



Tragopogon reticulatus'ın HepG2 ve MCF7 Hücre Hatlarına Karşı Sitotoksik ve Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antioksidan, Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması

Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ^{1*}, Semih DALKILIÇ²

¹Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü, 23000, Elazığ

²Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 23000, Elazığ

¹<https://orcid.org/0000-0002-6791-3811>

²<https://orcid.org/0000-0002-6892-247X>

*Sorumlu yazar: tkadioglu85@gmail.com

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi:

Geliş tarihi: 26.09.2023

Kabul tarihi: 06.03.2024

Online Yayınlanma: 16.09.2024

Anahtar Kelimeler:

Tragopogon reticulatus

Sitotoksik

Antimikrobiyal

Antioksidan aktivite

ÖZ

Bitkiler tarihsel süreç içerisinde çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. Bu konu son yıllarda geleneksel tıp alanında giderek artan bir ilgi görmektedir. *Tragopogon reticulatus*, Türkiye'de yemlik ot bitkisi olarak bilinen, zengin vitamin ve mineral içeriği ile dikkat çeken bir türdür. Bu çalışmanın amacı, *T. reticulatus* bitkisinin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik aktivitelerini araştırmaktır. *T. reticulatus* bitkisinden elde edilen hekzan ve metanol çözücülerinin kullanılmasıyla farklı konsantrasyonlarda iki ayrı ekstrakt hazırlanmış, sitotoksik aktivite ise insan karaciğer kanseri (HepG2) ve insan meme kanseri (MCF7) hücre hatları üzerinde MTT Assay (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) yöntemiyle değerlendirilmiştir. Metanol ve hekzandan elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi DPPH (2,2-difenil 1-pikrilhidrazil) radikal süpürme kapasitesi yöntemi ile belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite kuyu difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiş ve çalışmada *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Bacillus megaterium* gibi bakteriler ve *Candida albicans* mantarı kullanılmıştır. *T. reticulatus* bitkisinden elde edilen hekzan ekstresi, MCF7 hücre hattında %44 oranında yüksek sitotoksik aktivite gösterirken, HepG2 hücre hattında %51 oranında ölü hücre sayısı göstermiştir. Antioksidan sonuçlar değerlendirildiğinde, hekzan ekstresinin DPPH radikal süpürücü etkisinin %19 ile en etkili aktiviteyi sergilediği belirlenmiştir. Antimikrobiyal sonuçlar değerlendirildiğinde hekzan ile hazırlanan konsantrasyonların *B. megaterium*'a karşı 16 mm zon çapı ile en etkili aktiviteyi sergilediği belirlenmiştir. Bu bulgular, *T. reticulatus* bitki ekstraktlarının potansiyel birer kaynak olarak kabul edilebileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar, bitkinin biyolojik etkilerine dair gelecekteki araştırmalara ışık tutabilir ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Investigation of Cytotoxic Effects of *Tragopogon reticulatus* Against HepG2 and MCF7 Cell Lines and Antioxidant, Antimicrobial Effects Against Some Microorganisms

Research Article

Article History:

Received: 26.09.2023

Accepted: 06.03.2024

Published online: 16.09.2024

Keywords:

Tragopogon reticulatus

Cytotoxic

Antimicrobial

Antioxidant activity

ABSTRACT

Plants have been used for various purposes throughout history. This subject has received increasing attention in the field of traditional medicine in recent years. *Tragopogon reticulatus*, as a forage grass plant in turkey, is a species that stands out with rich vitamin and mineral content. The aim of this study was to investigate the antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities of *T. reticulatus*. Two separate extracts were prepared at different concentrations using hexane and methanol solvents obtained from the *T. reticulatus* plant, and cytotoxic activity was evaluated by the MTT Assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) method on human liver cancer

(HepG2) and human breast cancer (MCF7) cell lines. The antioxidant activity of the extracts obtained from methanol and hexane was determined by the DPPH (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) radical scavenging capacity method. Antimicrobial activity was evaluated by the disk diffusion method, and bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, and *Candida albicans* fungus were used in the study. The hexane extract obtained from the *T. reticulatus* plant showed a high cytotoxic activity of 44% in the MCF7 cell line, while it showed a 51% dead cell count in the HepG2 cell line. When the antioxidant results were evaluated, it was determined that the DPPH radical scavenging effect of the hexane extract exhibited the most effective activity at 19%. When the antimicrobial results were evaluated, it was determined that the concentrations prepared with hexane exhibited the most effective activity with a zone diameter of 16 mm against *B. megaterium*. These findings suggest that *T. reticulatus* plant extracts can be considered as a potential source. These results may shed light on future research into the biological effects of the plant and contribute to the development of new treatment methods.

To Cite: Kadiođlu Dalkılıç L., Dalkılıç S. *Tragopogon reticulatus*'ın HepG2 ve MCF7 Hücre Hatlarına Karşı Sitotoksik ve Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antioksidan, Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2024; 7(4): 1513-1525.

1. Giriş

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir biçimde çoğalması sonucu oluşan, yayılma eğilimi gösteren bir hastalıktır (Siddiqui ark., 2022). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, kanser dünya genelinde ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Bu durum, kanserin küresel sağlık sorunlarından biri olduğunu ve ciddi bir halk sağlığı meselesi teşkil ettiğini göstermektedir (Gencturk ark., 2023). Kanser gelişimi için hücrelerin ilk olarak kontrolsüz çoğalma yeteneğini geliştirmeleri gerekir. Daha sonra hücreler komşu dokuya istila edebilmeli ve kendilerine besin ve oksijen desteği sağlayabilmelidirler. Son olarak, diğer dokulara yayılmak için yeni oluşan kütleden ayrılmaları gerekirken, onları yok etmek için hazır olan bir bağışıklık sisteminden de kaçınmalıdırlar (Piazzesi ark., 2021). Kanser tedavilerinde teknolojiyle kanserin erken teşhisi ve tedavisiyle birlikte, kansere karşı galip gelen hastaların sayısı her geçen gün artmaktadır (Azizi ark., 2022). Kanser tedavisinde kullanılan temel yöntemler kemoterapi, radyoterapi ve hormonal tedavileri içerir (Baykara, 2015, 2016). Ancak bu tedavi seçenekleri, sınırlı bir hedef aralığına sahip olmaları ve normal hücrelere toksik etkiler yapabilmeleri nedeniyle bazen yetersiz kalabilmektedir. Bu bağlamda, bitkisel tedavi gibi alternatif yöntemler de önem kazanmaktadır (Shin ark., 2018).

