı, gün geçtikçe üzerine tedavi yöntemleri geliştirilen fakat hala tam anlamıyla çözüm bulunamayan ve aynı zamanda genetik bir hastalığın adıdır. Doğumdan ölüme kadar canlı hücrelerinin gelişimini kontrol altında tutan genlerde bozukluklar meydana getirip, kontrolsüzce hücrelerin büyüme ve bölünmelerine neden olmaktadır. Kanser hastalığı çok düşük ihtimallerde kalıtsal olabilmekte fakat büyük ölçüde kalıtsallık barındırmamaktadır. Fakat kanser hastalıklarının araştırmalarında % 1 oranında, kök-eşey hücre genlerinde ortaya çıkan değişimler ve başkalaşımlar, daha sonraki nesillere aktarılır. Bu başkalaşımlar, gelecek nesillerin kesin olarak kanser hastalığına yakalanmalarına neden olmasa da bu hastalığa karşı kişilerin yatkın olmalarına sebebiyet verir (Cummings and Klug 2002).

2.3.2. Kanser Çeşitleri

İnsanların çoğunlukla yakalandıkları kanser çeşitleri; Cilt kanseri, akciğer kanseri, kan kanseri, meme kanseri, kolon kanseri, pankreas kanseri, karaciğer kanseri, bağ doku tümörü, böbrek kanseri, prostat kanseri, rahim ağzı kanseri'dir. Bu kanser çeşitlerinin dışında farklı kanser çeşitleri bulunsa da en fazla görülenler yukarıda yazılanlar olmuştur. Kanser hastalıkları çeşitli olduğu gibi hepsinin kendine has özellikleri de vardır. Bazıları daha fazla ilerleyebilirken bazıları daha yavaş ilerlediğinden dolayı hastalığı önleyici tedavilerin uygulanma süreçleri bir nebze daha kolay olmaktadır ve yaşam süresine genel anlamda kısıtlayıcı bir etken olmamaktadır. Yine de kanser hastalığının ciddiyeti unutulup tedavi olunma süreci ertelendiğinde, aylar hatta haftalar içerisinde bulunduğu organdan bir diğerine metastaz olarak ölümcül olabilen kanserlerin varlığı da yadsınamaz (Prieto and Lambert 1999). Bu sebeple türü her ne olursa olsun erken tanı ve teşhis hayat kurtarabilmektedir.

2.3.2.1. Kan Kanseri

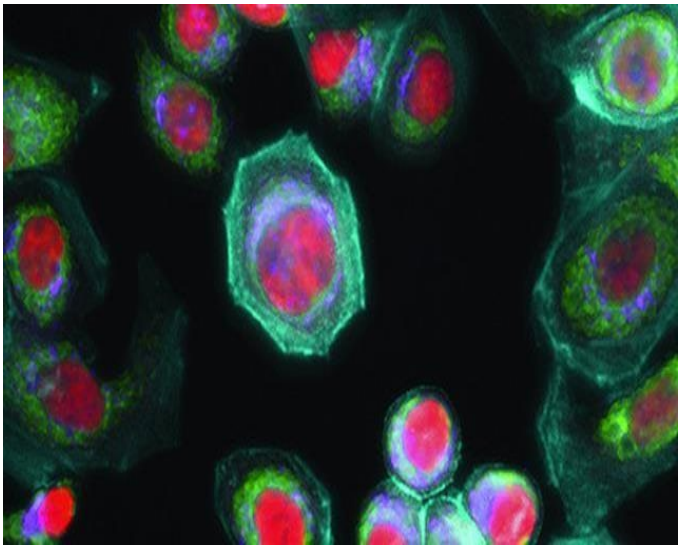
El-Mahdy ve arkadaşları 2005 yılında timokinonun, insanda HL-60 hücrelerinde miyeloblastik lösemide hücrelerin kontrolsüz büyümesini engelleyen etkiyi ortaya çıkardığını savunmuşlardır. Timokinon aynı zamanda terpen uçlu 6-alkil türevleri HL-60 hücrelerinde ve 518A2 kara tümörde Effenberg ve arkadaşları tarafından 2010 yılında test edilmiştir (Effenberger, Breyer, & Schobert, 2010; M. A. Khan et al., 2011). Türevleri apoptozisin DNA merdivenlemesiyle birleşmesine, mitokondriyel zar potansiyelinde ve reaktif oksijen türlerinde küçük bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur (M. A. Khan et al., 2011).



Şekil 2.1. Kan Kanseri Hücresi (URL 2)

2.3.2.2. Meme Kanseri

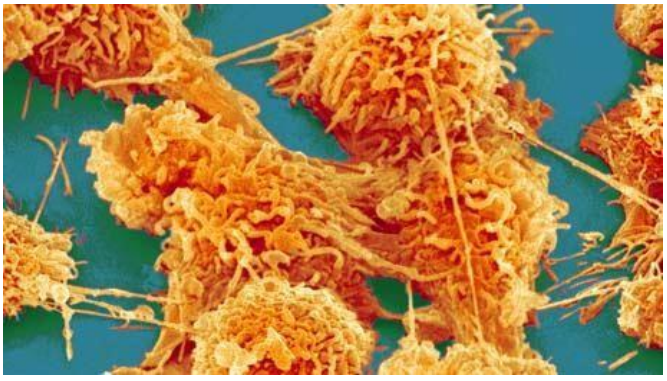
Nigella sativa'nın su ve alkol özlerinin MCF-7 göğüs kanser hücrelerinde, vitronun devre dışı bırakılmasında etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Farah & Begum, 2002; M. A. Khan et al., 2011). *Nigella sativa,* memeli hayvanlardan farelerin melatonin ve retinoik asit kombinasyonunda DMBA'nın karsinocenetik etkilerini azalttığı saptanmıştır (El-Aziz et al., 2005; M. A. Khan et al., 2011). Timokinonun terpen uçlu 6-alkil tortuları MCF-7'de test edilmiştir (Effenberger et al., 2010; M. A. Khan et al., 2011). Aynı zamanda türevlerinin de apoptozis tarafından hücre ölümüne sebep olduğunu bulmuşlardır (M. A. Khan et al., 2011).



Şekil 2.2. Meme Kanseri Hücresi (URL 3)

2.3.2.3. Kolon Kanseri

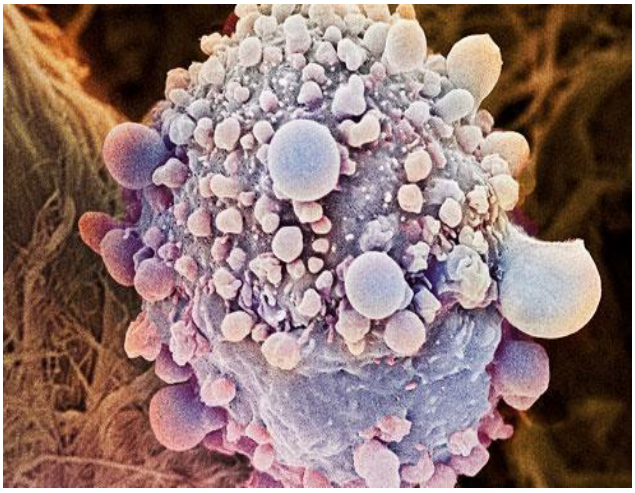
Timokinonun, kolon kanseri hücre çizgisi HCT116'ya karşı anti-neoplastik ve pro-apoptotik olduğu öne sürülmüştür (Muhtasib, Assdf, & Boltze, 2004). *Nigella sativa'* nın uçucu yağının post ettirme kısmında, belirgin bir yan etki olmaksızın, farelerin kalın bağırsak karsiyojenezini engelleme yeteneği olduğu ispat edilmiştir (Salim & Fukushima, 2003). Timokinon, SW-626 kalın bağırsak kanser hücrelerinde, 5-floroürasil hareketine benzer olan bir etkide, kemoterapötik etken olarak öne sürülmüştür (Norwood, Tan, May, Tucci, & Benghuzzi, 2005). Bu bilgilere karşın, HT-29 (kalın bağırsak adenokarsinon) hücrelerinde, timokinonun hiçbir etkisi bulunamamıştır (M. A. Khan et al., 2011; Rooney & Ryan, 2005b).



Şekil 2.3. Kolon Kanseri Hücresi (URL 4)

2.3.2.4. Pankreas Kanseri

Timokinonun, *Nigella sativa* yağ özünün başlıca bileşeninin, apoptozisi engellediğini ve PDA (pankreas duktal adinokorsinon) hücrelerinde proliferasyonu engellediğini saptanmıştır (Chehl et al., 2009; M. A. Khan et al., 2011). Timokinon ayrıca da kemoteröpetik ilacı ya da NF-koppo b'nin oksoliplatin etkinleşmesini kaldırabilir, bilinen terapötiklerin pankreas tümörlerinin kemosentizisasyonuyla sonuçlanır (M. A. Khan et al., 2011). Timokinonun MUC4 üzerinde, pankreas kanser hücrelerinde aşağı regülasyonunu değerlendirmişlerdir (Torres et al., 2010). Fakat yapılan bir çalışmada, timokinonun MIA paca-2 (pankreas kanseri) hücrelerinde hiçbir engelleyici etkisine rastlanılmamıştır (M. A. Khan et al., 2011; Rooney & Ryan, 2005b).

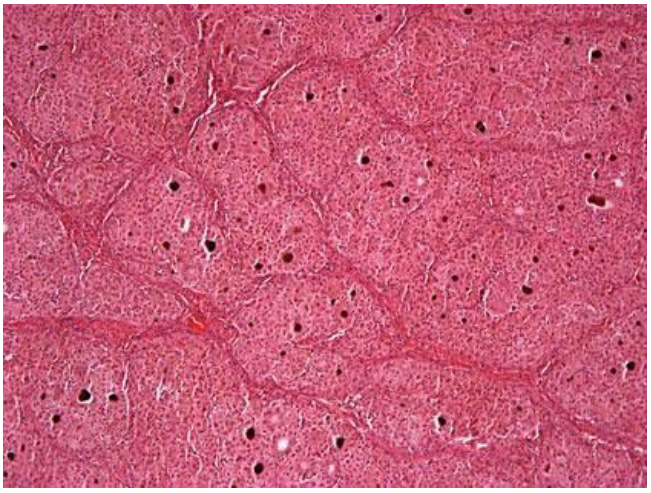


Şekil 2.4. Pankreas Kanseri Hücresi (URL 5)

2.3.2.5. Karaciğer Kanseri

Nigella sativa tohumunun sitosidol aktivitesi HepG2 insan karaciğer tümörü hücre çizgisi test edilmiştir (M. A. Khan et al., 2011; Thabrew, Mitry, Morsy, & Hughes, 2005). *Nigella sativa* özünün farklı derişimlerle (0-50 mg/ml) 24 saatlik kuluçkaya yatırılmasının ardından HepG2'de % 88 engelleyici etkisi olduğu bulunmuştur (M. A. Khan et al., 2011; Nagi & Almakki, 2009). Timokinonun oral yönetiminin kuinonun aktivitelerini azaltmada ve glutatyon transferazında ve kimyasal karsinojenez ve hepatik

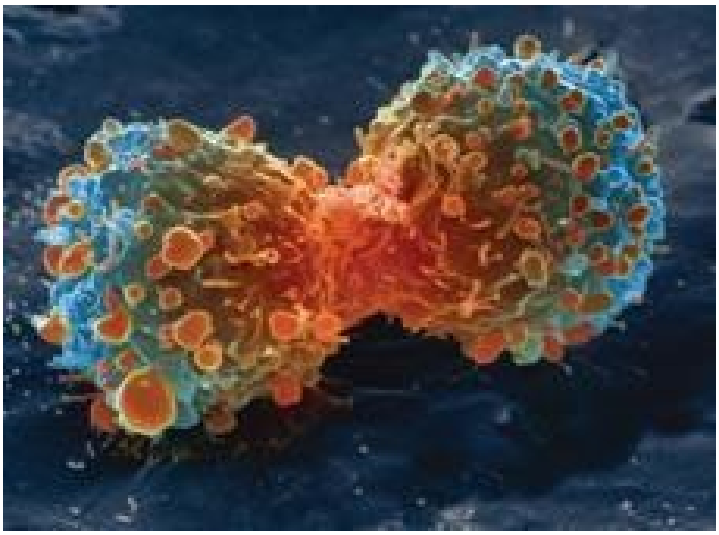
kanserde zehirliliğe karşı ümit verici proplastik etki oluşturmasında etkili olduğu rapor edilmiştir (M. A. Khan et al., 2011).



Şekil 2.5. Karaciğer Kanseri Hücresi (URL 6)

2.3.2.6. Akciğer Kanseri

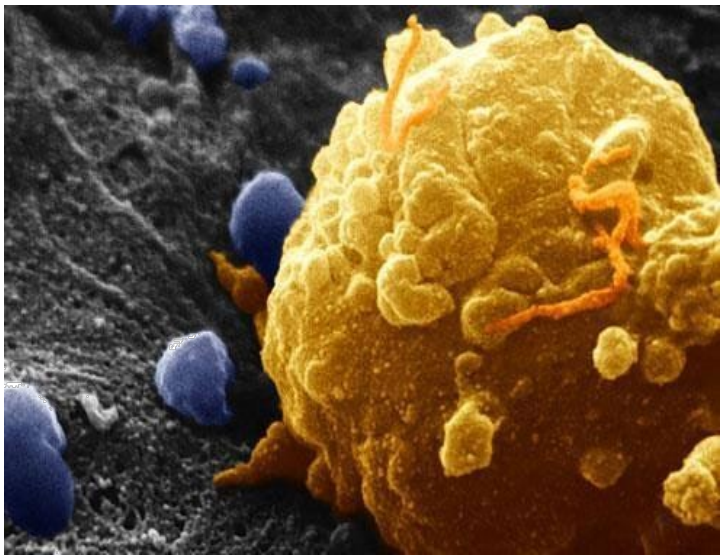
Bal ve *Nigella sativa* ile diyezin eklemesinin, MNU'nun neden olduğu oksidatif stres, yangısal yanıt ve akciğer, deri ve kalın bağırsakta kötü ur üretimine karşı koruyucu bir etkisi olduğunu göstermiştir (Mabrouk et al., 2002). Ayrıca alfa hederin ve timokinon, *Nigella sativa*'nın başlıca iki biyoaktif bileşeninin ne hücre zehirlenmesine ne de A549 (akciğer kanseri), Hep-2 (gırtlak epidermoid kanseri) hücrelerinde artış gerçekleştiğini rapor etmişlerdir (M. A. Khan et al., 2011; Rooney & Ryan, 2005b).



Şekil 2.6. Akciğer Kanseri Hücresi (URL 7)

2.3.2.7. Cilt Kanseri

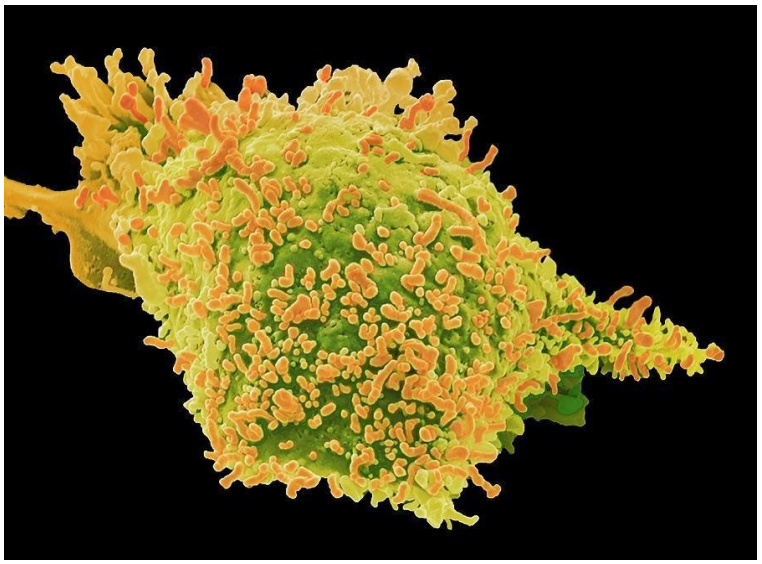
Farelerde yapılan cilt kanseri çalışmalarında *Nigella sativa'*nın topikal uygulaması iki basamağa ayrılır: başlatma ve arttırma (dimetilbenzanteresin (DMBA) /Kroton yağı). *Nigella sativa'*nın bir aylık (100 mg/kg body wt) intraperitoneal yönetiminden sonra MCA'nın (20-metilkolontren) deri altı yönetimi MCA kontrollerinde % 100'ün ,% 30'a kıyasla yumuşak doku eklem uçlarında kısıtlanma gözlendi (M. A. Khan et al., 2011; Salomi, Nair, & Panikkar, 1991).



Şekil 2.7. Cilt Kanseri Hücresi (URL 8)

2.3.2.8. Bağ Doku Tümörü

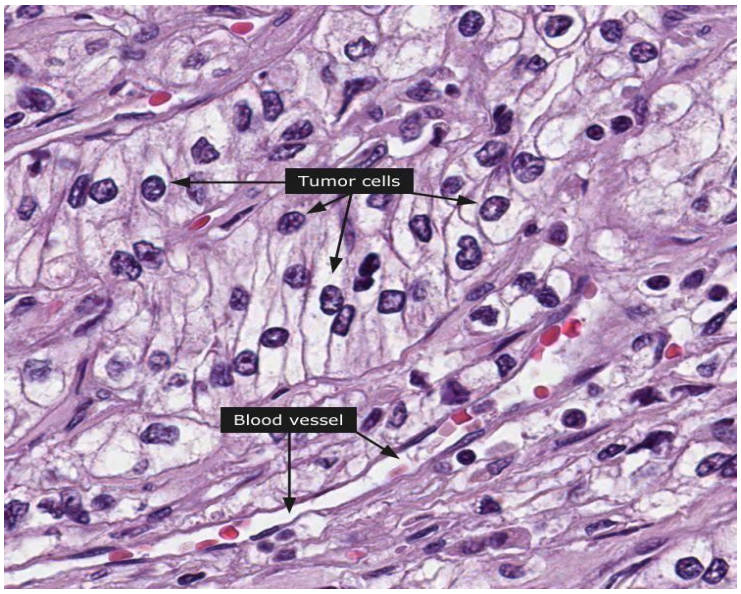
Nigella sativa'daki timokinon MCA'nın sebep olduğu iğ dokulu ur tümörlerinin hücumunun ertelenmesini sağlamıştır. Ayrıca da in vitro çalışmaları göstermiştir ki timokinon 15mm'nin IC50'li iğ dokulu ur hücrelerinin hayatta kalmalarını engelledi (Badary, Taha, Gamal El-Din, & Abdel-Wahab, 2003; M. A. Khan et al., 2011). *Nigella sativa*'daki yağ ayrıca in vitro'daki insanda iğ dokulu ur hücre çizgisinin (HT1080) fibrinolitik (pıhtı eriten) potansiyelini azaltmıştır (Awad, 2005; M. A. Khan et al., 2011).