Halk arasında yemlik olarak bilinen *Tragopogon reticulatus*, çok yıllık otsu bir bitki olup ilkbahar aylarında yaylalarda ve dağlarda yetişmektedir. Asteraceae familyasına ait olan *T. reticulatus*, içerisinde çeşitli vitaminler (A, C, E, B2, B6) ve mineralleri (Fe ve Ca) barındırmaktadır (Okcu ve Kaplan, 2018). Ek olarak, lif ve protein kaynağı yüksek bileşenleri bünyelerinde bulundurmaktadır. Kansızlık, yüksek tansiyon, romatizma, diyabet, gut ve böbrek hastalıkları gibi birçok hastalığa da iyi geldiği bilinmektedir (Biçer, 2022; Çöteli ve Karataş, 2015; Sari ve Uçar, 2023). Bunların yanı sıra yapısında bulunan fenolik bileşikler, insanların beslenmesinde önemli bir rol oynamakta olup antioksidan özelliklerinden dolayı büyük ilgi çekmektedir (Öğretmen, 2022). İçerdiği bu antioksidanlar sayesinde, *T. reticulatus*'un antitumöjenik, yaşlanma karşıtı vb. birçok özellik gösterdiği belirtilmiştir (Okcu ve Kaplan, 2018).

Son yıllarda yapılan birçok araştırma, çeşitli bitki kısımlarından elde edilen bileşiklerin sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Esmee ark., 2022). Bu nedenle günümüzde, kanser hastalıklarına karşı potansiyel ilaçlar geliştirmek amacıyla farklı bitki türleri ve kısımları üzerinde yapılan araştırmalara olan ilgi artmıştır. Bitkilerin potansiyel sitotoksik aktiviteye sahip bileşikler içerdikleri düşünülmektedir. Bu fitokimyasallar, hem kanser tedavisinde hem de kemoterapi, radyoterapi gibi tedavilerin yan etkilerini azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, yemliğin yaprak kısmındaki glutasyon ve vitamin miktarlarının, antioksidan aktivitenin önemli bir bileşeni olduğu düşünülmektedir (Çöteli ve Karataş, 2015).

Literatür taramalarında *T. reticulatus* üzerinde antikanser, antimikrobiyal ve antioksidan çalışmalarının yeterli olmadığı görülmüştür. Bu çalışma ile *T. reticulatus* bitkisinin insan karaciğer kanseri (HepG2) ve insan meme kanseri (MCF7) hücre hattına karşı göstermiş olduğu sitotoksik ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Aynı zamanda Gram negatif (G-) ve Gram pozitif (G+) bakterilere karşı antibakteriyal, mantar suşuna (*Candida albicans*) karşı antifungal aktivitesi belirlemiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1 Materyal

2.1.1. Malzemenin Temin Edilmesi

Elazığ'ın Baskil ilçesine bağlı Ancuz köyünden Nihal Gülaçar tarafından Nisan-Mayıs aylarında toplanmış olup, Doç. Dr. Gülden Doğan tarafından da tür tayini yapılmıştır.

2.1.2. Deneyde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Hücre Hatları

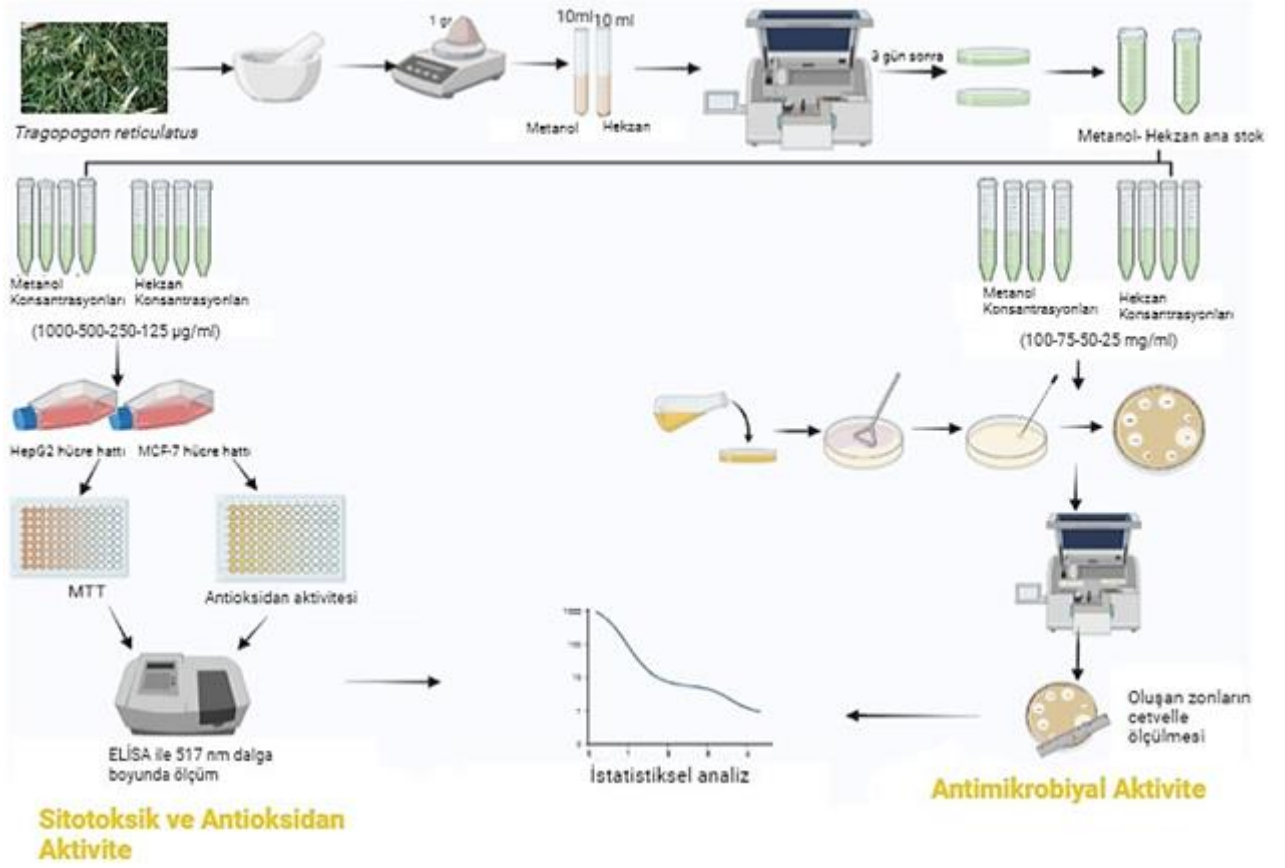
Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Esherichia coli* ATCC 25322, *Bacillus megaterium* ATCC DSM32 ve mantar olarak *Candida albicans* FMC17 Fethi Sekin Şehir Hastanesi merkez laboratuvarından temin edilmiştir. HepG2 ve MCF7 kanser hücre hatları Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı öğretim üyesi Doç. Dr. Semih Dalkılıç'ın laboratuvarında mevcuttur ve bu çalışmada bu iki hücre hattı kullanılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Ekstrakt Hazırlama