Şekil 2.8. Bağ Doku Tümörü Hücresi (URL 9)

2.3.2.9. Böbrek Kanseri

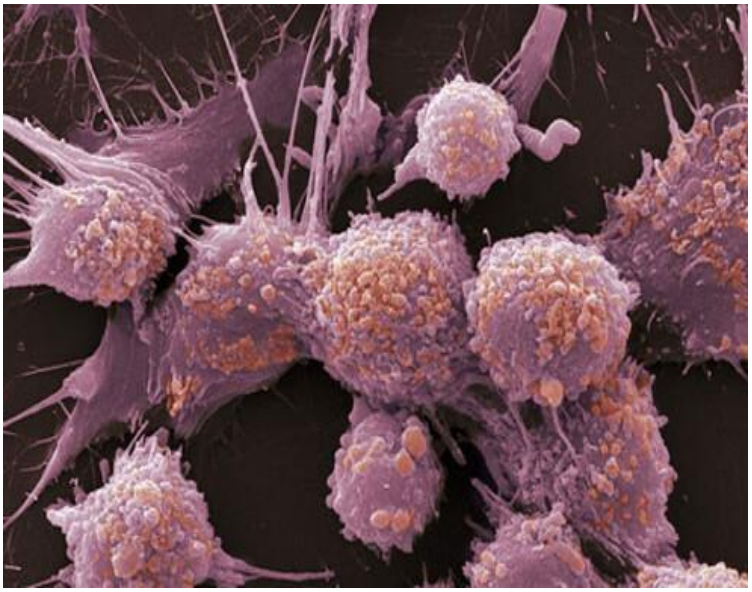
Nigella sativa'nın, Fenil nitrilotriasetotin (Fe-NTA)'nin sebep olduğu böbrek oksidatif stres, hiper-proliferative yanıt ve böbrek kanserine karşı kemopreventif etkisi ortaya çıkmıştır (M. A. Khan et al., 2011; N. Khan & Sultana, 2005). Farelerin ağızdan *Nigella sativa* ile tedavisi (100 mg/kg vücut wt) H_20_2 üretiminde, DNA sentezi ve tümörlerin etkisi önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (M. A. Khan et al., 2011).



Şekil 2.9. Böbrek Kanseri Hücresi (URL 10)

2.3.2.10. Prostat Kanseri

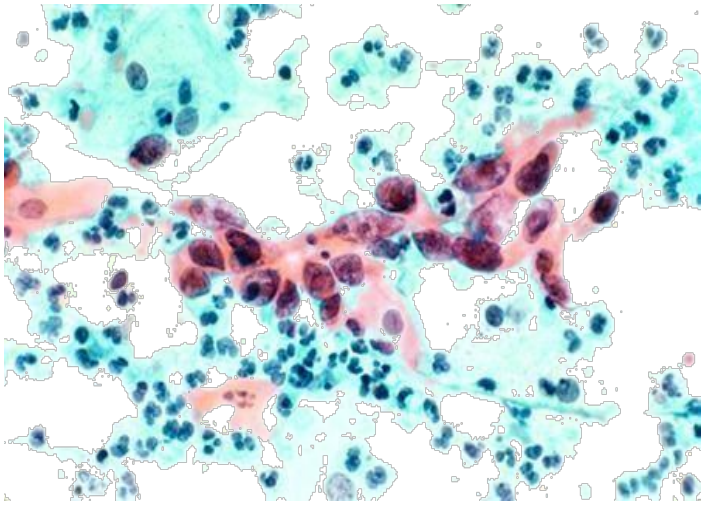
Prostat kanseri ile ilgili yapılan bir araştırmada timokinonun hormon duyarlılığı tedavisinde olduğu kadar tedavisi güç olan insan prostat kanserinde de iyi olduğunu öne sürmüşlerdir. Timokinonun in vivo ve in vitro'da anjiyogenezi tıkadığını, faredeki ksenografti, insandaki prostat kanserini engellediğini ve prostat tümör büyüklüğünü neredeyse hiç kemotoksik yan etki olmadan düşük bir orana indirgediği saptanmıştır (M. A. Khan et al., 2011; Yi et al., 2008). Timokinon aynı zamanda damar endotelyal büyüme faktörü hücre dışı sinyal ayarlı kinaz aktivasyonunu kısıtlamıştır fakat damarlı endotelyal büyüme faktörü reseptör 2 aktivasyonunda hiç kısıtlayıcı etki göstermemiştir (M. A. Khan et al., 2011).



Şekil 2.10. Prostat Kanseri Hücresi (URL11)

2.3.2.11. Rahim Ağzı Kanseri

*Nigella sativa'*nın metanol, n-hekzan ve kloroform özleri apoptazisi tetikleyerek HeLa hücrelerini etkili bir biçimde öldürdüğünü rapor edilmiştir (M. A. Khan et al., 2011; Shafi et al., 2009). Timokinonun terpen uçlu 6-alkil tortularını çoklu ilaca direnç gösteren KB-V1/Vb1 boyun kanserinde test edilip türevlerinin apoptozisle hücre ölümünü tetiklediği bulunmuştur (Effenberger et al., 2010).



Şekil 2.11. Rahim Ağzı Kanseri Hücresi (URL 12)

2.3.3. Kanser Hastalığının Tedavi Yöntemleri

Kanser öncelikle belirtiler ortaya çıkmaya başlandığında bu hastalığın tedavisi üzerine uzman kişilerce durum saptaması yapılır. Genel olarak bakıldığında bu hastalığın tedavi edilme sürecinde üç tane farklı yaklaşım bulunmaktadır. Kimyasal, cerrahi operasyon ve radyasyon'dur. Bu üç yaklaşımdan kimyasal olanı, genel olarak fazla yayılma göstermemiş ve sayıca daha az olan kanserler üzerinde kullanılan ilaç tedavisini kapsamaktadır. Yine de bu tedavi süresi kişinin biyolojik özellikleri, yaş durumu, psikolojik etmenleri, kanserli hücrenin yayılıp yayılmadığı, yayıldıysa da ne oranda yayıldığıyla bağlantılı olarak değişiklik gösterecektir. Çoğu kanser hücrelerinde diğer yöntemlere ek yardımcı yöntem olarak kullanılmaya devam edilmektedir (Bökesoy vd. 2000). Uygulanan bu kimyasal tedavinin de amaçları vardır.

Öncelikli olarak kanser hücresini tamamını yok ederek kesin tedavi. Uzman görüşü olarak kanserin tamamı yok edilemeyeceği ön görüldüğünde ise daha fazla büyümemesi, yayılmaması ve artış göstermemesi için bu kanserli hücreler kontrol altında tutulmaya çalışılır. Bir de eğer kesin çözümü olmayacağı anlaşılıp yayılmasını ve büyümesini de engellemek mümkün değilse, hastanın yaşam kalitesini daha fazla arttırmak ve o anlık rahatlama sağlamak için anlık tedaviler uygulanmaktadır (Bökesoy vd. 2000).

Genel anlamda kanser hastalığının tedavi süreci bu aşamalardan geçip hastalık ne durumda olursa olsun kişinin hayat kalitesinin olabildiğince arttırılması öncelik olmaktadır.

2.3.4. Antioksidan Aktivite Açısından Çörek Otu

Günlük yaşamımızda kullandığımız gıdalarda, özellikle fiziksel ve kimyasal olarak yapılarını bozmamak, gıdanın şekil yönünden, tat, koku ve görüntüsünü etkilemeden katkı maddelerini kullanmak bir hayli popüler durumdadır. İnsanların bu etkenler karşısında olumsuz etkilenmemeleri amaçlanmaktadır. Geçmişten günümüze kadar özellikle bu tüketilen gıdaların raf ömürlerinin uzatılması için ne yazık ki sentetik olan antioksidanlar kullanılmıştır. Fakat sentetik antioksidanlar özellikle kanserojenik etkileri sebebiyle, insanları gıdalar için üretilen katkı maddelerini kullanmamaya yöneltmeye başlamıştır. Bu sebepler neticesinde gıdalara eklenecek olan antioksidanlarda en önce doğal olma durumu sorgulanmaktadır. Yani sentetik olmaması amaçlanmaktadır.

Antioksidan etkiye sahip birçok bitki mevcuttur. Bunlardan bir tanesi de bu tezde de kullanılmış olan çörek otudur. Özellikle de çörek otu tohumu esansiyel yağı içermektedir. Tez kapsamında da çörek otu tohumu ekstrelerindeki antioksidan aktivite testleri yapılmıştır.

2.3.5. Çörek Otu Bitkisine Ait Literatür Bilgisi

Günümüzde gıdalarda mikrobiyel, fiziksel ve kimyasal özellikleri korumak ve gıdanın yapısını, dış görünüşünü, tadını, kokusunu olumsuz yönde etkilemeyecek nitelikteki katkı maddelerinin kullanımına yönelik yoğun bir eğilim bulunmaktadır. Bugüne kadar yapılmış çalışmalarda gıdaların depolaması sürecinde oluşabilecek en önemli problemlerden biri olan oksidasyonu önlemek ve gıdaların raf ömrünü uzatmak için sentetik antioksidanlar kullanılmış ve halen de kullanılmaya devam edilmektedir. Son yıllarda sentetik antioksidanların özellikle toksikolojik ve kanserojenik özelliklerinin

tespit edilmesi nedeniyle üretilen katkı maddelerinin tüketilen gıdalara ilave edilmesinden kaçınılmaktadır.

Bu nedenle de gıdalara ilave edilecek antioksidanlarda aranan en önemli özellik doğal olması yani sentetik olmamasıdır. Antioksidan kullanımında bir diğer kriter antioksidanların maliyetinin düşük olması tüketici tercihinde aranan önemli bir faktördür. Antioksidan etkiye sahip bitkilerden birisi de çörek otu esansiyel yağıdır. Bu yağın tıbbi özellikleri konusunda bazı çalışmalar yürütülmüş olmakla beraber, ne yazık ki bu bitkiden elde edilen ve antioksidan etkiyi sağlayan uçucu yağların gıdalarda kullanımı hakkında yeterli sayıda bilimsel çalışmalar yapılmamış ya da yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular arasında çelişkili sonuçlar olduğu saptanmıştır. Bu derlemede, bugüne kadar çörek otu uçucu yağının gıdalarda antioksidan olarak kullanımı, antioksidan aktiviteye sahip maddelerin elde edilmesinde kullanılan farklı ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması, çörek otu uçucu yağında bulunan fraksiyonların termal stabilitesi, sentetik ve doğal antioksidanların özellikleri vs. Konusunda yapılmış çalışmaların sonuçları değerlendirilmiştir (Bulca, 2014).

Kanser şaşılacak dereceden yüksek ölüm oranına neden olan hastalıklardan biridir (Shafi et al., 2009). Büyük çabalar harcanarak ve uzun süren uğraşlar sonucunda elde edilen kontrol ve tedavi yöntemlerine rağmen hala kanser hastalarını kaybediyoruz. Kemoterapi, tezgenli terapi, fotodinamik terapi ve radyoterapi gibi bilinen ve geliştirilen yöntemler istenilen sonuçları vermeyince, araştımacılar alternatif tedavi yöntemlerine yöneldiler (Shafi et al., 2009). Bu tedavilerden bir tanesi de çörek otu yani *Nigella sativa* bitkisiyle yapılmaya çalışılmaktadır.

Nigella sativa yüzyıllar boyunca ilaç olarak yani tedavi amaçlı kullanıldı. Tohumu ingilizcede “black cumin” olarak kullanıldı. Arap dillerinden “Habbah Sawda” ya da “Kutsal Tohum” olarak çevrildi (Shafi et al., 2009).

Nigella sativa'nın aktif bileşenlerinin birçok hastalığa olduğu gibi kansere karşı da iyileştirici etkileri vardır. Örneğin damar tıkanıklığının azaltılmasında, pankreatik beta hücrelerinin bütünlüğünü korunmasında, diyabet tedavisinde, hipertansiyon tedavisinde, astım hastalarının hava yollarında tesirli antihistaminik etki gibi pozitif yönde etkileri vardır. *Nigella sativa'*nın son iki-üç yüzyıldır anti kanser aktivitesi araştırmaları yapılmakta olup total olarak bakıldığında bu alanda çok araştırma yapılmadığı görülmektedir (M. Khan et al., 2011; Rooney & Ryan, 2005a; Shafi et al., 2009).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Bitkisel Materyal

Bitki tohumları Suriye ve Burdur'dan temin edildi. Bitki tohumları temin edildikten sonra çalışma için kullanılacak kadar miktarları belirlenip ayrılarak çalışmaya hazır hale getirildi.

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesinin araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemleri Bitki araştırma Laboratuvarı'nda, anti-proliferatif aktivite testleri Fen Fakültesi Kimya Bölümü Laboratuvarı'nda, NMR tayini ise NMR laboratuvarında yapıldı.



Şekil 3.1. Suriye çörek otu tohumları (URL 13)



Şekil 3.2. Burdur çörek otu tohumları (URL 14)

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Metanol (merck), kloroform (merck), etil asetat (merck), etanol (merck), hekzan (merck) tüm bu kimyasal çeşitli kromatografik yöntemler için kullanılmıştır. Deiyonize su, Milipore 550 cihazından elde edildi. Antioksidan ve diğer indirgeme testleri için bütillenmiş hidroksitoluen, Tert-Butilhidrokinon kullanıldı. NMR ölçümleri için kullanılan döteryumlu çözücüler: DMSO-d_6,CD_3OD kullanıldı. Anti-kanser çalışmaları için; DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), tripsin EDTA, HeLa (insan rahim ağzı kanser hücresi) ve (C6 beyin tümör hücreleri) kullanıldı.

3.3. Kullanılan Cihazlar

GC-MS: Agilent 7890A gas chromatography and 5975C inert MSD, with Triple-Axis detector (Agilent Technology), NMR: Agilent Marka 600 MHz Nükleer Manyetik Rezonans (Çankırı Karatekin Üniversitesi), İnkübatör CO_2 Water-Jacketed (Nuaire US Autoflow), Steril Kabin (Esco class II type A2), Otoklav (Panasonic), Döner buharlaştırıcı, Santrifüj, Etüv, Ultrasonik Banyo.

3.4. Ekstraksiyon (Özütlenme) işlemi

Suriye ve Burdur çörek otu tohumlarından 20'şer gram alınarak üzerine metanol:kloroform (1:1, 100 ml) çözücü karışımı ilave edilerek laboratuvar şartlarında yedi gün ekstraksiyona bırakıldı. Süzme işlemi sonucunda ekstraktlar ayrı ayrı cam kaplara konuldu. Kalan bitki örneklerinin üstüne tekrar metanol:kloroform (1:1, 100 ml) karışımı eklenerek tekrar yedi gün ekstraksiyona bırakıldı. Yapılan süzme işleminden sonra ilk ekstrakte edilenlerle birleştirildi. Ekstraktların çözücüleri evaporatör cihazıyla yaklaşık 30-40 °C aralıklarında uzaklaştırıldı.

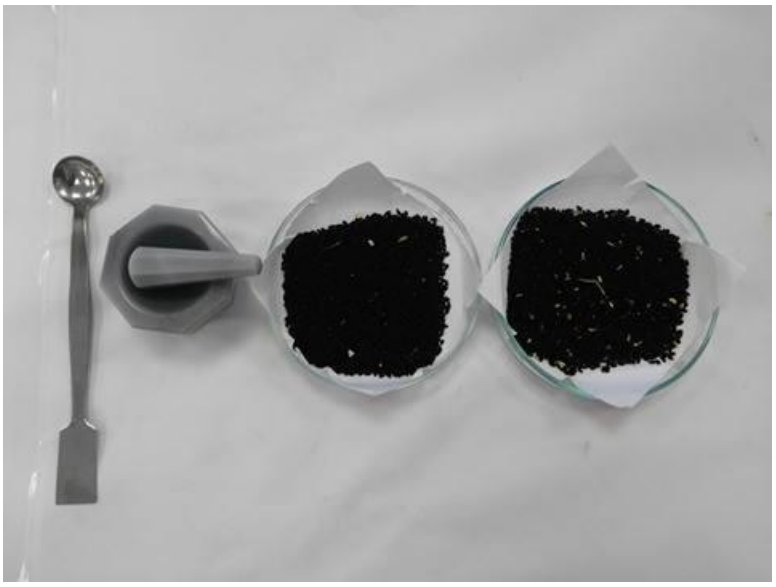


Şekil 3.3. Çözücü karışımındaki (MeOH-$CHCL_3$) Burdur ve Suriye çörek otu tohumları



Şekil 3.4. Çözücü karışımında bekletildikten sonraki süzme aşaması

Aynı işlem her iki çörek otu tohumları için aynı oranda alınıp havanda ezilerek üzerlerine yine metanol:kloroform (1:1, 100 ml) çözücü karışımı ilave edilerek laboratuvar ortamında 7'şer gün ekstraksiyona bırakıldı. Bu işlem 2 kez tekrarlandı ve yine ekstraktların çözücüleri evaporatör cihazıyla uzaklaştırıldı.



Şekil 3.5. Havanda ezilmek üzere hazırlanan çörek otu tohumları

Bu işlemlerden sonra Suriye ve Burdur çörek otu tohumlarının hegzan ekstrelerini çıkarmak amacıyla 20'şer gram her iki çörek otundan da alıp üzerlerine 50'şer ml hegzan çözücüsünden konularak 7 gün bekletilmek üzere laboratuvar ortamına bırakıldılar. Bekleyen çörek otu tohumlarının çözücüleri evaporatör yardımıyla uçuruldu.