Toplanan bitkilerden 5 gr kurutulup porselen havan yardımıyla toz haline getirilmiştir. Bitkiden 1 g alınarak 10 ml metanol ve hekzan çözücüleri kullanılarak ayrı ayrı hazırlanmış ve çalkalamalı etüvde (37°C) 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekstreği çıkarmak için Whatman No 1 filtre kağıdı ile süzölmüştür. Çözücüler (metanol ve hekzan), rotary evaporatörde 40-50 °C sıcaklıkta 4 saat boyunca uzaklaştırılmıştır. Bu iki solvent, bitki ekstratlarından maksimum yararlanım için kullanılmış olup etkili bir şekilde özütünün çıkarılması sureti ile kullanılmış olup toksisite yapma özelliği inhibe edilmiştir (Çöteli ve Karataş, 2015). Kurumuş bitki ekstratlarından ana stok elde etmek için, kurumuş petrolere,

bitki ekstraksiyonlarında yaygın olarak kullanılan 10 ml dimetil sülfoksit (DMSO) eklenmiş ve ana stok elde edilmiştir (Dalkilic ark., 2022). DMSO oranı %1'i geçmeyecek şekilde hazırlanmıştır. DMSO, hem polar (su gibi) hem de apolar (hidrokarbonlar gibi) çözücülerle çözünebilir geniş bir çözücü yelpazesine sahiptir; su ile çözünebilir ve aynı zamanda polar çözücülerle hidrojen bağları kurabilirken, apolar çözücülerle Van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşimlere girebilir. DMSO'nun bu özelliklerinden dolayı ana stok hazırlamada tercih edilmiştir (Dalkilic ark., 2023). Daha sonra dört farklı (125, 250, 500, 1000 µg/ml) konsantrasyon hazırlanıp +4 °C 'de muhafaza edilmiştir. Sonrasında ana stok ve konsantrasyonlar üç kez tekrar edilerek taze olarak kullanılmıştır. **Şekil 1**'de gösterildiği üzere deneyin genel tasarımı, *T. reticulatus* bitkisi üzerinde uygulanan yöntemleri göstermiştir.



Şekil 1. Deney akış şeması

2.2.2. Antimikrobiyal Aktivite

T. reticulatus'un antimikrobiyal aktivite testleri agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bakteri suşları deneyden önce Nutrient Broth (Biolife Lot: HE2602) ve Müeller Hinton Agar'a (Merck Lot: VM779137), mantar suşu Malt Ekstrakt Broth' a (Difco-Biolife Lot:HE2602) aşılanmıştır. *T. reticulatus* antimikrobiyal aktivite için 25, 50, 75 ve 100 mg/ml olacak şekilde DMSO ile konsantrasyon hazırlanmıştır. Steril petrilere 25 ml Müeller-Hinton Agar'a aktarılmış olup katılaşmaya bırakılmıştır. Katılaştıran agar üzerine yoğunluğu Mc Farland 0.05 olarak belirlenen bakteri süspansiyonundan 100 µl ekilmiş ve drigalski ile yayılmıştır. Cork borer ile kuyucuk açılarak

konsantrasyonlar eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak Klindamisin (DA, 2 mcg) antibiyotik diski kullanılmış olup, negatif kontrol olarak da oranı %1'i geçmeyecek şekilde (%1'in altına indirgenmiştir) 100 µL DMSO kullanılmıştır. Bakteri aşılama petripleri 37±0,1°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, besiyerinde oluşan inhibisyon zonları cetvel yardımıyla mm olarak ölçülmüştür (Dalkilic ark., 2023). Antimikrobiyal deneyleri 6 tekrarlı yapılmış olup güvenilirliği kontrol edilmiştir.

2.2.3. Hücre Kültürü

HepG2 hücre hattı, %10 fetal sıgır serumu (FBS), %1 Penisilin-Streptomisin ve 25 mM L-glutamin içeren DMEM ortamında, MCF7 hücre hattı ise RPMI-1640 ortamında büyütülmüştür. Hücreler 75 cm² flasklarda 37°C'de %5 CO₂ ile kültüre edilmiştir (Dalkilic ark., 2023; Zheng ark., 2019).

2.2.4. Sitotoksik aktivitenin belirlenmesi

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) testi, hücre canlılığının, proliferasyonunun ve sitotoksitenin değerlendirilmesi için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, canlı hücrelerin aktif mitokondrileri tarafından hücre zarından geçebilen ve hücre içinde elektron kazanarak suyla çözünmeyen, mor renkli formazan kristallerine dönüşen bir tetrazolyum tuzuna dayanmaktadır. Daha sonra, formazan kristalleri uygun çözücülerle çözülerek oluşan renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülmekte ve böylece canlı hücre sayısı belirlenmiştir (Dalkilic ark., 2021; Kadioglu Dalkilic ark., 2023). 75 cm²'lik flasklarda büyütülen her iki hücre hattı flask ortamından çıkarılıp 5 ml steril PBS ile yıkanarak tekrar ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ardından flaska 1 ml Tripsin-EDTA (%0,05 trypsin, %0,02 EDTA) eklenmiş ve %5 CO₂'li inkübatörde 2 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra tripsini inaktive etmesi için 5 ml medyum ilave edilmiştir. Hücreler flaskdan çıkarılmış ve falkona aktarılarak 2000 Rpm' de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen fazlardan biri olan süpernatant uzaklaştırılmış olup, hücre pelleti RPMI-1640 (%10 FBS, %1 Penisilin-streptomycin) besiyeri ile seyreltilmiştir. 96 kuyucuklu plakalara kuyu başına 5×10³ hücre yoğunluğu olacak şekilde seyreltilmiş, 1 gece boyunca 37°C ve %5 CO₂'li etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Bir sonraki gün, besiyeri (RPMI) oda sıcaklığına getirilmiştir. İlk sıra kör (blank), üçüncü sıra da negatif kontrol olarak belirlenerek bu iki sıraya RPMI eklenmiştir. İkinci sıra ise pozitif kontrol olarak belirlenerek 2,5 µg/mL Doksorubisin aktarılmıştır. Diğer kuyulara hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki *T. reticulatus* (125, 250, 500 ve 1000 µg/ml) aktarılmıştır. 96'lık kuyunun bulunduğu plate 37°C ve %5 CO₂'li etüvde 72 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. 72 saatlik inkübasyonun bittikten sonra her bir kuyucuğa 10 µL MTT çözeltisi (5 mg/mL) eklenmiş ve hücreler karanlık bir ortamda 37°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. Bu inkübasyon süresinden sonra plaka çalkalanmış ve 570 nm dalga boyunda bir mikropilaka okuyucu kullanılarak ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) ile ölçülmüştür (Arslan Ateşşahin ark., 2023). Antikanser deneyleri 6 kez tekrar edilmiş olup güvenilirliği kontrol edilmiştir. Sitotoksikite aşağıda gösterilen formüle göre hesaplanmıştır

$$\text{Sitotoksik aktivite (\%)} = \frac{\text{Örnek ABS}}{\text{Kontrol ABS}} \times 100$$

2.2.5. Antioksidan aktivite tayini

T. reticulatus antioksidan özellikleri DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenmiştir (Cuendet ark., 1997). *T. reticulatus* metanol ve hekzan çözeltileri kullanılarak hazırlanmıştır. *T. reticulatus* ekstraktının stok çözeltisi hazırlandı ve 125, 250, 500, 1000 µg/ml konsantrasyonlarda %0.005 metanolik DPPH çözeltisi kullanılarak seri olarak seyreltilmiş metanol içinde ayrı ayrı çözüldü. Pozitif kontrol olarak 100 µL askorbik asit+ 100 µL DPPH ve negatif kontrol olarak 100 µL DPPH kullanılmıştır. 37±0.1°C'de 30 dakika inkübasyonun ardından absorbans 517 nm dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak kaydedilmiştir. Antioksidan deneyleri altı tekrarlı olup, her bir karışım için DPPH radikallerinin temizlenme hızını belirlemek için aşağıdaki formül kullanılmıştır (Kadioglu Dalkilic ark., 2023).

$$\text{Antioksidan aktivitesi (\%)} = \frac{\text{Kontrol ABS} - \text{Örnek ABS}}{\text{Kontrol ABS}} \times 100$$

2.2.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin gruplar arasındaki farklılıklarını değerlendirmek amaçlı ile antikanser deneylerinde One-Way ANOVA testi uygulanmıştır. Analizler (HepG 2 hücre hattında metanol çözücüsü ve MCF-7 hücre hattında ise hekzan ile hazırlanmış) SPSS 22 sürümü ile yapılmış olup değerler p≤0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. Bulgular

3.1. Ekstrakt verimliliği

Ekstraktın çıkarılması sırasında yüzde verim hesaplamaları aşağıda verilen formül kullanılarak yapılmış (Kaptaner İğci ve Aytaç, 2020) ve Tablo 1'de gösterildiği gibi herhangi bir verim kaybı yaşanmamıştır. *Verimlilik yüzdesi (w/w) = (kurutulmuş ekstraktın ağırlığı, gr) / (ekstraksiyon işleminden önce ölçülen kuru bitki materyalinin ağırlığı, gr) × 100*

Tablo 1. Yüzde verimliliğe ilişkin ekstrakt sonuçları

Ekstrakt	Ekstraksiyondan önce kuru bitki materyalinin ağırlığı (gr)	Kurutulmuş ekstraktın ağırlığı (gr)	Yüzde verimlilik (%)
Hekzan	1	0.06	6
Metanol	1	0.06	6

3.2. Antimikrobiyal Aktivite

Metanol ve hekzan ile hazırlanan *T. reticulatus* ekstraktlarının farklı konsantrasyonları beş mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktiviteleri açısından değerlendirilmiş ve bulgular **Tablo 2**'de gösterilmiştir. Son olarak pozitif kontrol olan Klindamisin ile karşılaştırılmıştır. Bu duruma ek olarak belirlenmiş olan DMSO oranı %1'i geçmeyecek şekilde ayarlanarak DMSO'dan kaynaklanabilecek herhangi toksisite yaratmamakla beraber elde edilen sonuçların bitki bazlı olduğu bulgusuna varılmaktadır.