Şekil 3.6. Hegzan çözücüsündeki Suriye ve Burdur çörek otları



Şekil 3.7. Evaporatör cihazı

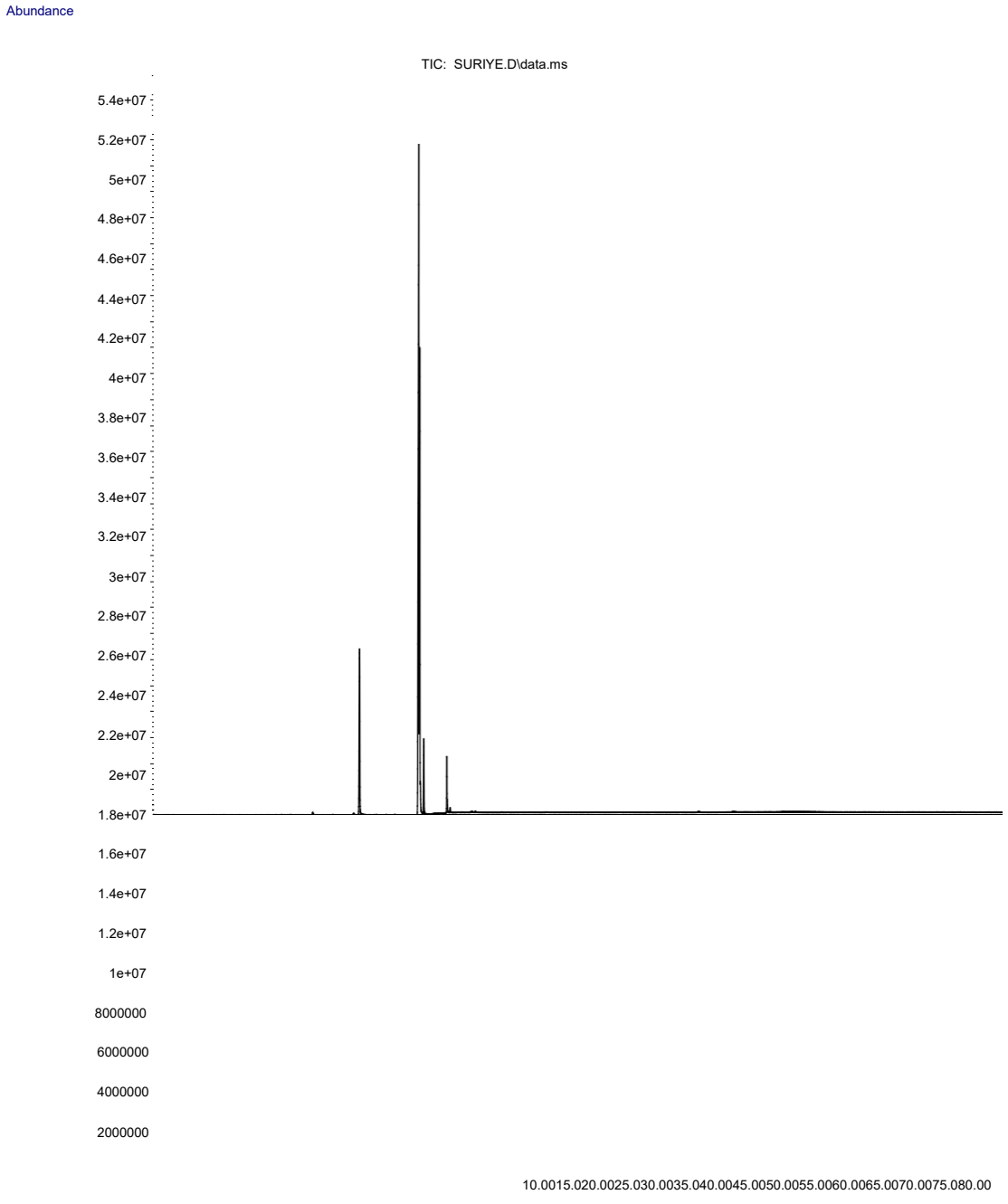
3.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)

GC-MS, gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi yapılarının birlikte çalıştıkları sistemdir. Yapı analiz etme ve miktar tayinlerinde kullanılırlar. GC-MS gaz kromatografi kolonlarında ayrışan tüm maddelerin saptanabilmesi, tayin edilebilmesi ve yapıların analizi

için yaygın olarak kullanılırlar. Bu birlikte çalışan cihazda MS; genellikle dedektör görevi görmektedir. GC'den ayrılıp kütle spektrometresine gönderilen tüm bileşiklerin kromatogramları alınarak her bir bileşiğin kütle spektrumu çekilir ve kalitatif tayin kolay ve kesin sonuçlarla yapılır. Kullanıldığı analizlere örnek olarak; yağ analizleri, petrol analizleri, gıda analizleri, ilaç sektöründe kullanılan kalitatif ve kantitatif analizler için kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında ise çörek otu tohumlarının yağ analizlerinde kullanılmıştır.

Çizelge 2.1. Suriye çörek otu tohumu GC-MS sonucu

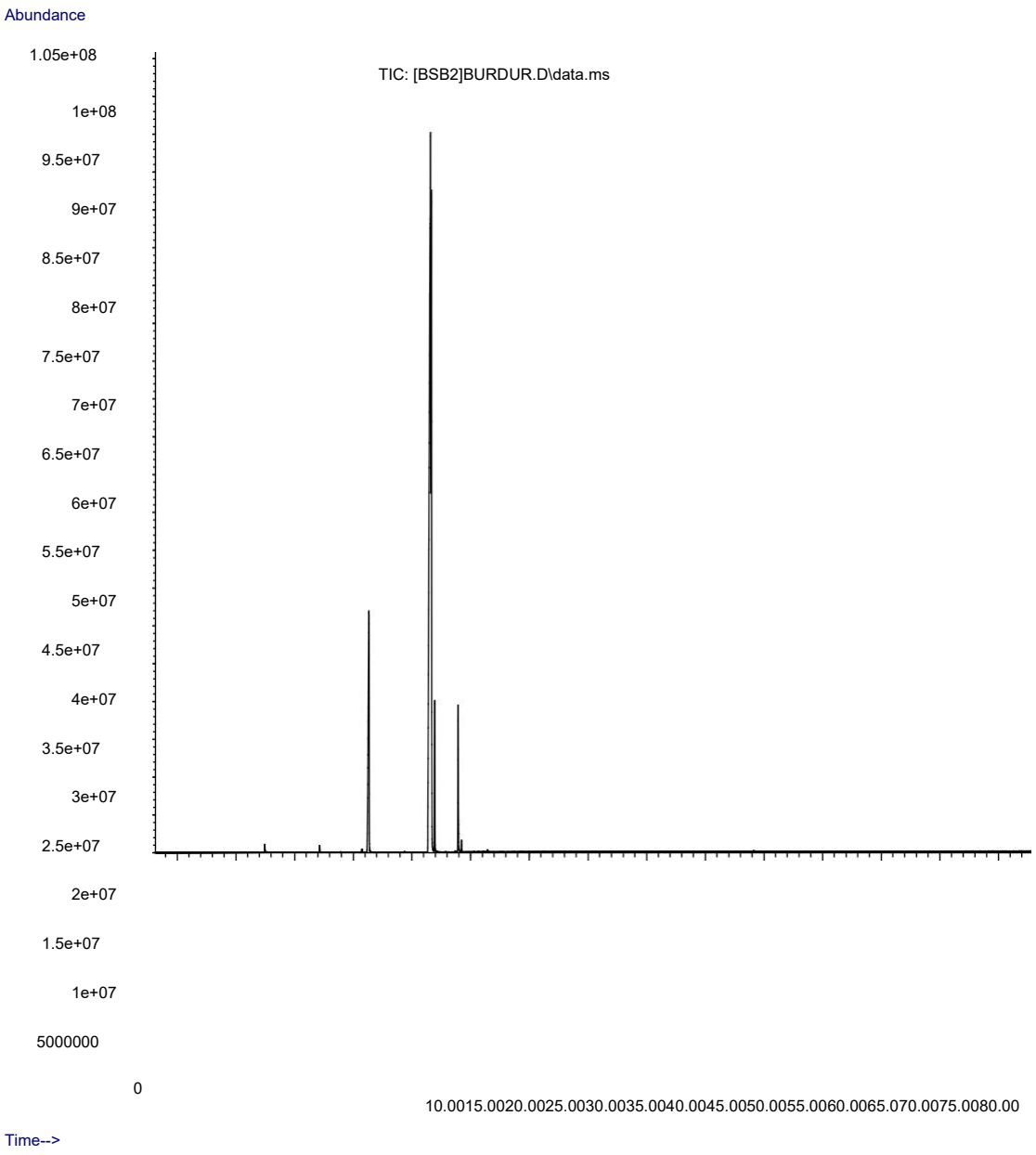
Bileşik Numaraları	**RT (dk)**	**%**	**Bileşikler**
1	22,121	0,14	Miristik asit
2	25,72	0,15	Palmitoleik asit
3	26,24	12,80	Palmitik asit
4	31,449	52,04	Linoleik asit
5	31,533	27,38	Oleik asit
6	31,894	3,47	Stearik asit
7	33,915	3,01	11,14-Eikosadienoik asit
8	34,209	0,37	Araşidik asit
9	36,046	0,11	13,16-Dokasadienoik asit
10	36,147	0,12	Etanol, 2-(oktadesiloksi)
11	36,424	0,13	Behenik asit
12	56,078	0,15	Stigmasterol
13	59,14	0,11	γ-Sitosterol



Şekil 3.8. Suriye çörek otu tohumu GC-MS kromatogramı

Çizelge 2.2. Burdur çörek otu tohumu GC-MS sonucu

Bileşik Numaraları	RT (dk)	%	Bileşikler
1	17,449	0,23	Metilöjenol
2	17,675	0,03	Longifolene
3	22,13	0,18	Miristik asit
4	23,908	0,04	Pentadekanoik asit
5	25,728	0,17	Palmitoleik asit
6	26,324	12,95	Palmitik asit
7	27,557	0,02	Biformen
8	28,58	0,04	10-Heptadekenoik asit
9	29,361	0,06	Margarik asit
10	31,575	55,83	Linoleik asit
11	31,651	22,82	Oleik asit
12	31,936	3,63	Stearik asit
13	33,932	3,41	11,14-Eikosadienoik asit
14	34,218	0,26	Araşidik asit
15	36,122	0,04	13,16-Dokasadienoik asit
16	36,432	0,07	Behenik asit
17	39,301	0,03	Lignoserik asit
18	56,095	0,05	Stigmasterol
19	59,149	0,09	γ-Sitosterol

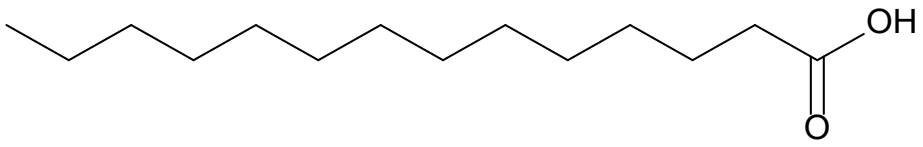


Şekil 3.9. Burdur çörek otu tohumu GC-MS kromatogramı

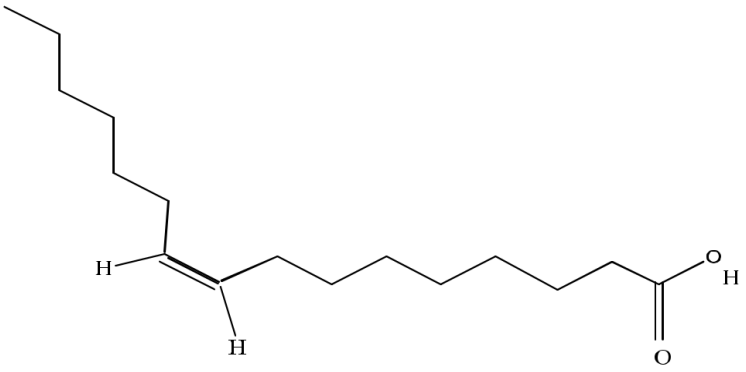
Çizelge 3.1. Suriye çörek otu tohumu hegzan ekstreli sabit yağ analizi (yağ asitleri)

RT (dk)	Alan	%	Yağ asitleri
22,088	3021545	0,12	Miristik asit
25,661	2440832	0,09	Palmitoleik asit
26,257	333911624	12,93	Palmitik asit
28,496	573854	0,02	Metil 9-heptadekanoat veya 9-17:1
29,268	707168	0,03	Margarik asit
31,542	1428902237	55,34	Linoleik asit
31,625	625239435	24,22	Oleik asit
31,902	110665437	4,29	Stearik asit
33,907	70091612	2,71	11,14-Eikosadienoik asit
34,192	5290224	0,20	Araşidik asit
36,39	894939	0,03	Behenik asit

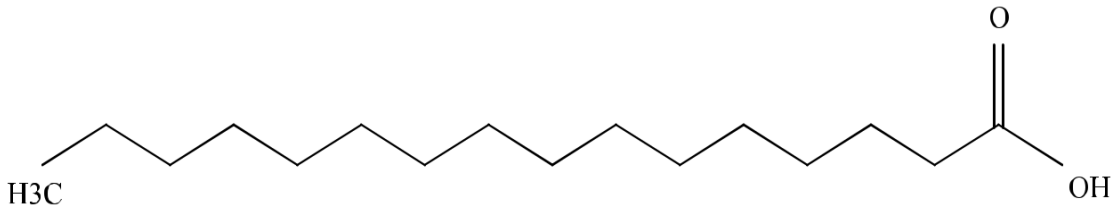
3.6. Analizi gerçekleştirilen bileşenler



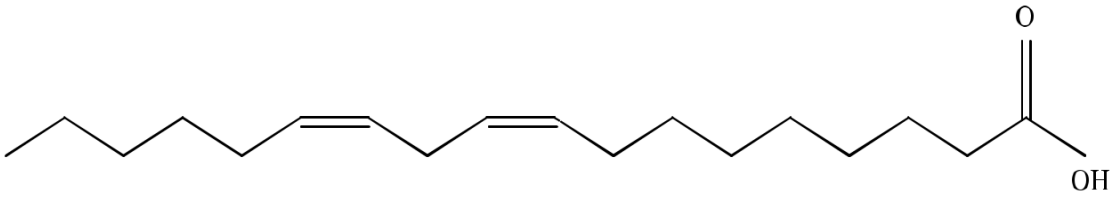
Miristik Asit ($C_4H_{28}O_2$)



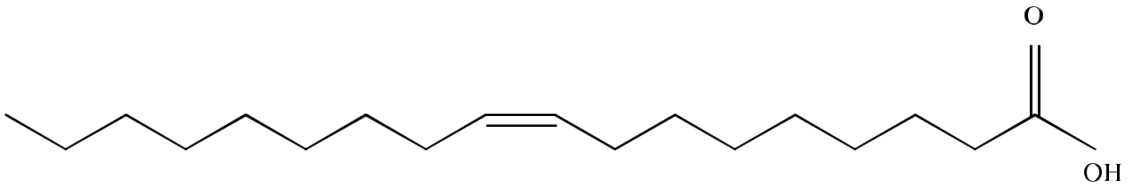
Palmitoleik Asit ($C_{16}H_{30}O_2$)



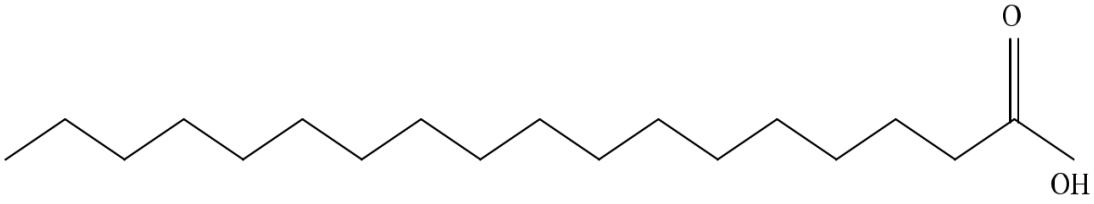
Palmitik Asit ($C_{16}H_{32}O_2$)



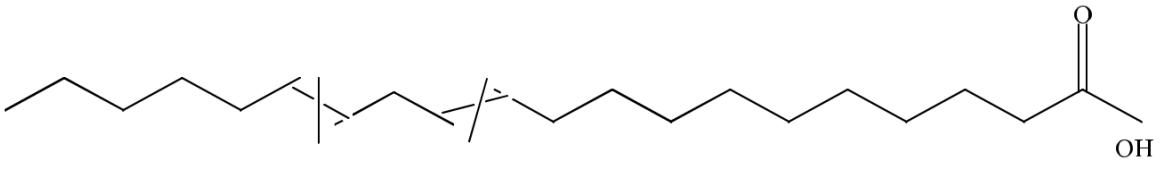
Linoleik Asit ($C_{18}H_{32}O_2$)



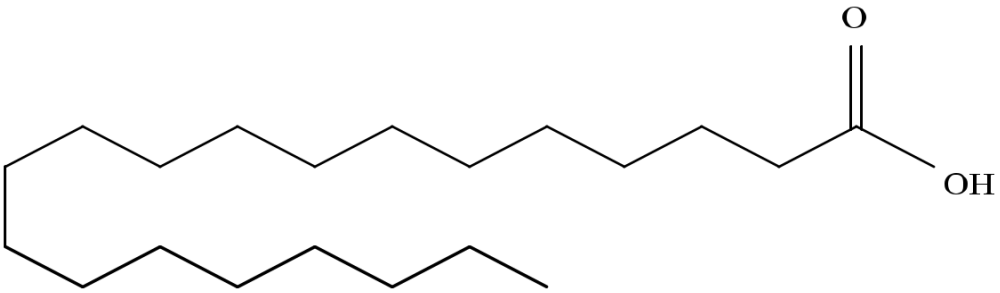
Oleik Asit ($C_{18}H_{34}O_2$)



Stearik Asit ($C_{18}H_{36}O_2$)



11,14 Eikosadienoik Asit ($C_{20}H_{36}O_2$)



Araşidik Asit ($C_{20}H_{40}O_2$)



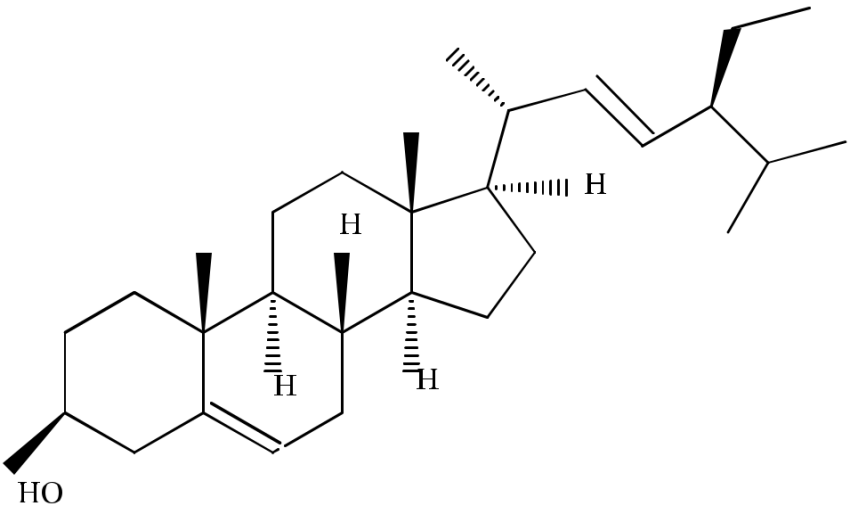
13, 16- Dokasadienoik Asit ($C_{22}H_{40}O_2$)