Tablo 2. *T. reticulatus* ekstraktının hekzan ve metanol ekstraktlarının *E. coli*, *S. aureus*, *B. megaterium*, *K. pneumoniae* ve *C. albicans* üzerindeki antibakteriyel etkisi (zon çapları mm).

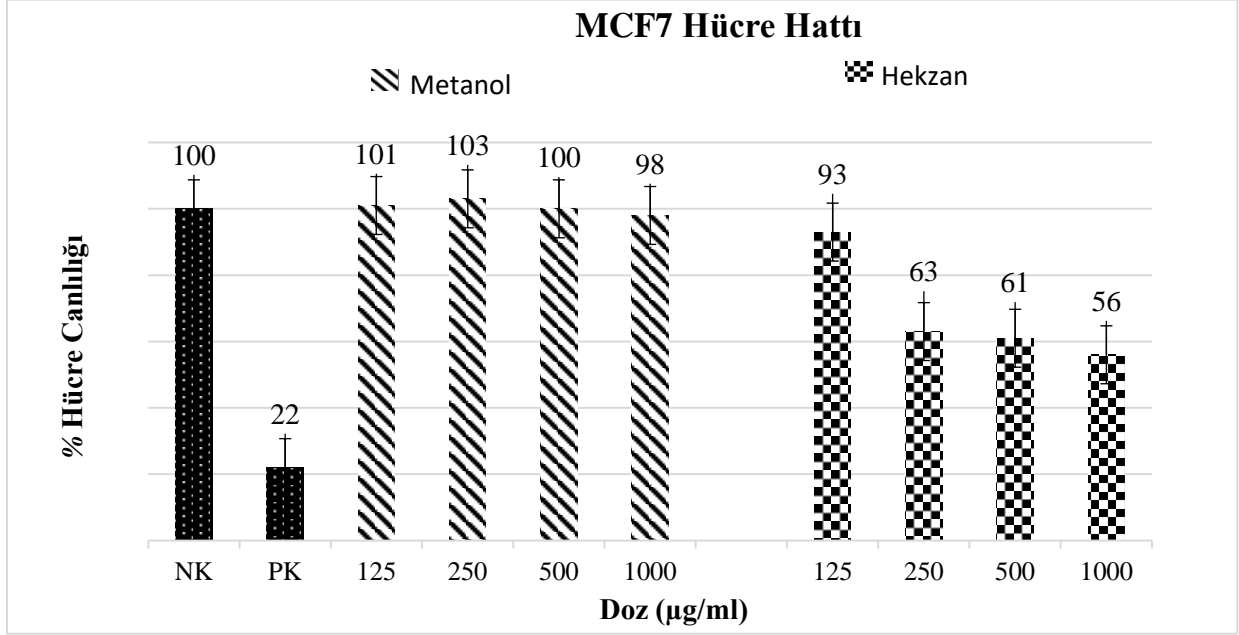
	Konsantrasyon (mg/mL) zon çapı (mm)								
	Hekzan (mg/mL)				Metanol (mg/mL)				Klindamisin
	25	50	75	100	25	50	75	100	2 mcg
Mikroorganizma									
<i>E. coli</i>	10±1	10±1	12±1	12±1	10±0,5	10±0,5	9±0,5	9±0,5	19±0,2
<i>S. aureus</i>	10±1,2	11±0,2	11±0,2	13±1,7	9±2,2	11±0,2	12±0,7	13±1,7	15±3,8
<i>B. megaterium</i>	11±2	12±1	13	16±3	12±0,7	12±0,7	13±0,2	14±1,2	21±2,2
<i>K. pneumoniae</i>	11±0,7	12±0,2	12±0,2	12±0,2	9±0,5	9±0,5	9±0,5	11±1,5	20±1,2
<i>C. albicans</i>	9±1,6	10±0,4	11±0,4	12±1,4	9±2	10±1	12±1	13±2	19±0,2

* Herhangi bir antimikrobiyal etki gözlenmemiştir.

Tablo 2'de *T. reticulatus*'un hekzan ile hazırlanan ekstresinin *E. coli*'ye karşı 75 ve 100 mg/ml'lik konsantrasyonlarında 12 mm inhibisyon zonu oluştururken, 25 ve 50 mg/ml konsantrasyonlarında ise 10 mm çapında bir zon oluşturduğu gözlenmiştir. *S. aureus*'de 25 mg/ml ekstresinin oluşturduğu inhibisyon zon çapı 10 mm iken, 100 mg/ml konsantrasyonda 13 mm zon çapı oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). *B. megaterium*'a karşı 25 mg/ml'lik konsantrasyonunda 11 mm zon, 100 mg/ml'de ise 16 mm inhibisyon zonu ile antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir (Tablo 2). *K. pneumoniae*'a karşı 25 mg/ml inhibisyon zonu 11 mm olarak ölçülürken 50, 75 ve 100 mg/ml konsantrasyonlarında 12 mm olarak ölçülmüştür. *C. albicans*'a karşı ise 100 mg/ml konsantrasyonda maksimum inhibisyon zonu 12 mm olarak gözlenmiştir. *T. reticulatus* ekstresinin metanol çözeltisine bakıldığında; *E. coli*'ye karşı 25 ve 50 mg/ml'lik konsantrasyonlarda maksimum inhibisyon zonu 10 mm olarak gözlenmiştir. *S. aureus* bakterisine karşı 100 mg/ml'lik konsantrasyonunda maksimum zon çapını oluştururken, diğer konsantrasyonlarında ise sırasıyla 9, 11, 12 mm zon çapı oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). *B. megaterium*'a karşı 100 mg/ml'de 14 mm ile en iyi inhibisyon zonunu göstermiştir. *K. pneumoniae*'ya

karşı ise 25, 50 ve 75 mg/ml konsantrasyonlarında inhibisyon zon çapı 9 mm olarak belirlenmiştir. *C. albicans*'ta *T. reticulatus* metanol ekstresinin 25 mg/ml'lik konsantrasyonda 9 mm, 100 mg/ml'lik konsantrasyonda ise; 13 mm inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir (Tablo 2).