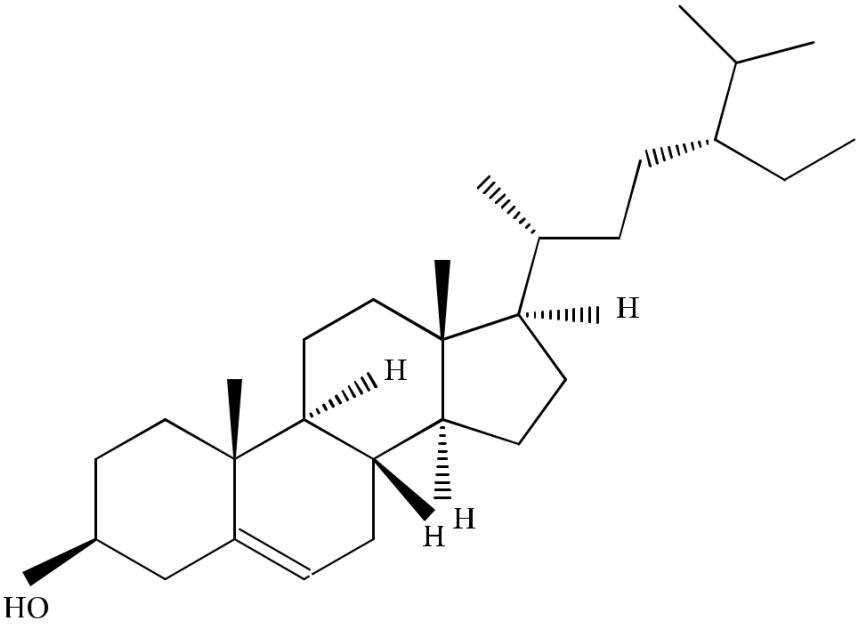
2- (Oktadesiloksi) etanol ($C_{20}H_{42}O_2$)



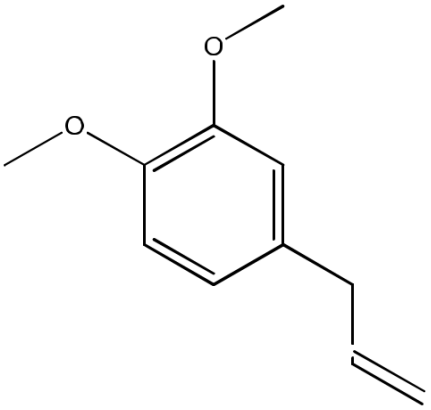
Behenik Asit ($C_{22}H_{44}O_2$)



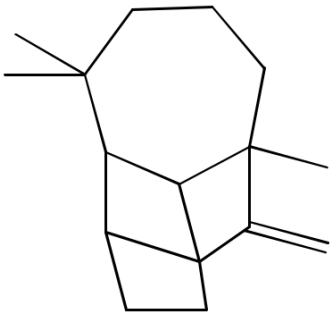
Stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$)



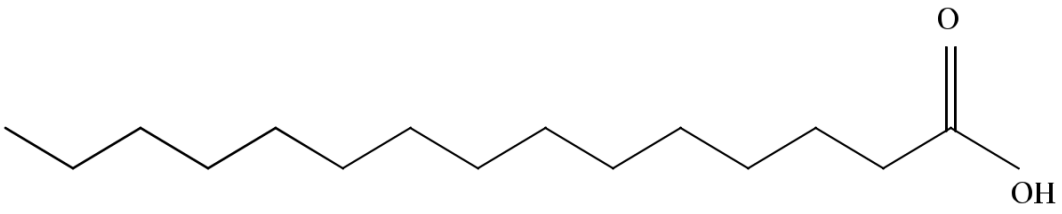
γ-sitosterol ($C_{29}H_{50}O$)



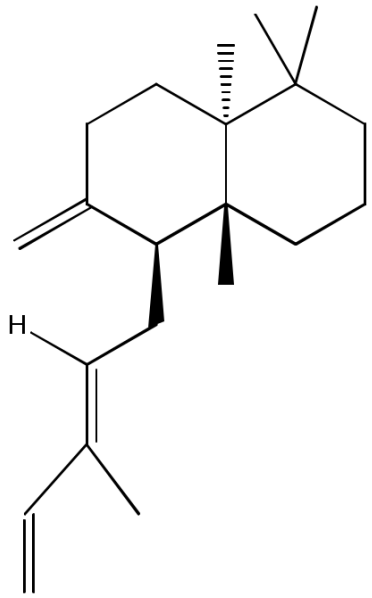
Metil öjenol ($C_{11}H_{14}O_2$)



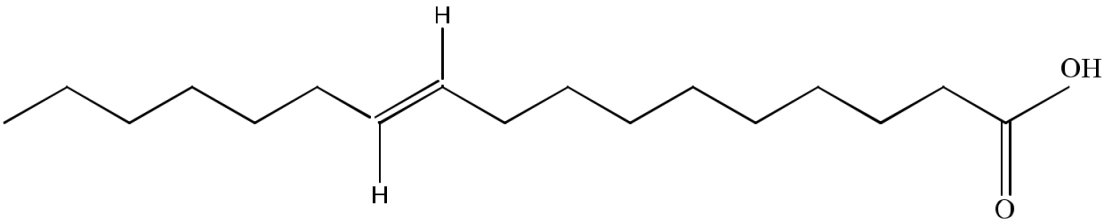
Longifolene ($C_{15}H_{24}$)



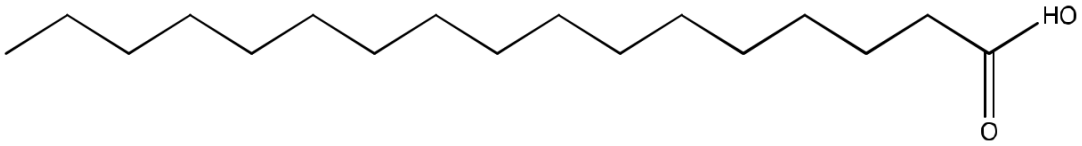
Pentadekanoik Asit ($C_{15}H_{30}O_2$)



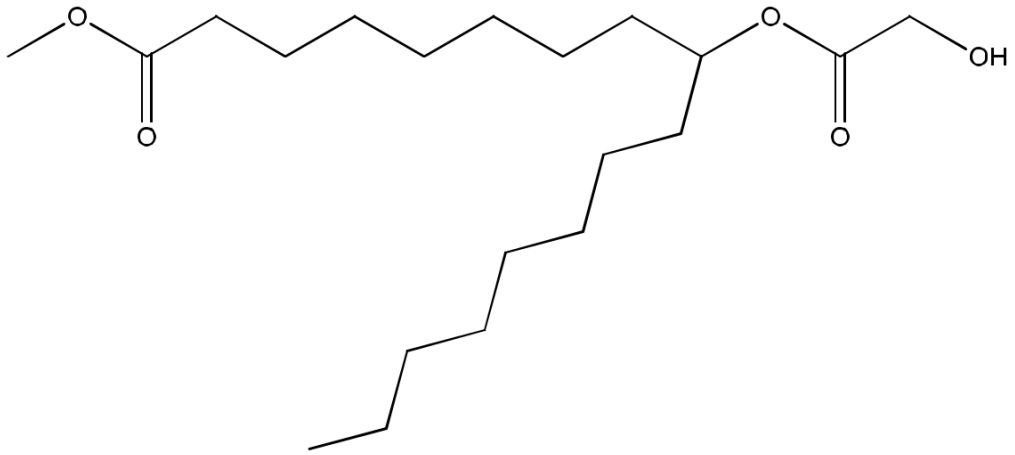
Biformen ($C_{20}H_{32}$)



10- Heptadekenoik Asit ($C_{17}H_{32}O_2$)



Margarik Asit ($C_{17}H_{34}O_2$)



Metil 9- heptadekanoat ($C_{19}H_{36}O_5$)

3.7. NMR Spektroskopisi

Çankırı Karatekin Üniversitesi merkezi araştırma laboratuvarında bulunan 600 MHz NMR spektroskopisi cihazı kullanılarak (Şekil 4.4) çörek otu ekstrelerine ait ^{1}H, ^{13}C, HSQS, DEPT, HMBC, COSY NMR spektroskopilerine bakıldı.



Şekil 3.10. 600 MHz NMR Cihazı

3.8. Biyolojik Aktivite Testleri

3.8.1. Antioksidan Aktivite Testleri

Antioksidanların ölçümleri için günümüze kadar birçok yöntem geliştirilmiştir (Albayrak ve ark., 2010).

Çizelge 4.1. Çörek otlarının antioksidan aktivite test sonuçları

Örnekler	***In vitro* antioksidan aktivite**			
	10 μg ml^{-1}	25 μg ml^{-1}	50 μg ml^{-1}	100 μg ml^{-1}
	Toplam antioksidan aktivite, μmol α-tokoferol eşdeğer/g			
B.Ç.O.	8,61±0,03	9,34±0,02	10,38±1,30	17,70±4,49
S.Ç.O.	2,26±0,42	4,89±0,28	18,83±1,53	24,23±0,34
BHT	14,4±3,95	22,7±1,10	48,3±4,4	76,50±1,70
TBHQ	20,5±6,08	35,2±0,50	102,2±15,8	147,20±8,5
	İndirgeme gücü, 700 nm			
B.Ç.O.	0,0052±0,0030	0,0155±0,0046	0,0323±0,0059	0,0403±0,0052
S.Ç.O.	0,0067±0,0030	0,0183±0,0041	0,0395±0,0051	0,0850±0,0095
BHT	0,0887±0,0002	0,1919±0,0002	0,2319±0,1721	0,5304±0,0007
TBHQ	0,0702±0,0002	0,1427±0,0003	0,2665±0,0002	0,4897±0,0004
	Serbest radikal uzaklaştırma aktivitesi ($DPPH^{\cdot}$), %			
B.Ç.O.	19,81±1,44	28,02±2,75	42,94±2,63	54,84±1,32
S.Ç.O.	31,10±8,04	45,26±1,28	55,94±0,91	63,98±0,23
BHT	17,81±3,62	22,61±0,51	42,08±2,06	58,62±3,73
TBHQ	13,00±1,57	24,82±0,87	53,53±8,87	82,11±2,97
	$ABTS^{\cdot+}$ giderme aktivite, %			
B.Ç.O.	3,45±1,69	4,01±2,29	7,03±1,58	10,23±1,23
S.Ç.O.	2,93±0,61	3,77±2,02	6,87±0,30	15,71±0,70
BHT	2,94±0,66	3,52±0,95	8,67±0,18	18,97±6,41
TBHQ	4,12±0,93	8,67±0,38	31,68±3,10	50,53±8,47
	Süperoksit anyon uzaklaştırma aktivitesi, %			
B.Ç.O.	5,75±0,20	12,54±0,16	16,72±0,14	20,16±0,43
S.Ç.O.	9,56±3,63	15,65±0,07	20,08±0,35	22,60±0,64
BHT	6,56±0,13	13,437±0,27	33,14±0,31	41,36±0,22
TBHQ	8,22±0,17	13,18±0,33	20,47±0,18	24,33±0,13

B.Ç.O: Burdur Çörek Otu
S.Ç.O: Suriye Çörek Otu

3.8.1.1. Toplam Antioksidan Aktivite

Örnekleri toplam antioksidan kapasitesi Mo(VI)'in Mo(V)'e indirgenmesi ve 695 nm de yeşil fosfat/Mo(V) bileşiğinin oluşumu esasına bağlı amonyummolibdenum yöntemiyle spektroskopik olarak tayin edildi (Prieto et al. 1999). 0,3 mL örnek (ekstrakt veya standart maddeler), 2,7 mL reaktif çözeltisi ile (0,6 M sülfirik asit + 28 mM sodyum fosfat + 4 mM amonyum molibdat) karıştırıldı ve 90 dakika, 95 ^{o}C de su banyosunda kapaklı tüp içerisinde inkübe edildi. Karışım oda sıcaklığına soğutuldu. Daha sonra karışımın berrak olması için 2500 x g de 20-25 dk. plastik tüpte santrifüjlendi. Daha sonra her bir karışımın absorbansı 695 nm de köre karşı absorbans değeri kaydedildi. Ölçülen yüksek absorbans değeri yüksek toplam antioksidant aktiviteyi göstermektedir. Aktivite µmol α-tokoferol eşdeğeri/g olarak hesaplandı.

3.8.1.2. İndirgeme Gücü Tayini

1 mL farklı konsantrasyonda hazırlanmış örnekler, 2,5 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH 6,6) ve 2,5 mL % 1 lik $K_3Fe(CN)_6$ ile karıştırıldı. Karışım 50 ^{o}C deki su banyosunda 20 dakika inkübe edildi. 2,5 mL % 10 luk trikloroasetik asit (TCA) eklendi ve karışım 2500 x g de 10 dakika santrifüjlendi. Elde edilen üst fazın 2,5 mL si ile 2,5 mL dd H_2O ve % 0,1 lik 0,5 mL $FeCl_3$ karıştırıldı. Ekstraktların ve standart antioksidant maddelerin indirgeme gücü 700 nm de absorbans ölçülerek tayin edildi. Reaksiyon karışımında ekstrakt ve standartların farklı konsantrasyonlarındaki absorbsiyonlarındaki artış, indirgeme gücü kapasitesinin konsantrasyona bağılı artışını göstermektedir (Oyaizu 1986).

3.8.1.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH Testi)

Örneklerin serbest radikal giderme aktivitesi Blois Metoduna göre tayin edildi (Blois 1958). 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil ($DPPH^{\cdot}$, 0.1 mM) çözeltisinin 1 mL si ile 3 mL farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ekstrakt ve standart antioksidant maddelerin çözeltileri ile iyice karıştırıldı.

30 dakika 25 ^{o}C de karanlıkta sallantılı su banyosunda inkübe edildi. Her bir karışım için 517 nm deki absorbans değerleri kaydedildi. Örneklerin radikal giderme aktivitesi aşağıda yazılı olan formüle göre hesaplandı.

DPPH$^{\cdot}$ giderme aktivitesi (%)= $[(A_o-A_1)/A_o] \times 100$

A_o: kontrol absorbansı **A_1:** örnek absorbansı

Ml^{-1}'de BHT % 17,81 iken TBHQ % 13,00 çıkmıştır.

3.8.1.4. ABTS^{+} Giderme Aktivitesi

Renk verici (kromojenik) bir radikal olan ABTS kararlı bir radikaldir. Organik çözücülerde ve aynı zamanda suda çözünebildiğinden hidrofilik ve hidrofobik antioksidan aktivite testlerinde genellikle kullanılabilmektedir. Çizelge 4.1.'de bu aktivite testlerinin sonuçları gösterilmiştir. Bu aktivitelerde doğal bir antioksidan olan α-tokoferol ile sentetik antioksidanlar olan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve Tert Bütil Hidrokinon (TBHQ) ile mukayese edildi.

Azalan absorbans değeri ortamdan uzaklaştırılan ABTS radikallerinin miktarını vermektedir (Keser ve ark., 2013). Ekstrelerin ortamdaki ABTS radikallerinin ne kadarını yok ettiği şu formülle hesaplandı:

% ABTS Yok Etme Aktivitesi = [(A0-A1)/A0] x 100 A0 kontrolün absorbansı, A1 örneklerin absorbansı olarak alınmıştır.

3.8.1.5. Süperoksit Anyon Uzaklaştırma Aktivitesi Tayini

Örneklerin süperoksit anyonu giderme aktivitesi Nishimiki Metoduna göre tayin edilecektir. Süperoksit radikali NBT (nitrotolue tetrazolium) indirgenmesiyle ve NADH (nikotinamid adenin dinükleotid) nin oksidasyonu ile PMS (ferrozin meta sülfat)-NADH sisteminde üretilir.

$$NADH + H^+ + 2O_2 \xrightarrow{PMS} NAD^+ + 2\,O_2^{-\cdot} + 2H^+$$
$$NBT + 2\,O_2^{-\cdot} + 2H^+ \longrightarrow NBT\text{-}H_2 + 2\,O_2$$
$$NADH + H^+ + NBT \xrightarrow{PMS} NBT\text{-}H_2 + NAD^+ \text{ (net reaksiyon denklemi)}$$

Deneyde, reaksiyon karışımı NBT (nitrotolue tetrazolium) (156 µM, 1.0 mL), NADH (nikotinamid adenin dinükleotid) (468 µM, 1.0 mL) ve 1 mL farklı konsantrasyondaki ekstrakt (veya sentetik antioksidant maddeler) çözeltileri iyice karıştırılır. Reaksiyon karışımına PMS (ferrozin meta sülfat) (100 µM, 0.4 mL) ilave edilmesiyle reaksiyon başlatılır. Reaksiyon karışımı iyice karıştırılır ve 5 dakika ortam sıcaklığında bekletilir. Karışımın absorbansı 560 nm okunur. Kör için potasyum fosfat tamponu kullanılır. Örneklerin serbest radikal giderme aktivitesi aşağıda yazılı olan formüle göre hesaplanır.

Süperoksit giderme aktivitesi (%)= 100 - $[(A_o\text{-}A_1)/A_o] \times 100$

A_o: kontrolün absorbansı

A_1: örnek absorbansı (ekstrakt ve standart madde)

3.8.2. Antiproliferatif Aktivite Testi

3.8.2.1. HeLa ve C6 Hücrelerinin Hücre Kültürü

Flasklarda bulunan HeLa ve C6 hücreleri trypsin-EDTA ile 1-2 dakika inkübe edildi. Daha sonra içerisine DMEM- eklenerek, hücre süspansiyonu falkon tüpüne aktarıldı. 600 RPM, 5 dk. santrifüj edilen hücreler çöktürüldü. Oluşan süpernatant uzaklaştırılarak hücreler DMEM ile çözüldü ve sayılmaya hazır hale getirildi.

3.8.2.2. Hücrelerin Sayılması işlemi

Besi yeri ile süspansiyon edilen karışımdan 20 µl alınarak üzerine 40 µl trypan blue boyası eklendi. Oluşan karışımdan 20 µl Thoma Lamına damlatıldı. 5 Kuyucukta bulanan hücreler mikroskop altında sayıldı. İlgili formül kullanılarak hücre sayısı hesaplandı.

Hücre sayısı= 5 kuyucuktan sayılan hücre sayısı x 50.000 x seyreltme faktörü

3.8.2.3. Testler için ekstrelerin elde edilmesi ve stok çözeltilerin hazırlanması

Örneklerin DMSO daki çözeltileri (20 mg/ml) hazırlandı ve DMEM ile seyreltildi. Oluşan yeni çözeltiler 0,22 mikronluk steril filtreler kullanılarak steril tüplere süzüldü ve -20 ºC'de saklandı.

3.8.2.4. *İn Vitro* Antiproliferasyon deneyi (kolorimetrik):

96 well'lik mikro platelerin her bir kuyucuğuna 30.000 hücre ekildi. Kontrol haricindeki tüm kuyucuklara bitki ekstrelerinin steril stok çözeltilerinden sekiz farklı konsantrasyonda (100, 75 50, 40, 30, 20, 10 ve 5 µg/ml) eklenmesinden sonra kuyucuklardaki toplam hacim 200 µl ye tamamlandı ve 24 saat % 5 CO_2 inkübatörde inkübe edildi. Bu süre sonunda hücre proliferasyon deneyi üretici firmanın protokolüne göre BrdU cell ELİSA yöntemiyle tespit edildi. Tüm testler üç tekrarlı ve iki kez yapılmıştır.

Çizelge 5.1. Çörek otu örneklerinin IC_{50} ve IC_{75} değerleri

		HeLa hücresi		**C6 hücresi**	
		IC_{50}	**IC_{75}**	**IC_{50}**	**IC_{75}**
Burdur	**Ezilmiş**	89.361	>100	72.093	96.882
	Ezilmeyen	63.535	85.438	76.236	>100
	Hekzan ekstresi	55.769	79.591	42.736	68.439
Suriye	**Ezilmiş**	71.504	96.046	-	-
	Ezilmeyen	51.703	71.758	-	-
	Hekzan ekstresi	57.003	82.590	84.167	>100
	5-FU	<5	14.929	<5	35.960

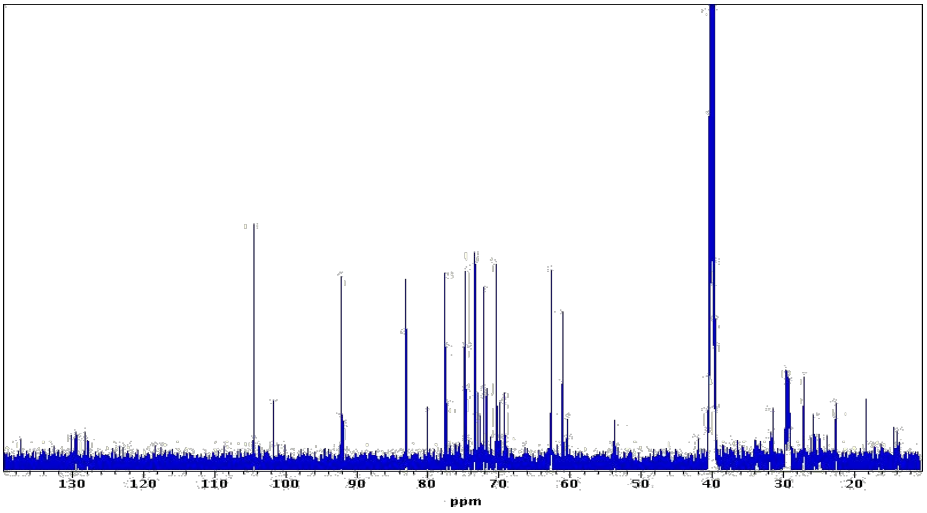
4. BULGULAR

4.1. NMR Verileri

Çankırı Karatekin Üniversitesi merkezi araştırma laboratuvarında bulunan 600 MHz NMR spektroskopisi cihazı kullanılarak (Şekil 4.4) çörek otu ekstrelerine ait ^{1}H, ^{13}C, HSQS, DEPT, HMBC, COSY NMR'larına bakıldı.

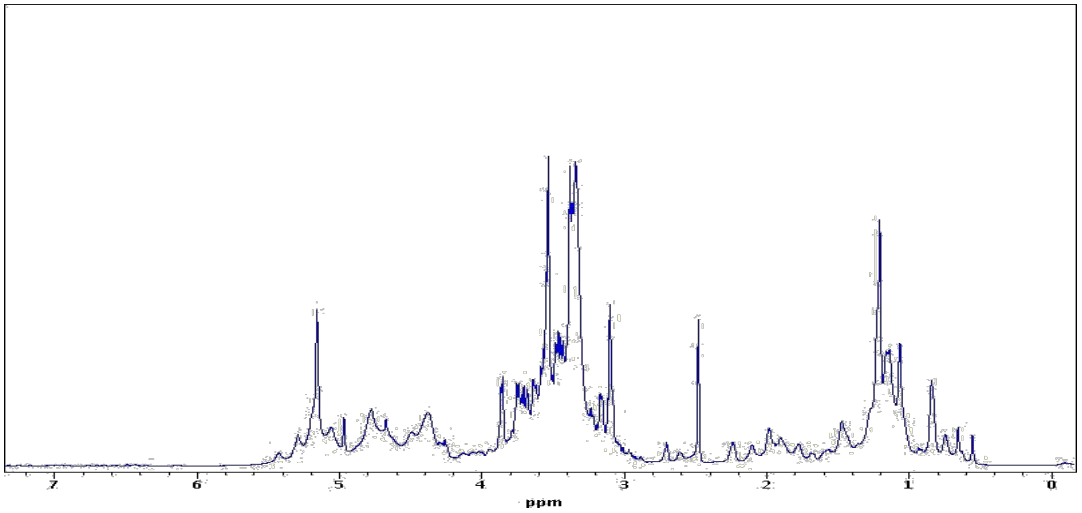
Elde edilen verilerin ^{1}H NMR sonuçları tek boyutlu olarak (1D), 0 ppm (TMS tetrametilsilan) den başladığı ve +14 ppm türevinde değerlere kadar çıkan spektrumlar üzerlerinde görülen pikler olarak hidrojen (proton) değerleri gözlendi. NMR cihazının programı sayesinde bu hidrojen (proton) değerlerinin altında kalan alanlar yani integrasyon değerleri, birbirleriyle etkileşimli olan protonların jiromanyetik sabit değerleri sebebiyle bu protonların birbirlerine orto, meta ve para konumlarında olup olmadıkları ve bu protonların yarılmaları yani singlet, dublet, triplet veya multiplet saptandı.

^{13}C NMR verileri ise 0-220 ppm aralığında spektrumda beliren pikler olarak gözlemlendi. DEPT ^{13}C NMR ise ^{13}C NMR gibi 0-220 ppm aralığında metil, metilen, metin ve kuaterner karbonlar olarak ayrı ayrı gözlendi. HSQC 2D NMR ile C atomuna bağlı olan protonlar tespit edildi. HMBC 2D NMR ile bir C atomuna bağlı H atomlarının yapıdaki diğer C atomları ile etkileşimleri tespit edilmiştir. COSY 2D NMR ile birbirleriyle etkileşimli olan protonlar, 2D spektrum üzerinde gözlendi.



Şekil 4.1. ^{13}C NMR spektrumu

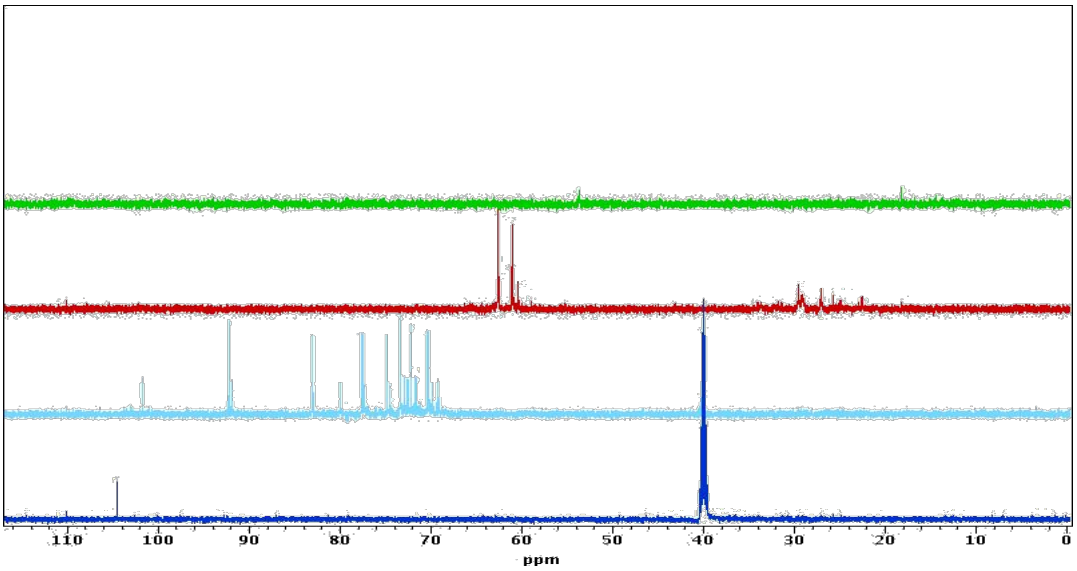
Metanol:kloroform çözücü karışımında bekletilen çörek otu tohumlarından elde edilen ekstre önce süzüldü ve sonra çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra, kalan sıvı ve katı kısımlar ayrıştırıldı. Katı kısmın ^{13}C-NMR spektrumu incelendiğinde, karbonhidrat karışımının elde edildiği görüldü (Şekil 4.1). 100 ppm civarında anomerik karbon sinyalleri rezonans olurken, 60 ppm civarlarında CH_2 karbonlarına ait sinyaller gözlendi. Hidroksil gruplarının bağlı olduğu CH karbonları 65-75 ppm aralığında rezonans oldukları görülmektedir. Ayrıca tam olarak ayrıştırılamayan trigliserit bileşenlerine ait CH_2 karbon pikleri 20-30 ppm arasında rezonans olurken, olefinik karbonların 130 ppm civarlarında sinyal verdikleri görülmektedir.



Şekil 4.2. ^{1}H NMR spektrumu

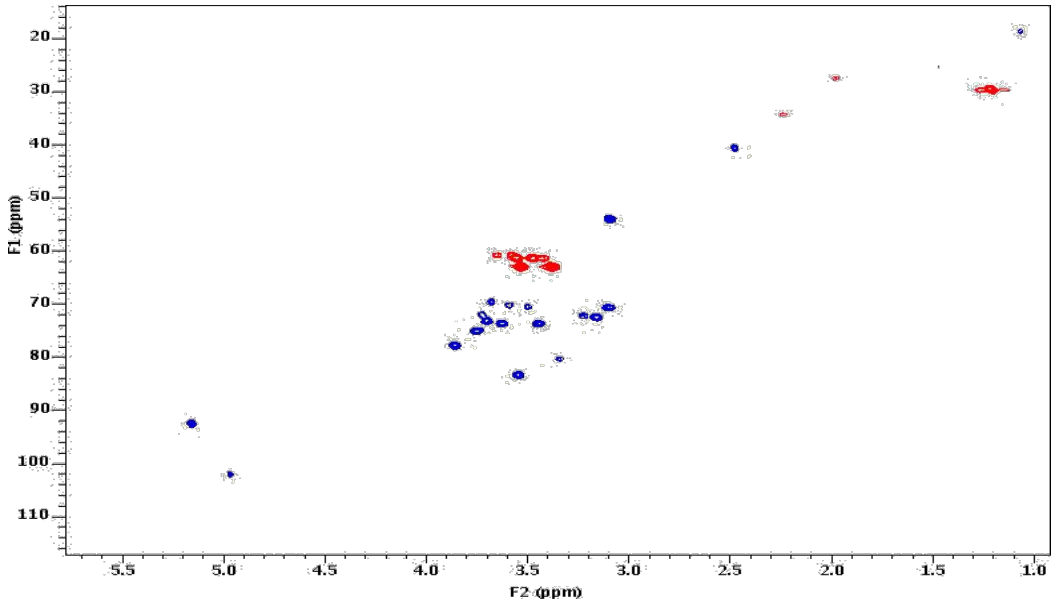
Elde edilen karbonhidrat karışımına ait proton NMR spektrumu şekil 4.2'de görülmektedir. Spektrum incelendiğinde 3-4 ppm aralığında CH protonlarının rezonans oldukları ve 4-5 ppm civarında ise anomerik protonların sinyalleri gözlenmektedir. Spektrumda 1 ppm civarında sıvı kısımdan kaynaklı yağ asitlerine ait CH_2 gruplarına ait proton sinyalleri gözlenirken, 5 ppm civarında ise olefinik protonların rezonans oldukları görülmektedir.

Şekil 4.3'de çörek otu tohumu ekstresinde elde edilen katı kısma ait DEPT NMR spektrumu görülmektedir. Spektrum incelendiğinde, iki adet şeker gruplarından kaynaklı CH_2 sinyalleri gözlenirken (kırmızı) ayrıca yine şeker gruplarına ait düşük miktarlarda farklı Şeker gruplarına ait CH_2 sinyalleride görülmektedir. CH pik grupları içerisinde ana bileşene ait CH protonları rezonans olurken, yaklaşık 10 adet CH sinyallerine ait ikinci bir şeker grubu olduğu görülmektedir (turkuaz). 105 ppm civarında rezonans olan protonun anomerik proton olduğu görülmektedir.

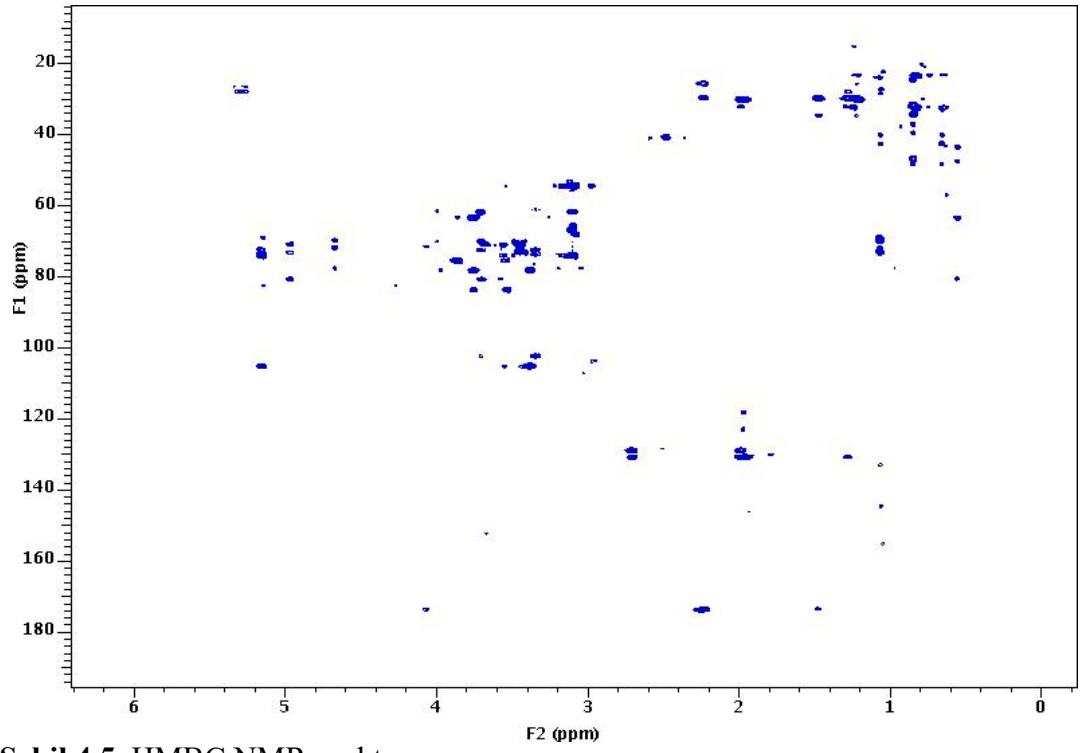


Şekil 4.3. DEPT ^{13}C NMR spektrumu

Elde edilen NMR spektrumlarından, izole edilen karbonhidratların sukroz ve maltoz oldukları belirlendi. Şekil 4.4'de karbonhidratların HSQC NMR spektrumu yer almaktadır. Karbon hidrojen korelasyonunu gösteren spektrum incelendiğinde, CH_2 ye ait korelasyonda kırmızı renkli spotlar gözlenirken, CH ve CH_3 gruplarına ait spotlar mavi renkli olarak gözlenmektedir. Ayrıca CH_2 grupları incelendiğinde, karbona bağlı iki hidrojenin diastereotopik protonlar olduğundan aynı yerde gelmedikleri görülmektedir. Kuaterner karbonlara bağlı proton bulunmadığından, HSQC spektrumunda rezonans olmadıklarından, sukroz bileşiğine ait quaterner karbon sinyali gözlenmeyip sadece protonların 5 ppm civarında ve karbonların 90-110 ppm'de korele olduğu anomerik gruplara ait sinyaller gözlenmektedir.