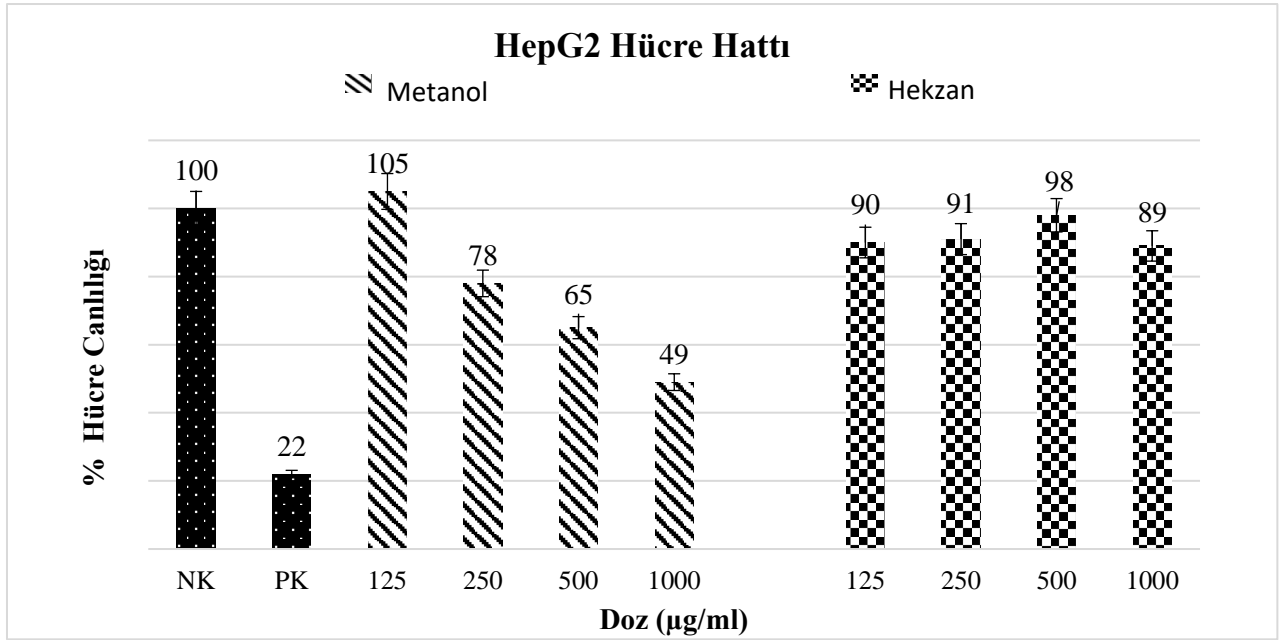
3.3. Sitotoksik Aktivite



Şekil 3. *T. reticulatus*' un MCF7 hücre hattı üzerindeki grafiği

*PK: Pozitif kontrol: 100 µL Doksorubisin, NK: Negatif kontrol 100 µL RPMI. SPSS 22 Programı kullanılarak antikanser verilerinin gruplar arasındaki farklılıklarını değerlendirmek amaçlı One-Way ANOVA testi uygulanmış olup; hekzan ekstresinde $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ortaya koymuştur.

Şekil 3'de görüldüğü üzere, *T. reticulatus* bitkisinde MCF7 hücre hattında en güçlü sitotoksik etki hekzan ekstresinde gözlenmiştir. Hazırlanan ekstrede 1000 µg/ml'de %44 oranında ölü hücre belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında metanol ekstraktına göre hekzan ekstraktının konsantrasyon arttıkça sitotoksik aktivitesinin de arttığı gözlenmiştir.



Şekil 4. *T. reticulatus*' un HepG2 hücre hattı üzerindeki etkisi

*PK: Pozitif kontrol: 100 µL Dokсорubisin, NK: Negatif kontrol 100 µL RPMI. SPSS 22 Programı kullanılarak antikanser verilerinin gruplar arasındaki farklılıklarını değerlendirmek amaçlı One-Way ANOVA testi uygulanmış olup; metanol ekstresinde $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ortaya koymuştur.

Şekil 4'de, *T. reticulatus* bitkisinde HepG2 hücre hattında en güçlü sitotoksik etki metanol ekstresinde gözlenmiştir. Hazırlanan ekstrede 1000 µg/ml konsantrasyonda %51 oranında hücre ölümü belirlenmiştir. Genel itibarı ile iki hücre hattı üzerinde de etki göstermiş olsa da MCF7'de hekzan ekstresinde gözlenirken HepG2 hücre hattında ise metanol ekstresinde gözlenmiştir.

T. reticulatus ekstraktlarının sitotoksik aktivite sonuçları, dört farklı konsantrasyon (1000, 500, 250, 125 µg/mL) için yarı maksimum inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) değeri hesaplanarak elde edilmiştir. Düşük IC_{50} değeri yüksek toksisiteyi, yüksek IC_{50} değeri ise düşük toksisiteyi göstermektedir. IC_{50} değerleri her iki hücre hattı ve iki ekstrakt için hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3'te sunulmuştur. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, hekzan ekstresi HepG2 hücre hattında 272.3468 µg/mL ile en yüksek sitotoksik etkiyi göstermiştir.

Tablo 3. *T. reticulatus*' un Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Aktivitelerinin IC_{50} Değerleri

	Hekzan	Metanol
MCF7 Hücre Hattı	2453.9 µg/mL	501.7 µg/mL
HepG2 Hücre Hattı	272.3 µg/mL	484.4 µg/mL

3.4. Antioksidan Aktivite

T. reticulatus'un antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile değerlendirilmiş ve seri dilüsyon yapılmıştır. Metanol ve hekzan ekstraktlarının 125, 250, 500, 1000 µg/mL konsantrasyonlarına göre hesaplanmış ve IC₅₀ değerleri verilmiştir. Tablo 4'de gösterilen sonuçlara göre *T. reticulatus*'un 1000 µg/mL konsantrasyonda metanol ekstresinde %7, hekzan ekstresinde %19 radikal süpürme kapasitesine sahiptir. Bunun yanı sıra metanol ekstresinin IC₅₀ değeri hekzan ekstresine göre daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 4. *T. reticulatus*' un DPPH Tablosu

Konsantrasyon	Metanol % DPPH İndirgemesi	Hekzan % DPPH İndirgemesi
125 µg/ml	0,87	2,37
250 µg/ml	1,75	4,75
500 µg/ml	3,5	9,5
1000 µg/ml	7	19
IC ₅₀ değeri	991.08	1484.86

4. Tartışma

T. reticulatus bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser özellikleri, günümüz tıbbında önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Bu bitkinin içinde bulunan biyoaktif bileşenlerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerini anlamak, ileride yeni doğal tedavi yöntemleri ve ilaçlar geliştirme potansiyelini beraberinde getirmektedir. Yapılan son araştırmalar, *T. reticulatus*'un antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser özelliklerinin, sağlık alanında önemli bir potansiyeli temsil ettiğini ortaya koymaktadır (Çöteli ve Karataş, 2015).

T. reticulatus'un yapraklarından elde edilen ekstratlar incelenerek antioksidan kapasitesi DPPH yöntemi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere dayanarak, glutatyon içeriği ile A, E ve C gibi vitaminlere odaklanılarak potansiyel besin değeri ve sağlık yararlarına vurgu yapılmıştır (Çöteli ve Karataş, 2015). Bu çalışmada ise, *T. reticulatus*'un antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile değerlendirilmiş ve farklı konsantrasyonlardaki metanol ve hekzan ekstratlarının radikal süpürme kapasiteleri belirlenmiştir. Sonuçlar, 1000 µg/mL konsantrasyonda *T. reticulatus*'un metanol ekstresinin %7, hekzan ekstresinin ise %19 radikal süpürme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, metanol ekstresinin IC₅₀ değerinin hekzan ekstresine göre daha düşük olduğu, dolayısıyla daha etkili bir antioksidan aktivite sergilediği belirlenmiştir.

Günümüzde gerçekleştirilen araştırmalara bakıldığında, *T. reticulatus* bitkisi ile ilgili yapılan çalışmaların sadece antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi üzerine olduğu, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi adına herhangi bir çalışmanın bulunmadığı görülmektedir (Çöteli ve Karataş, 2015). Bu bağlamda, *T. reticulatus* bitkisinin antimikrobiyal ve antikanser

aktivitelerinin anlamlı bir şekilde değerlendirilmesi için, *Tragopogon anaticus* ve *Tragopogon buphthalmoides* türleri gibi benzerlik gösteren diğer *Tragopogon* türlerinin incelenmesi önem arz etmektedir (Gültepe ark., 2016). *T. porrifolius* üzerinde yapılan çalışmalar, bu türün hepatoprotektif, antioksidan ve antikanser etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Tenkerian ark., 2015). Ayrıca, *T. porrifolius*'un yabancı bitki ekstraktlarının güçlü antikanser aktivite göstermesi, *T. reticulatus*'ta benzer etkilerin potansiyeline işaret etmektedir. Bu sonuca bakıldığında ise günümüzde *T. reticulatus* bitkisinin potansiyel antikanser etkileri bilim dünyasında dikkat çekmektedir. Yapılan bu çalışmada, Metanol ekstraktlarının HepG2 hücre hattında sitotoksik aktivitede öne çıktığı, hekzan ekstraktlarında ise MCF7 hücre hattında daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, *T. reticulatus*'un önemli antikanser özelliklere sahip olabileceğini göstermekte olup, bu bitkinin potansiyel terapötik uygulamalarının daha kapsamlı bir şekilde araştırılması gerektiğini vurgulamaktadır. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına bakıldığında ise, hekzan ekstraktının *B. megaterium* üzerinde en güçlü inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, *C. albicans* ve *E. coli* üzerinde inhibisyon etkisinin gözlemlenmediği belirlenmiştir. Bu bitkinin içeriğindeki biyoaktif bileşenlerin, gelecekte sağlık sektöründe yenilikçi tedavi ve ilaçlar için yeni fırsatlar sunabileceği üzerinde önemle durulmaktadır.

5. Sonuçlar

Bu çalışmada, *T. reticulatus* bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktların antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Antimikrobiyal aktivite değerlendirmelerinde, *B. megaterium* üzerinde en güçlü inhibitör etki hekzan ekstraktında gözlenirken, *C. albicans* ve *E. coli* üzerinde ise inhibitör etkinin gözlemlenmediği belirlenmiştir. Metanol ekstraktlarının HepG2 hücre hattında sitotoksik aktivitede öne çıktığı, hekzan ekstraktlarında ise MCF7 hücre hattında daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitesinde ise hekzan ekstraktının üstünlüğü gözlemlenmiştir (% DPPH İndirgemesi: Hekzan: 19 µg/ml, Metanol: 7 µg/ml). Elde edilen bulgular, bitkisel ekstraktların kanser tedavisinde adjuvan kullanım potansiyeli taşıdığını gösterirken, bu potansiyelin detaylı in vitro ve in vivo hayvan modellerinde deneylerle daha kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Bu kapsamlı çalışmalar, bitki ekstraktlarının kanser tedavisindeki gerçek potansiyelini ve güvenliğini belirleyerek, terapötik uygulamalara bilimsel bir temel sağlayacaktır.