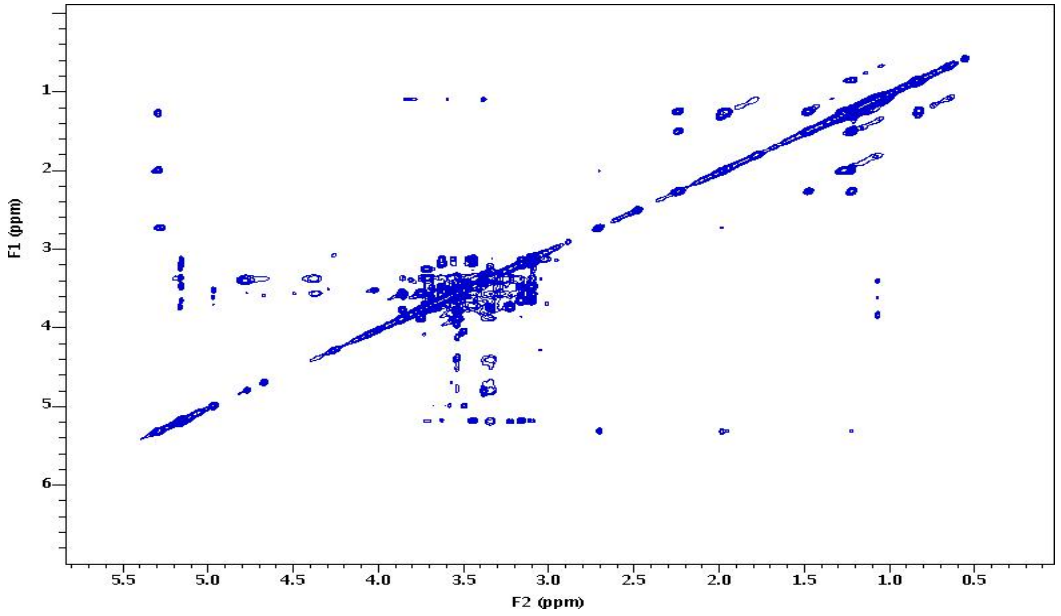


Şekil 4.4. HSQC NMR spektrumu



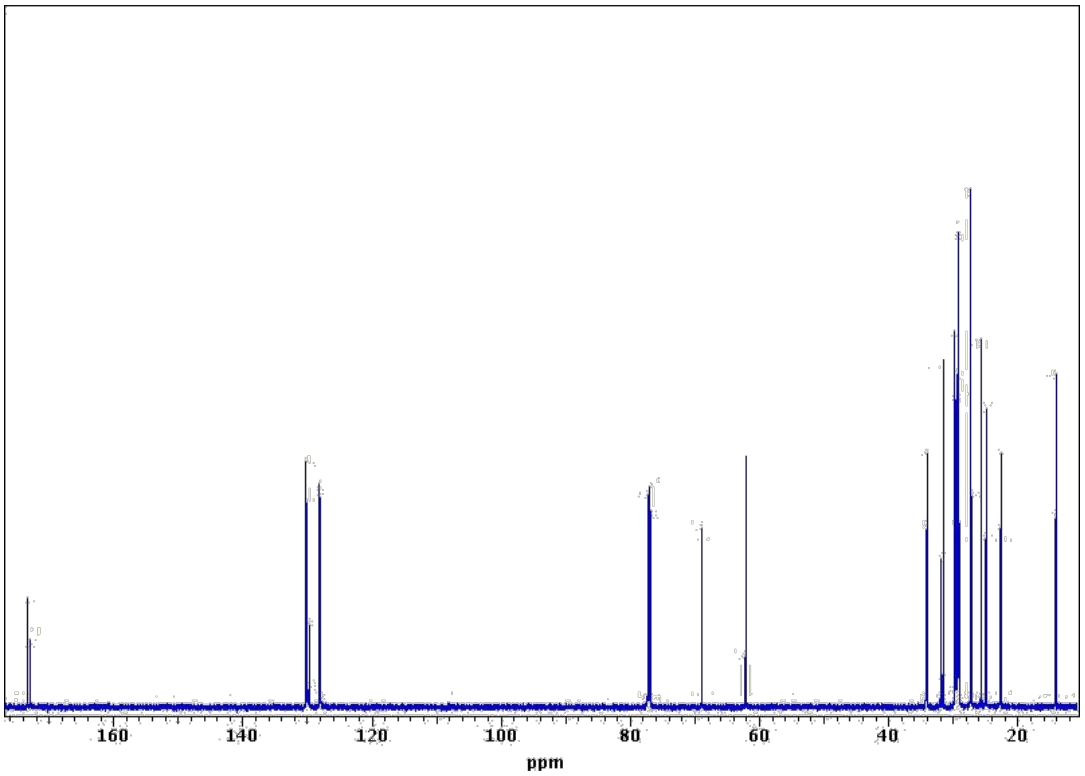
Şekil 4.5. HMBC NMR spektrumu

HMBC spektrumu, karbonların üç bağ üzerinden protonlar ile korelasyonunu göstermektedir. Şekil 4.5 incelendiğinde karbonların komşu protonlar ile 3 bağ üzerinden korelasyonları görülmektedir. Bu korelasyon komşu protonların olduğu zincirlerde gözlendiğinden, tersiyer karbonlardan sonraki protonlar ile korelasyon gözlenmez. Özellikle sukroz ve maltoz şeker gruplarında iki halkanın bağlı olduğu kısımların belirlenmesinde oldukça etkili bir yöntemdir. Mesela maltoz bileşiğinde iki halkanın 1 ile 4 nolu karbondan bağlandığı bu yöntemle belirlenebilmektedir.



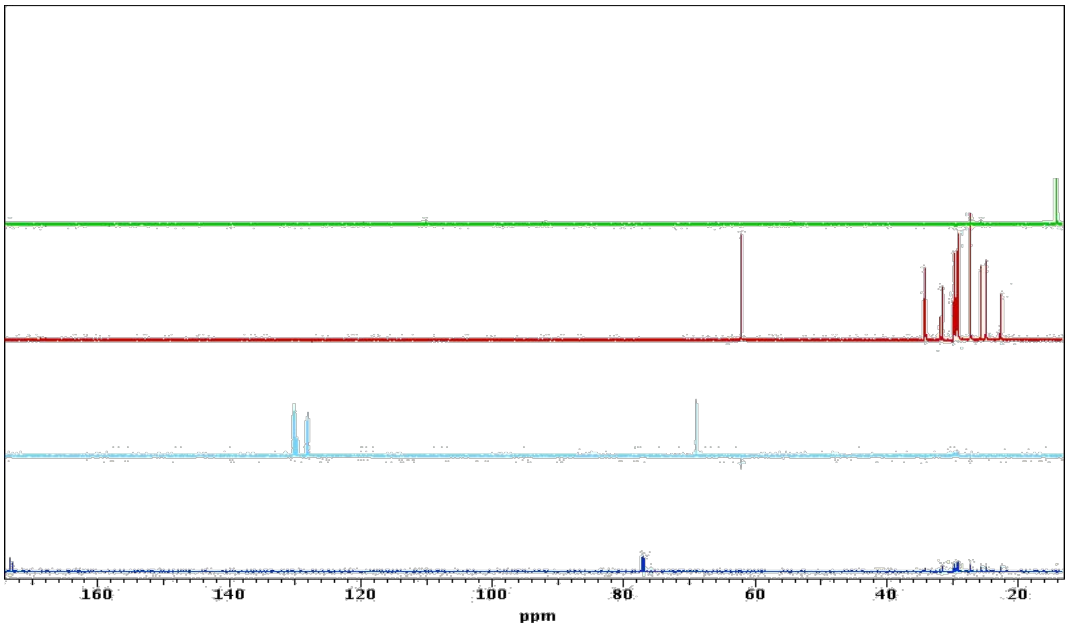
Şekil 4.6. COSY ^{1}H NMR spektrumu

COSY spektrumu ise proton-proton korelasyonunu gösteren, komşu protonlar arasında olan etkileşimlerden ibarettir. Şekil 4.6'da şeker moleküllerine ait COSY spektrumu görülmektedir. Anomerik protonların komşu protonlar ile etkileşimi ve her bir komşu protonlarında yanındaki protonlar ile etkileşimi görülmektedir. COSY spektrumunda kuaterner karbonlar ile proton içermeyen oksijen ve azot gibi heteroatomların iki tarafındaki protonlar etkileşme göstermezler.

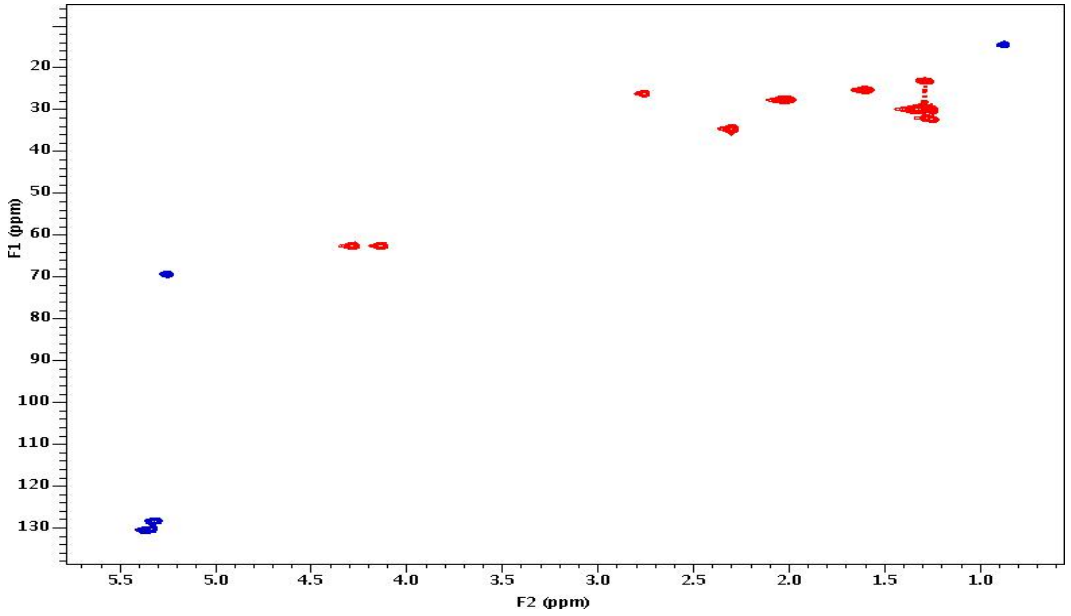


Şekil 4.7. ^{13}C NMR spektrumu (sıvı kısım)

Şekil 4.7'de ^{13}C-NMR spektrumu incelendiğinde, çörek otu tohumunun ekstresinden elde edilen sıvı kısmın, linoleik ve oleik yağ asitlerinin çoğunlukta olduğu yağ asidi karışımı görülmektedir. 172-174 ppm aralığında karbonil karbonuna ait sinyaller gözlenirken, 128-132 ppm civarında olefinik karbonların rezonans oldukları görülmektedir. Ayrıca HSQC spektrumunda 62 ppm civarında rezonans olan CH_2 karbonu ve 68 civarında rezonans olan CH karbon sinyalleri, bileşiğin yapısının trigliserid olduğunu ve gliserin karbonlarına ait rezonans sinyallerini göstermektedir (Şekil 4.8). Diğer metil, metilen ve metin karbonları ile kuaterner karbon sinyalleri yağ asitleri ile uyumlu olarak rezonans oldukları gözlendi. Gliserine ait CH_2 karbonları simetriden dolayı bir yerde rezonans oldukları görülmektedir.



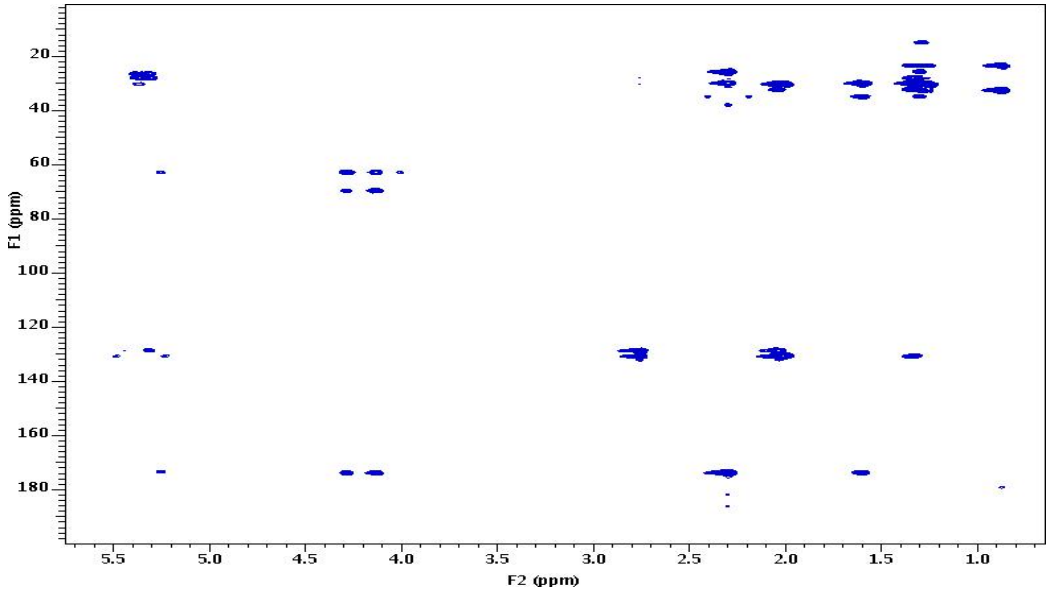
Şekil 4.8. DEPT ^{13}C NMR spektrumu (sıvı kısım)



Şekil 4.9. HSQC NMR spektrumu (sıvı kısım)

Yağ asitlerine ait HSQC spektrumu incelendiğinde ise, 1 ppm civarında CH_3 ve 5-5.5 ppm civarında anomerik protonların korelasyonu ve diğer kırmızı spotların ise CH_2

protonlarına ait korelasyonları görülmektedir. Spektrumda karbon-proton korelasyonları, linoleik ve oleik asitlerin kimyasal yapıları ile uyumlu oldukları görülmektedir (Şekil 4.9).



Şekil 4.10. HMBC NMR spektrumu (sıvı kısım)

Şekil 4.10 spektrumu incelendiğinde, trigliserid bileşiklerine ait HMBC etkileşimleri görülmektedir. Bu etkileşimlerde kuaterner karbonların komşu protonlar ile üç bağ üzerinden etkileştikleri ve yapı ile uyumlu oldukları görülmektedir. Olefinik karbonların komşu protonlar ile ve kuaterner karbonların gliserin protonları ile korelasyonu görülmektedir. HMBC spektrumu, yağ asitlerinin kimyasal yapılarının doğruluğunu ve serbest yağ asidi olmadıklarını göstermekle birlikte, simetrik bir yapıya sahip trigliserid yapısında olduklarını göstermektedir.

4.2. Antioksidan Aktivite Testleri

İnsan vücudu dışarıdan gelen tehditlere karşı kendini korumaya alır. Bu görevi bünyede kan içerisinde bulunan antikorlar sayesinde yapar. İnsan vücudundaki savaşçı maddeler olan antikorlar tüm yaşam süresince hep alarm durumundadırlar. Fakat insan her daim sağlıklı olamayacağı sebebiyle bazı zamanlar bünyenin zayıf düşmesiyle, antikorlar da belli bir süre yeterince savunma yapamama durumuyla karşı karşıya kalabilirler ve vücut için zararlı olabilecek maddeler karşısında yenik düşebilirler. Bu tarz durumları en aza indirgemek için insan dışarıdan destek verici doğal antioksidan görevi gören gıdaları tüketerek zararlı maddelere ve kimyasallara karşı kendini korur ve bu maddeleri ortadan kaldırırlar. Bu çalışmadaki antioksidan aktivite testlerinin toplam antioksidan aktivitesinde 0,3 mL örnek (ekstrakt veya standart maddeler), 2,7 mL reaktif çözeltisi ile (0,6 M sülfirik asit + 28 mM sodyum fosfat + 4 mM amonyum molibdat) karıştırıldı ve 90 dakika, 95 ^{o}C de su banyosunda kapaklı tüp içerisinde inkübe edildi. Daha sonra karışımın berrak olması için 2500 x g de 20-25 dk. plastik tüpte santrifüjlendi. Daha sonra her bir karışımın absorbansı 695 nm de köre karşı absorbans değeri kaydedildi. Sonuç olarak Suriye çörek otunda Burdur çörek otundan daha yüksek sonuç edildi. İndirgeme gücü tayin edildiğinde1 mL farklı konsantrasyonda hazırlanmış örnekler, 2,5 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH 6,6) ve 2,5 mL % 1 lik $K_3Fe(CN)_6$ ile karıştırıldı. Karışım 50 ^{o}C deki su banyosunda 20 dakika inkübe edildi. 2,5 mL % 10 luk trikloroasetik asit (TCA) eklendi ve karışım 2500 x g de 10 dakika santrifüjlendi. Elde edilen üst fazın 2,5 mL si ile 2,5 mL dd H_2O ve % 0,1 lik 0,5 mL $FeCl_3$ karıştırıldı. Ekstraktların ve standart antioksidant maddelerin indirgeme gücü 700 nm de absorbans ölçülerek tayin edildi ve sonuç olarak Suriye çörek otunun Burdur çörek otundan daha yüksek değer elde edildiği görüldü. DPPH testinde ise; 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil ($DPPH^{\cdot}$, 0.1 mM) çözeltisinin 1 mL si ile 3 mL farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ekstrakt ve standart antioksidant maddelerin çözeltileri ile iyice karıştırıldı. 30 dakika 25 ^{o}C de karanlıkta sallantılı su banyosunda inkübe edildi. Her bir karışım için 517 nm deki absorbans değerleri kaydedildi. Örneklerin radikal giderme aktivitesi aşağıda yazılı olan formüle göre hesaplandı. $DPPH^{\cdot}$ giderme aktivitesi (%)= $[(A_o-A_1)/A_o]$ x 100 (A_o**:** kontrol absorbansı A_1**:** örnek absorbansı). Suriye çörek otunda Burdur çörek otuna kıyasla daha yüksek bir $ABTS^{+}$ giderme aktivitesi tespit edildi. Süperoksit anyon uzaklaştırma aktivitelerinde ise her iki çörek otunda birbirine yakın değerler elde edilse de Suriye çörek otundaki aktivitenin daha yüksek olduğu görülmüştür.

4.3. Antiproliferatif Aktivite Testi

Suriye ve Burdur'dan toplanan ezilmiş, ezilmemiş ve hekzan ekstresi elde edilen çörek otu numulerinin C6 ve HeLa hücrelerine karşı sekiz farklı konsantrasyonda (100, 75, 50, 40, 30, 20, 10 ve 5 µg/ml) antiproliferatif aktiviteleri incelendi (Şekil 1-3). Suriye ve Burdur'dan toplanan çörek otu örneklerinin IC50 ve IC75 değerleri Tablo 1'de verildi.

Suriye ve Burdur'dan toplanan ezilmiş çörek otu numunelerinin C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde yüksek dozlarda (100-75 µg/ml) Suriye'den toplanan örneklere kıyasla daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edildi. Bununla birlikte Burdur'dan toplanan ezilmiş çörek otu numunelerinde doza bağlı olarak aktivite de de artış gözlendi. Suriye'den toplanan ezilmiş çörek otu numunelerinde herhangi bir aktivite tespit edilemedi (Şekil 5.1A).