Teşekkür

T. reticulatus'un doğal ortamından toplanmasında yardımcı olan Sayın Nihal Gülaçar'a ve bitkinin taksonomik olarak teşhisini yapan Doç. Dr. Gülten Doğan'a teşekkürlerimizi sunarız.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan etmektedir.

Kaynakça

- Arslan Atessahin D., Kadioglu Dalkilic L., Özeren Y., Dalkilic S., Cakmak K., Cicek TA. Investigation of cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activity of *Echium vulgare* L. seed. *International Journal of Nature and Life Sciences* 2023; 7(2): 129-135.
- Azizi H., Sheidai M., Mozaffarian V., Noormohammadi Z. Molecular (ISSR, cp DNA, ITS) and morphological study of the genus *Tragopogon* L. (Asteraceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* 2022; 70: 505-525
- Baykara O. Current therapies and latest developments in cancer treatment. *International Journal of Cancer Research and Prevention* 2015; 8(52): 105-156
- Baykara O. Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi* 2016; 5(3):154-165
- Bicer A. Wild plants consumed as food and medicine in Elazığ and Malatya. *Naturengs* 2022; 3(2): 18-28
- Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O., Dyatmiko W. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta* 1997; 80(4): 1144-1152
- Çötelı E., Karataş F. Yemlik (*Tragopogon reticulatus*) bitkisinin yapraklarındaki glutasyon ve vitaminler ile toplam antioksidan kapasitenin araştırılması. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2015; 5(2): 78-86
- Dalkilic S., Kadioglu Dalkilic L., Kucuktufekci M.C., Atessahin D.A., Celik A., Gulacar O., Cil A. Determination of cytotoxic, apoptotic, necrotic, antimicrobial and antioxidant activities of *Aloe vera* and *Abies cilicia* subsp. *Cilicica*. *International Journal of Plant Based Pharmaceuticals* 2023; 3(2): 165-175
- Dalkilic S., Korkmaz I., Kadioglu Dalkilic L., Akay G., Fidan S. In vitro cytotoxic effects of *Smilax aspera* L. roots on cancer cell lines. *Food Bioscience* 2022; 46: 1-10
- Dalkilic S., Kadioglu Dalkilic L., Inci S., Korkmaz I., Kirbag S. Investigation of cytotoxic effect of black mulberry (*Morus nigra* L.) fruit. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 2021; 20: 54-58.
- Dalkilic S., Kadioglu Dalkilic L., Fidan S., Timurkaan M., Uygur L., Akay G., Korkmaz İ. *Mentha pulegium* extracts showed strong antimicrobial and cytotoxic effects in vitro. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 2023; 26(6): 1291-1304
- Esmeeta A., Adhikary S., Dharshnaa V., Swarnamughi P., Ummul Maqsummiya Z., Banerjee A., Pathak S., Duttaroy A. K. Plant-derived bioactive compounds in colon cancer treatment: An updated review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2022; 153: 1-10

- Gencturk N., Ay F., Madenoglu Kivanc M. The relationship between health sciences students' cancer awareness and behavioral styles | Research Square 2023: 1-14
- Gultepe M., Coskuncelebi K., Makbul S., Terzioglu S. Taxonomic notes on *Tragopogon*, and two newly described taxa from Anatolia. *Nordic Journal of Botany* 2016; 34: 529-537
- Kadioglu Dalkilic L., Dalkilic S., Uygur L. Investigation of apoptotic, cytotoxic, and antioxidant effects of *Juglans regia* against MDA-MB-231 and A549 cell lines. *International Journal of Plant Based Pharmaceuticals* 2023; 3: 62-67.
- Kaptaner Igci, B., Aytac Z. An Investigation on the in vitro wound healing activity and phytochemical composition of *Hypericum pseudolaevae* n. sp. growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2020; 17(6): 610-619.
- Okçu Z., Kaplan B. Doğu Anadolu bölgesinde gıda olarak kullanılan yabancı bitkiler. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 2018; 6: 260-265
- Öğretmen Ö. Y. *Scilla bifolia* L. (Orman Sümbülü) bitki kısımlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences* 2022; 7(1): 9-14
- Piazzesi A., Afsar S. Y., Van Echten-Deckert G. Sphingolipid metabolism in the development and progression of cancer: One cancer's help is another's hindrance. *Molecular Oncology* 2021; 15(12): 3256-3279.
- Sari F., Ucar E. Determination of drying kinetics and color values of *Tragopogon reticulatus* boiss. dried by microwave. *Teknik Meslek Yüksekokulları Akademik Araştırma Dergisi* 2023; 2(1): 51-56
- Shin SA., Moon SY., Kim WY., Paek SM., Park HH., Lee CS. Structure-based classification and anti-cancer effects of plant metabolites. *International Journal of Molecular Sciences* 2018; 19(9): 2651-2684
- Siddiqui AJ., Jahan S., Singh R., Saxena J., Ashraf SA., Khan A., Choudhary RK., Balakrishnan S., Badraoui R., Bardakci F., Adnan M. Plants in anticancer drug discovery: from molecular mechanism to chemoprevention. *BioMed Research International* 2022: 485-503
- Tenkerian C., El-Sibai M., Daher CF., Mroueh M. Hepatoprotective, antioxidant, and anticancer effects of the *tragopogon porrifolius* methanolic extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015: 1-10
- Zheng Y., Fang YC., Li J. PD-L1 expression levels on tumor cells affect their immunosuppressive activity. *Oncology Letters* 2019; 18(5): 5399-5407.