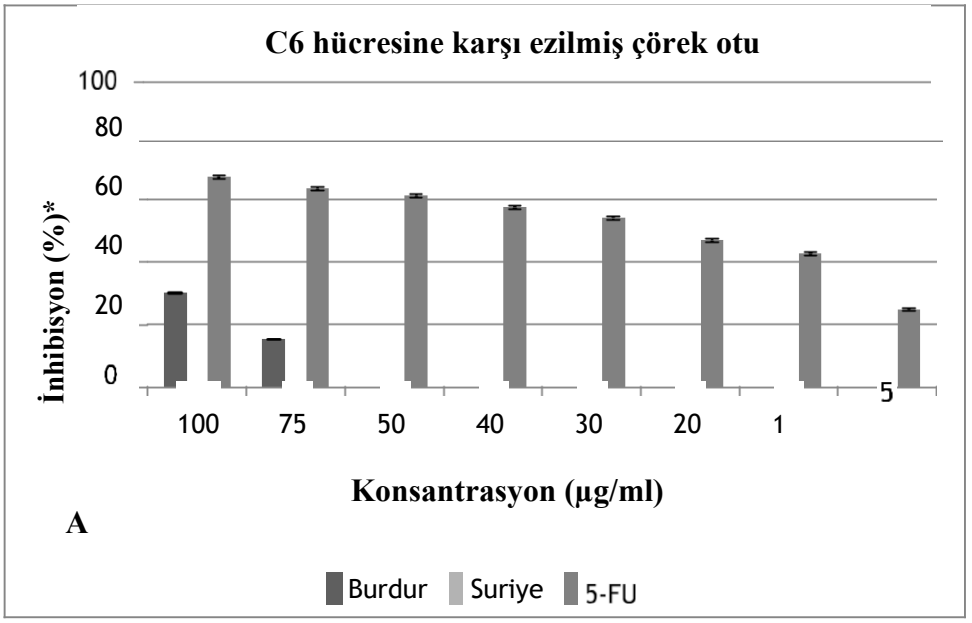
C6 hücresine karşı inhibisyon potansiyeli (100 µg/ml):

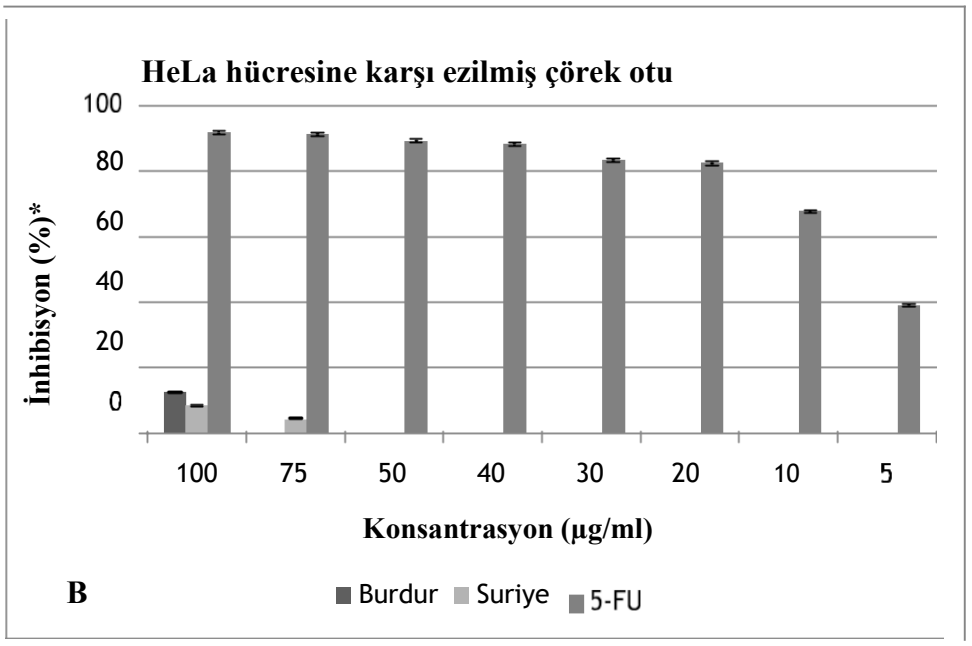
5-FU> Burdur'dan toplanan ezilmiş çörek otu> Suriye'den toplanan ezilmiş çörek otu.

Suriye ve Burdur'dan toplanan ezilmiş çörek otu numunelerinin HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde 100 µg/ml Suriye'den toplanan örneklere kıyasla daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edildi. Bununla birlikte Burdur'dan toplanan ezilmiş çörek otu numunelerinde doza bağlı olarak aktivite de de artış gözlendi. Suriye'den toplanan ezilmiş çörek otu numunelerinde hücre seçici olarak HeLa hücresine karşı yüksek dozlarda (100-75 µg/ml) doz artışına bağlı olarak aktivite de artış gözlendi (Şekil 5.1B).

HeLa hücresine karşı inhibisyon potansiyeli (100 µg/ml):

5-FU> Burdur'dan toplanan ezilmiş çörek otu> Suriye'den toplanan ezilmiş çörek otu





Şekil 5.1. Ezilmiş Çörek otu örneklerinin C6 (A) ve HeLa (B) hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları

Suriye ve Burdur'dan toplanan ezilmeyen çörek otu numunelerinin C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde yüksek dozlarda (100-75 µg/ml) Suriye'den toplanan örneklere kıyasla daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edildi. Bununla birlikte Burdur'dan toplanan ezilmeyen

çörek otu numunelerinde doza bağlı olarak aktivite de artış gözlendi. Suriye'den toplanan ezilmiş çörek otu numunelerinde herhangi bir aktivite tespit edilemedi (Şekil 5.2A).

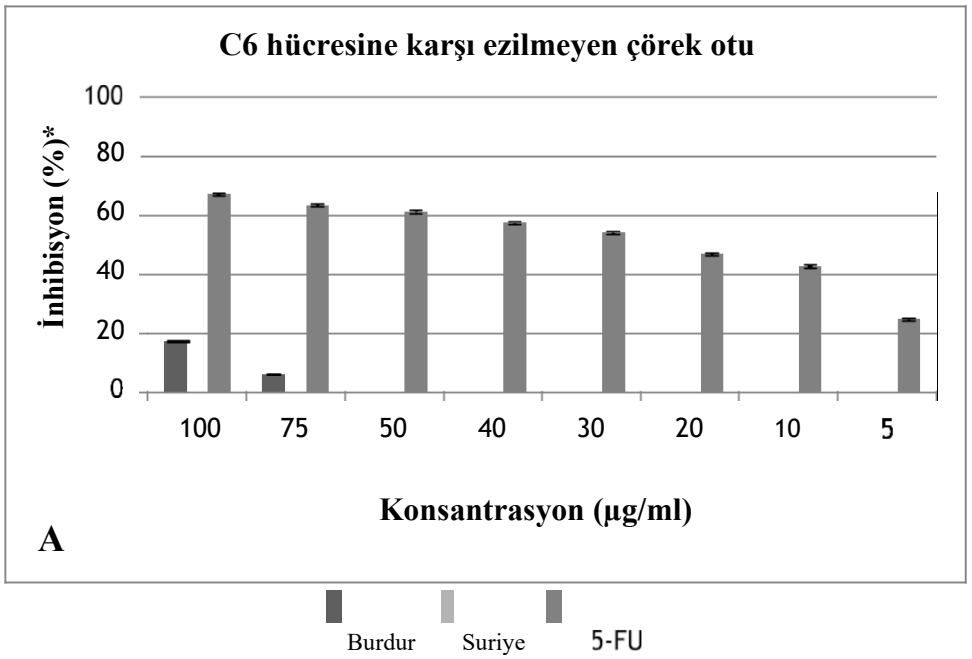
C6 hücresine karşı inhibisyon potansiyeli (100 µg/ml):

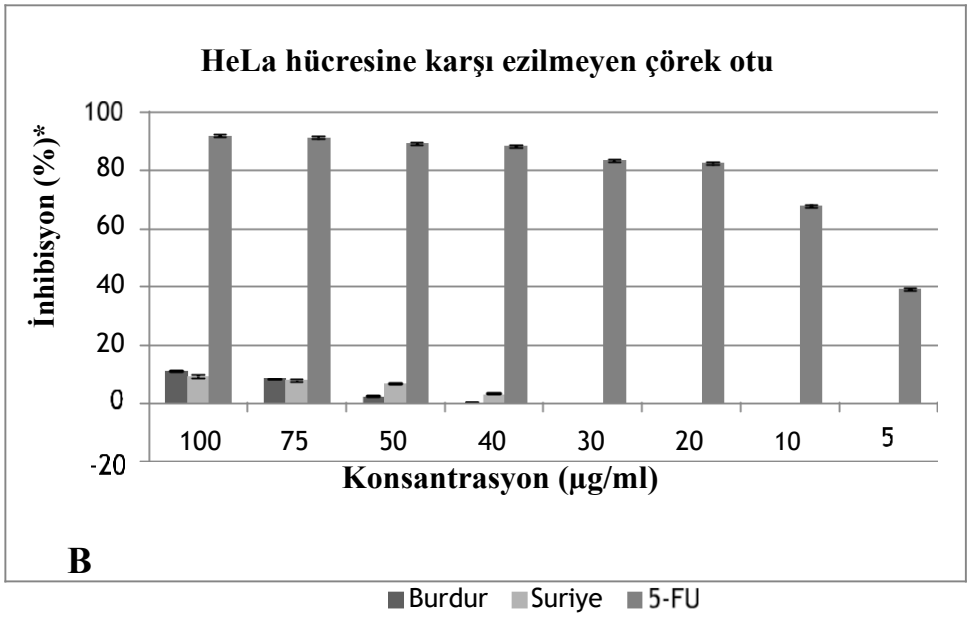
5-FU> Burdur'dan toplanan ezilmeyen çörek otu> Suriye'den toplanan ezilmeyen çörek otu.

Suriye ve Burdur'dan toplanan ezilmeyen çörek otu numunelerinin HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde 100-75 µg/ml konsantrasyonlarda Suriye'den toplanan örneklere kıyasla hemen hemen aynı antiproliferatif aktivite tespit edildi. Bununla birlikte Burdur ve Suriye'den toplanan ezilmeyen çörek otu numunelerinde doza bağlı olarak aktivite de artış gözlendi. Suriye'den toplanan ezilmeyen çörek otu numunelerinde hücre seçici olarak HeLa hücresine karşı yüksek dozlarda (100-40 µg/ml) doz artışına bağlı olarak aktivitede artış gözlendi (Şekil 5.2B).

HeLa hücresine karşı inhibisyon potansiyeli (100 µg/ml):

5-FU> Burdur'dan toplanan ezilmeyen çörek otu tohumu- Suriye'den toplanan ezilmeyen çörek otu tohumu





Şekil 5.2. Ezilmeyen Çörek otu örneklerinin C6 (A) ve HeLa (B) hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları

Suriye ve Burdur'dan toplanan çörek otu hekzan ekstrelerinin C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde yüksek dozlarda (100-75) Suriye'den toplanan örneklere ve standart olarak kullanılan 5-FU'e kıyasla dikkate değer antiproliferatif aktivite tespit edildi. Bununla birlikte Burdur'dan toplanan çörek otu hekzan ekstresinde doza bağlı olarak aktivitesinde de artış gözlendi. Suriye'den toplanan çörek otu hekzan ekstrelerinde 100 µg/ml de oldukça düşük bir aktivite tespit edildi (Şekil 5.3A).

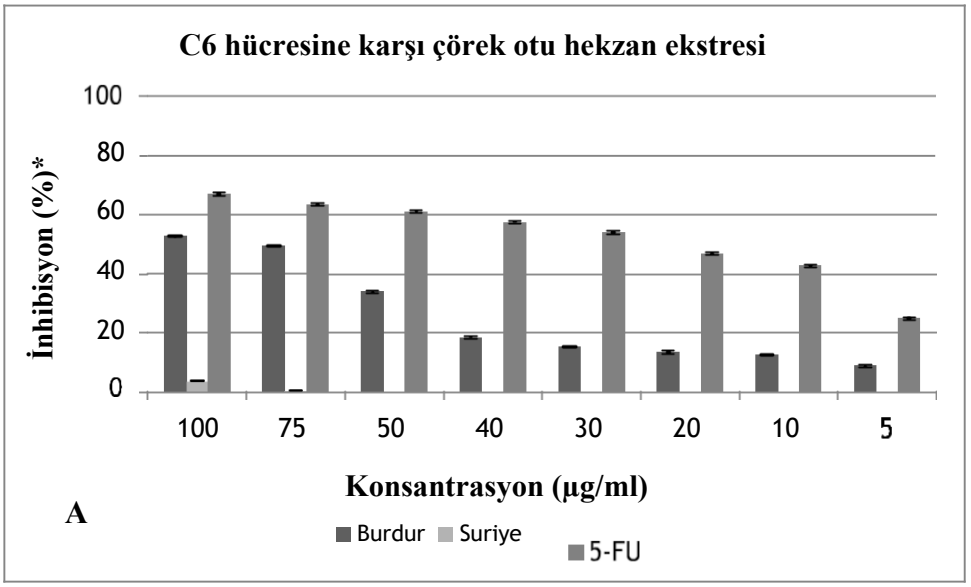
C6 hücresine karşı inhibisyon potansiyeli (100 µg/ml):

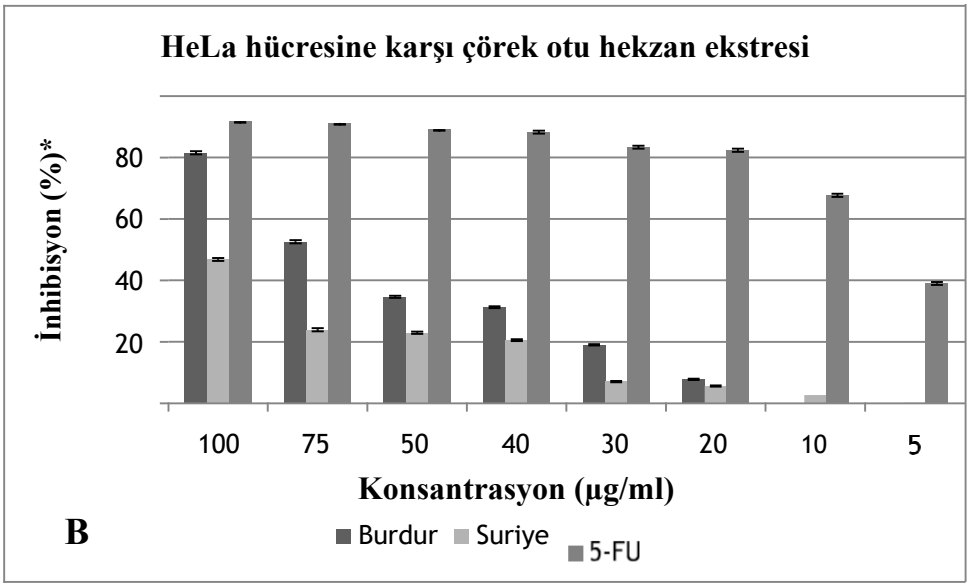
5-FU> Burdur'dan toplanan çörek otu hekzan ekstresi > Suriye'den toplanan çörek otu hekzan ekstresi.

Suriye ve Burdur'dan toplanan çörek otu hekzan ekstrelerinde HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde 20-100 µg/ml konsantrasyonlarda Suriye'den toplanan örneklere kıyasla daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edildi. Bununla birlikte Burdur ve Suriye'den toplanan çörek otu hekzan ekstrelerinde doza bağlı olarak aktivite de artış gözlendi. Suriye'den toplanan çörek otu hekzan ekstresinde hücre seçici olarak HeLa hücresine karşı yüksek dozlarda (40-100 µg/ml) doz artışına bağlı olarak aktivite de artış gözlendi (Şekil 3B). Ayrıca Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde 100-75 µg/ml konsantrasyonlarda standart olarak kullanılan 5-FU'e kıyasla dikkate değer antiproliferatif aktivite tespit edildi (Şekil 5.3B).

HeLa hücresine karşı inhibisyon potansiyeli (100 µg/ml):

5-FU > Burdur' dan toplanan çörek otu hekzan ekstresi > Suriye'den toplanan çörek otu hekzan ekstresi.





Şekil 5.3. Çörek otu hekzan ekstrelerinin C6 (**A**) ve HeLa (**B**) hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları

4.4. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS) Verileri

Suriye çörek otu tohumu GC-MS sonucuna göre elde edilen verilere göre toplam 13 bileşen bulunmuş olup, ana bileşen % 52,04'lük değeriyle linoleik asit olmuştur. Daha sonra en yüksek bileşenler sırasıyla % 27,38'lik değeriyle oleik asit ve % 12,80'lik değeriyle palmitik asit olduğu saptanmıştır. Burdur çörek otu GC-MS sonucuna göre elde edilen verilere göre toplam 19 bileşen bulunmuş olup, ana bileşen % 55,83'lük değeriyle yine linoleik asit olmuştur.

Daha sonra en yüksek bileşenler sırasıyla % 22,82'lik değeriyle oleik asit ve % 12,95'lik değeriyle palmitik asit olduğu saptanmıştır. Burdur çörek otundaki bileşenlerin sayısı ve değerleri Suriye çörek otuna kıyasla daha fazla bulunmuştur. Suriye çörek otunun hegzan ekstreli sabit yağ analizine baktığımızda ise ana bileşenin % 55,34 ile yine linoleik asit olduğu görülmüş olup test sonucuna göre toplam 11 adet bileşen elde edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında iki farklı yetişme bölgesinden alınmış Suriye ve Burdur çörek otu bitki tohumlarının organik çözücü ekstrelerinin antiproliferatif ve antioksidan aktivite analizleri yapıldı. Ayrıca sabit yağ analizleri GC-MS cihazı ile belirlendi. Bunların dışında NMR spektroskopileri tayin edildi.

Çörek otu tohumlarının antioksidan aktivitelerini belirlemek için çeşitli spektroskopik yöntemler ve tayin metotları kullanıldı. Canlı organizmalarda serbest radikaller yapım-yıkım süreçlerinde oluşabilir veya insan sağlığı için zehirli kimyasal maddelerle, radyasyona maruz kalarak veya kullanılan ilaçları kullanım sonucu gösterilen etki olarak ortaya çıkabilirler. Hücrelerin içerisinde oluşabilen serbest radikaller (ROS) reaktif oksijen türleri olarak bilinirler. Diğer moleküllerle hızla reaksiyon gösterip devamında onların yapılarını bozup değiştirerek arka arkaya oluşacak olan zincirleme reaksiyonları başlatan bu moleküller ancak ve ancak antioksidan moleküller tarafından çeşitli mekanizmalarla sonlandırılabilirler. Antioksidan moleküllere bakıldığında vitamin a, vitamin e (öncüsü α-tokoferol) ve vitamin c'yi sayabiliriz ve bu moleküller insan sağlığı açısından çok önemli etkilere sahiptirler. Kullandığımız gıdaların özellikle depolama zamanında oluşabilen çeşitli fiziksel veya kimyasal bozulmaları önlemek için son zamanlarda bitkisel kaynaklı katkı maddelerini daha fazla kullanmaya yöneldik. Bu maddelerin tercih edilmelerinin en önemli nedeni en başta doğal olmalarıdır ve bundan dolayı da insan sağlığına negatif yönde bir etkileri bulunmuyor oluşlarından kaynaklıdır.

Yapılan analizlerde oransal bağlamda en yüksek değer lineloik asit (Suriye % 52.04 ve Burdur % 55.83) olarak bulunmuştur. Fakat bu yüksek aktivitenin Suriye çörek otunda olması Burdur çörek otu tohumunun miktarı yüzde olarak daha fazla olması sebebiyle bu aktivitenin sadece linoleik asitten kaynaklı olmadığını veyahut diğer bileşenler ile sinerjik olarak etki göstermiş olduğunu düşündürmektedir. Yapılan bir çalışmada linoleik asidin *in vitro* olarak HeLa hücrelerine karşı sitotoksik olarak etki gösterdiği saptanmıştır (Sagar ve diğ., 1992). Bu çalışma kapsamında Suriye çörek otu GC-MS kromatografisi sonuçlarına göre 13 adet bileşik saptanmış olup ana bileşen % 52,04 ile linoleik asit olduğu, Burdur çörek otu GC-MS kromatografisi sonucuna göre ana bileşen % 55,83 ile yine linoleik asit olduğu saptanmıştır. Bunların dışında her iki çörek otu tohumunda da linoleik asitten sonra en çok bulunan bileşikler ise sırasıyla oleik asit ve Palmitik asit olduğu görülmüştür. Kromatogramlar karşılaştırıldığında Burdur çörek otundaki bileşenler Suriye çörek otundakilerden daha fazladır. Her ikisinde de ortak olan bileşenler: miristik asit, palmitoleik asit, palmitik asit, linoleik asit, oleik asit, stearik asit, 11-14-eikosadienoik asit, araşidik asit, 13,16-dokasadienoik asit, behenik asit, stigmasterol, y-sitosterol. Burdur çörek otunun Suriye çörek otundan farklı olan bileşenleri: metilöjenol, longifolene, pentadekanoik asit, biformen, 10-heptadekenoik asit, margarik asit olduğu tespit edilmiştir. Suriye çörek otunun Burdur çörek otundan farklı olan tek bileşeni ise: etanol, 2-(oktadesiloksi) olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmanın antiproliferative testleri için C6 ve HeLa kanser hücreleri kullanıldı. Ezilmiş olarak test edilen Burdur çörek otunda HeLa ve C6 kanser hücrelerine karşı yüksek dozlarda (75-100 µg/ml) antiproliferatif aktivite testlerinde ezilmiş Suriye çörek otundan daha yüksek aktivite tespit edilmiştir. Ezilmeyen çörek otlarından Burdur çörek otu numunesinde C6 hücresine karşı yüksek dozlarda (75-100 µg/ml) Suriye'den toplanan örneklere kıyasla daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edildi.

Ezilmeyen çörek otlarının HeLa hücresine karşı 75-100 µg/ml konsantrasyonlarda hemen hemen aynı antiproliferatif aktivite tespit edildi.

Suriye ve Burdur'dan toplanan çörek otu hekzan ekstrelerinin C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde yüksek dozlarda (75-100 µg/ml) Suriye'den toplanan örneklere ve standart olarak kullanılan 5-FU'e kıyasla dikkate değer antiproliferatif aktivite tespit edildi. Suriye ve Burdur'dan toplanan çörek otu hekzan ekstrelerinde HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite testleri sonucunda Burdur'dan toplanan çörek otu numunesinde 20-100 µg/ml konsantrasyonlarda Suriye'den toplanan örneklere kıyasla daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edildi.

Geçmişten günümüze kadar özellikle alternatif tıpta kullanılan bitkilerin yüksek oranlarda antioksidan kapasiteye sahip olmaları ve bunun yanında çeşitli kimyasallar gibi yan etkilerinin olmaması sebebiyle ilaç sektöründe ve gıda sektörlerinde hala tercih sebebi olmaktadırlar. Çörek otu (*Nigella sativa* L.) Tohumlarını kullanarak HeLa kanser hücre hattına ve C6 kanser hücre hattına karşı aktivitelerine ve her iki çörek otunun da antioksidan aktivitelerine bakılmış olup dikkate değer ölçüde aktiviteler tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında hedeflenen amaçların doğrultusunda ülke ve evrensel bazda bilime katkı sağlaması için yapılmış olup çalışılan bu konularda yapılacak olan çalışma ve araştırmalara ışık tutulmaya çalışılmıştır.

KAYNAKLAR

Ali, B. H., & Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. *Phytother Res, 17*(4), 299-305. Doi:10.1002/ptr.1309

Albayrak S., Sağdıç O., Aksoy A., 2010. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri. Enstitüsü Dergisi 26(4):401-409.

Al-Majed, A. A., Al-Omar, F. A., & Nagi, M. N. (2006). Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European journal of pharmacology, 543*(1), 40-47.

Awad, E. (2005). In vitro decreases of the fibrinolytic potential of cultured human fibrosarcoma cell line, HT1080, by Nigella sativa oil. *Phytomedicine, 12*(1), 100-107.

Bacak Güllü, E., & Avci, G. (2013). Thymoquinone: The Bioactive Component Of Nigella Sativa. *Kocatepe Veterinary Journal, 6*(1), 51-61. Doi:10.5578/Kvj.5251

Badary, O. A., Abdel-Naim, A. B., Abdel-Wahab, M. H., & Hamada, F. M. (2000). The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy İn rats. *Toxicology, 143*(3), 219-226.

Badary, O. A., Taha, R. A., Gamal El-Din, A. M., & Abdel-Wahab, M. H. (2003). Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology, 26*(2), 87-98.

Bilgin, A. İ., & Kocabağlı, N. (2010). Etlik piliç beslemede esansiyel yağların kullanımı. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 36*(1), 75-82.

Bökesoy, T., Çakıcı, İ., Ve Melli, M. 2000. Farmakoloji Ders Kitabı. 1. Türk Farmakoloji Derneği. Ankara: Gazi Kitabevi.

Bulca, S. (2014). <Çörek Otunun bileşenleri Ve Bu Yağin Ve Diğer Bazi Uçucu Yağlarin Antioksidan Olarak Gida Teknolojisinde Kullanimi.Pdf>.

Bulca, S. (2015). Çörek otunun bileşenleri ve bu yağın ve diğer bazı uçucu yağların antioksidan olarak gıda teknolojisinde kullanımı. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11*(2), 29-36.

Chehl, N., Chipitsyna, G., Gong, Q., Yeo, C. J., & Arafat, H. A. (2009). Anti-inflammatory effects of the Nigella sativa seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells. *HPB, 11*(5), 373-381.

Cummings, M., & Klug, W. 2002. Genetik, 6. Baskı. Palme Yayıncılık, Ankara, 816

Effenberger, K., Breyer, S., & Schobert, R. (2010). Terpene conjugates of the Nigella Sativa seed-oil constituent thymoquinone with enhanced efficacy in cancer cells. *Chemistry & biodiversity, 7*(1), 129-139.

El-Aziz, M. A. A., Hassan, H. A., Mohamed, M. H., Meki, A. R., Abdel-Ghaffar, S. K., & Hussein, M. R. (2005). The biochemical and morphological alterations following administration of melatonin, retinoic acid and Nigella sativa in mammary carcinoma: an animal model. *International journal of experimental pathology, 86*(6), 383-396.

El-Dakhakhny, M., Madi, N., Lembert, N., & Ammon, H. (2002). Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of ethnopharmacology, 81*(2), 161-164.

El Gazzar, M., El Mezayen, R., Marecki, J. C., Nicolls, M. R., Canastar, A., & Dreskin, S. C. (2006). Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International immunopharmacology, 6*(7), 1135-1142.

El-Mahmoudy, A., Matsuyama, H., Borgan, M., Shimizu, Y., El-Sayed, M., Minamoto, N., & Takewaki, T. (2002). Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *International immunopharmacology, 2*(11), 1603-1611.

Erbaycu, A. E., Gülpek, M., Tuksavul, F., Uslu, Ö., & Güçlü, S. Z. (2010). Akciğer Kanserinde çeşitli Bitkisel Ve Diğer karışımların Kullanımına Sosyo Demografik ve Tümöre Bağlı Faktörlerin Etkisi (Akciğer Kanserinde Tamamlayıcı Tedavi Kullanımı). *Turk Toraks Dergisi/Turkish Thoracic Journal, 11*(3).

Ersoy, A. A., & Üstün, G. Çörekotu (Nigella Sativa L.) Lipaz Enziminin İmmobilizasyonuna Asetonun Etkisi.

Farah, I. O., & Begum, R. A. (2002). Effect of Nigella sativa (N. Sativa L.) And oxidative stress on the survival pattern of MCF-7 breast cancer cells. *Biomedical sciences instrumentation, 39*, 359-364.

Güllü, E. B., & Gülcan, A. (2013). Timokinon: Nigella Sativa'nın Biyoaktif Komponenti. *Kocatepe Veterinary Journal, 6*(1).

Gün, M. (2011). Holly Seed: Nigella Sativa (Çörek Otu). Some Knowledge about Nigella Sativa's Therapeutic Effect-Kutsal Tohum (Nigella Sativa): Çörek Otunun iyileştirici Etkisine ilişkin Bazı Bilgiler. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 37-38.

Kar, Y., Sen, N., & Tekeli, Y. (2007). Samsun Yöresinde Ve Mısır Ülkesinde yetiştirilen Çörekotu (Nigella Sativa L.) Tohumlarının Antioksidan Aktivite Yönünden İncelenmesi. *Süleyman Demirel Üniv. Fen Edebiyat Fak. Fen Derg (E-Dergi), 2*, 197-203.

Keser, S., Celik, S. And Turkoglu, S. (2013). Total Phenolic Contents And Free-Radical Scavenging Activities Of Grape (Vitis Vinifera L.) And Grape Products. International Journal Of Food Sciences And Nutrition. 64(2):210-216.

Khan, N., & Sultana, S. (2005). Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperproliferative response by Nigella sativa. *European journal of cancer prevention, 14*(2), 159-168.

Khan, M. A., Chen, H. C., Tania, M., & Zhang, D. Z. (2011). Anticancer activities of Nigella sativa (black cumin). *Afr J Tradit Complement Altern Med, 8*(5 Suppl), 226-232. Doi:10.4314/ajtcam.v8i5s.10

Mabrouk, G., Moselhy, S., Zohny, S., Ali, E., Helal, T., Amin, A., & Khalifa, A. (2002). Inhibition of methylnitrosourea (MNU) induced oxidative stress and carcinogenesis by orally administered bee honey and Nigella grains in Sprague Dawely rats. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR, 21*(3), 341-346.

Mot C.A., Dumitrescu S.R., Sarbu C., 2011. Rapid And Effective Evaluation Of The Antioxidant Capacity Of Propolis Extracts Using DPPH Bleaching Kinetic Profiles, FT-IR And UV-VIS Spectroscopic Data, Journal Of Food Composite And Analysis, 24:516-522.

Muhtasib, H., Assdf, M., & Boltze, C. (2004). Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells viaa p53 dependent mechanism. *Int J Oncol, 25*(4), 857-866.

Nishimiki, M., Rao, N.A., & Yagi, K., (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 46*, 849–853.

Norwood, A., Tan, M., May, M., Tucci, M., & Benghuzzi, H. (2005). Comparison of potential chemotherapeutic agents, 5-fluoruracil, green tea, and thymoquinone on colon cancer cells. *Biomedical sciences instrumentation, 42*, 350-356.

Oyaizu, M., 1986. Studies On Product Of Browning Reaction: Antioxidative Activities Of Products Of Browning Reaction Prepared From Glucosamine. Japanese Journal Of Nutrition, 44: 307-315.

Özenoğlu, S., Aydoğdu, G., Dinçsoy, A. B., Taghidizaj, A. A., Derici, K., YILMAZ, E., Cansaran-Duman, D. (2013). Liken Sekonder bileşiklerinin Farklı Insan Kanser Hücre Tipleri Üzerine Antikanserojenik Etkisi. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi*.

Özçelik, U., & Bayram, İ. (2012). Çörek Otunun (Nigella Sativa) Kuzularda, Besi Performansı Ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi. *Kocatepe Veterinary Journal, 5*(2).

Prieto, C. A., & Lambert, D. L. 1999. Fundamental Parameters Of Nearby Stars From The Comparison With Evolutionary Calculations: Masses, Radii And Effective Temperatures. Arxiv Preprint Astro-Ph/9911002;

Ratnam V.D, Ankola D.D, Bhardwaj D.K, Sahana M.N.V., Ravi K., 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and theraphy: A pharmaceutical perspective. Journal of Control Release 113:189-207.

Roepke, M., Diestel, A., Bajbouj, K., Walluscheck, D., Schonfeld, P., Roessner, A., . ..
Gali-Muhtasib, H. (2007). Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer biology & therapy, 6*(2), 160-169.

R. Re, N.A. Pellegrini, A. Pannala, M. Yang, E.C. Rice, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Aust. Tafe Teach., 28 (9–10) (1994), pp. 1231–1237.

Sagar P. S., Das U. N., Koratkar R., Ramesh G., Padma M & Kumar G. S. (1992). Cytotoxic action of cis-unsaturated fatty acids on human cervical carcinoma (HeLa) cells: relationship to free radicals and lipid peroxidation and its modulation by calmodulin antagonists. *Cancer Letters,* 63(3), 189-198

Salem, M. L. (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. Seed. *International immunopharmacology, 5*(13), 1749-1770.

Salim, E. I., & Fukushima, S. (2003). Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (Nigella sativa L.) Seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutrition and cancer, 45*(2), 195-202.

Shafi, G., Munshi, A., Hasan, T. N., Alshatwi, A. A., Jyothy, A., & Lei, D. K. (2009). Induction of apoptosis in HeLa cells by chloroform fraction of seed extracts of Nigella sativa. *Cancer Cell Int, 9*, 29. Doi:10.1186/1475-2867-9-29

Torres, M. P., Ponnusamy, M. P., Chakraborty, S., Smith, L. M., Das, S., Arafat, H. A., & Batra, S. K. (2010). Effects of thymoquinone in the expression of mucin 4 in pancreatic cancer cells: implications for the development of novel cancer therapies. *Molecular cancer therapeutics, 9*(5), 1419-1431.

URL-1. Https://maksatbilgi.com/corek-otu-nedir-nasil-kullanilir-faydalari-yan-Etkileri-nelerdir (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-2. Https://www.dreamstime.com/stock-photos-cancer-cell-blood-cells-d-rendered-illustration-render-image32564673 (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-3. Http://yousense.info/3338/01395-breast-cancer-cells-under-Microscope.html (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-4. Https://www.thetimes.co.uk/article/overhaul-of-cancer-drug-fund-will-deny-treatment-to-22-000-nhz6dg9w5 (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-5. Http://treat-simply.com/lt/records/2254 (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-6. Http://www.solunetti.fi/en/patologia/hepatooma_40x/ (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-7. Https://tech2.org/italy/tumors-armored-immune-cells-to-fight-them (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-8. Http://www.binipatia.com/melanoma-del-oido/ (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-9. Https://fineartamerica.com/featured/2-fibrosarcoma-cell-steveGschmeissner.html (Erişim tarihi: 02.01.2019)
URL-10. Http://allhardwoodflooring.info/qiao39s-pathology-kidney-tumor-%20Renal-cell-photos.html%20 (Erişim tarihi: 02.01.2019)
URL-11. Https://www.livingcoramdeo.com/2018/01/14/3-signs-of-prostrate-%20Cancer-you-should-never-ignore/ (Erişim tarihi: 01.01.2019)
URL-12. Https://www.sciencesource.com/CS.aspx?VP3=searchresult&ITEMID=SS2257752 (Erişim tarihi: 02.01.2019)
URL-13. Http://profsaracoglu.az/mehsullar/26-corek-otu-tohumu-425gr.html (Erişim tarihi: (03.01.2019)
URL-14. Https://fiyat.tarimziraat.com/burdur_corek_otu_fiyatlari-b15,1073.html (Erişim tarihi: 02.01.2019)
Usta, C., & Algin, A. K. Kardiyovasküler Hastalıklara Çörekotu (*Nigella sativa*) İle Fitoterapötik yaklaşım.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sena AKDOĞAN
Doğum Yeri : Bakırköy / İSTANBUL
Doğum Tarihi : 12 / 09 / 1992
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Adres : Nuripaşa Mah. 22 / 6 Sk. No: 2 D: 4 Zeytinburnu / İSTANBUL
Tel : 0535 715 61 47
E-posta : **sena___akdogan@hotmail.com**

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Zühtü kurtulmuş Anadolu Lisesi 2006-2010
Lisans : Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü 2010-2014
Yüksek Lisans : ÇKÜ Organik Kimya Anabilim Dalı 2016-2019

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

Zeytinburnu Sümer İmam Hatip Ortaokulu (Fen Bilgisi Öğretmenliği) (2014-2015/ 2015- 2016)

Katıldığım Eğitim, Seminer, Kongre ve Kurslar:

Başarıya Engel Yok Milli Gururlarımız Paneli 7.12.2017 Çankırı Karatekin Üni.
1. Uluslararası Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler Kongresi
12.05.2017 NECMETTİN ERBAKAN ÜNİ. (poster ve bildiri sunumu)
Fizik ve Matematik Temelinde Teknolojiye Yolculuk 3.10.2013 AMASYA ÜNİ.
İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimi Haziran 2016 (İŞ Yeri Sağlık Ve Güvenlik Bürosu)
Özel Sozek Bilgisayar ve Yabancı Dil (Bilgisayar işletmenlik) Kursu Şubat 2013
Osmanlıcada Kolay Metinler (kişisel gelişim ve Eğitim) Kursu Eylül 2012