T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

Calendula arvensis EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL VE ANTİKANSER ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

AYŞE NUR KURUHALİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU

OCAK - 2025
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Ayşe Nur KURUHALİL tarafından hazırlanan "***Calendula arvensis* EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL VE ANTİKANSER ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **14.01.2025** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Abdulhamit BATTAL Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Doç. Dr. Selçuk MEMİŞ .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Ayşe Nur KURUHALİL

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Calendula arvensis EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL VE ANTİKANSER ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

AYŞE NUR KURUHALİL

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU

Bu tez çalışmasında, *Calendula arvensis* bitkisinin çeşitli ekstraktlarının antimikrobiyal ve antikanser etkinlikleri araştırılmıştır. Bitkinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından edinilen etanol, etil asetat, etanol-su ve su bazlı ekstraktların, HeLa ve PC-3 kanser hücre hatları üzerindeki antikanser potansiyeli *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan ekstraktların, çeşitli bakteri suşları ve maya türüne karşı antimikrobiyal aktiviteleri de test edilmiştir. Çalışmada kullanılan bitki materyali maserasyon yöntemiyle elde edilmiş olup, farklı ekstraktlar çeşitli konsantrasyonlarda seyreltilerek test edilmiştir. Antikanser etkiler, hücre canlılığı testi olan MTT testi ile belirlenmiştir. Test edilen her ekstrakt, 48 saat boyunca kanser hücreleriyle muamele edilmiş ve sonuçlar ters mikroskop ile değerlendirilmiştir. Antikanser aktivite testleri, hem HeLa hem de PC-3 hücre hatları üzerinde umut verici sonuçlar ortaya koymuştur. Etanol bazlı ekstraktlar, her iki hücre hattında da diğer ekstraktlara kıyasla daha yüksek antikanser aktivite göstermiştir. Özellikle PC-3 hücre hattında IC50 değeri 172,4 µg/mL ile hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Su bazlı ekstraktlar ise, diğer ekstraktlara göre daha düşük antikanser etki göstermiştir. Bu durum, bitkisel bileşiklerin çözünürlüğünün ve ekstraksiyon yöntemlerinin, biyolojik aktivite üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Antimikrobiyal aktivite değerlendirmeleri için çeşitli bakteri ve maya suşları kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktiviteler, agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Ancak özellikle su ve etanol bazlı ekstraktların antimikrobiyal etkileri sınırlı kalmıştır. Elde edilen bulgular, bitkinin bazı biyoaktif bileşikler içerdiğini ve bu bileşiklerin özellikle kanserli hücreler üzerinde inhibitör etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur.

Sonuçlar, bitkisel ekstraktların alternatif tedavi yöntemleri ve ilaç geliştirme süreçlerinde potansiyel bir doğal kaynak olarak değerlendirilmesine olanak tanımaktadır. Gelecekte, farklı ekstraksiyon yöntemleri ve bitkisel kombinasyonlar ile bu etkinin daha detaylı incelenmesi önerilmektedir. Ayrıca, etki mekanizmalarının moleküler düzeyde anlaşılması, daha etkili tedavi stratejileri geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

ANAHTAR KELİMELER:C*alendula arvensis*, antikanser, antimikrobiyal, HeLa hücre hattı, PC-3 hücre hattı, bitkisel ekstraktlar

Ocak 2025, 58 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTICANCER EFFICACY OF *Calendula arvensis* EXTRACTS

AYŞE NUR KURUHALİL

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERIN
SUPERVISOR:PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU

In this thesis study, antimicrobial and anticancer activities of various extracts of *Calendula arvensis* plant were investigated. Anticancer potential of ethanol, ethyl acetate, ethanol-water and water-based extracts obtained from root, stem, leaf and flower parts of the plant on HeLa and PC-3 cancer cell lines was evaluated *in vitro*. In addition, antimicrobial activities of the extracts used in the study against various bacterial strains and yeast species were also tested. The plant material used in the study was obtained by maceration method and different extracts were tested by diluting them at various concentrations. Anticancer effects were determined by MTT test, which is a cell viability test Each extract tested was treated with cancer cells for 48 hours and the results were evaluated with an inverted microscope. Anticancer activity tests showed promising results on both HeLa and PC-3 cell lines. Ethanol-based extracts showed higher anticancer activity than other extracts on both cell lines. It was observed that it significantly reduced cell viability, especially in PC-3 cell line, with an IC50 value of 172.4 µg/mL. Water-based extracts showed lower anticancer effects than other extracts. This situation emphasizes the effect of the solubility of plant compounds and extraction methods on biological activity. Various bacterial and yeast strains were used for antimicrobial activity evaluations. Antimicrobial activities were determined by the agar well diffusion method. However, the antimicrobial effects of water- and ethanol-based extracts were limited. The findings revealed that the plant contains some bioactive compounds and that these compounds have inhibitory effects especially on cancer cells.

The results allow herbal extracts to be evaluated as a potential natural resource in alternative treatment methods and drug development processes. In the future, it is recommended that this effect be examined in more detail with different extraction methods and herbal combinations. In addition, understanding the mechanisms of action at the molecular level will contribute to the development of more effective treatment strategies.

KEYWORDS:C*alendula arvensis*, anticancer, antimicrobial, HeLa cell line, PC-3 cell line, plant extracts.

January 2025, 58 Page

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisansım ve tez çalışmam sürecinde benden ilgisini, desteğini, bilgi birikimini esirgemeyen, öğrencisi olduğum için şanslı hissettiğim sayın danışmanım Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU'na, tüm süreçlerimde anlayışı, verdiği destek ve gösterdiği yolla ufkumu genişleten hocam Prof. Dr. Yasemin Çelik ALTUNOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışma sürecimde bilgi birikimi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Enis Fuat TÜFEKÇİ hocama, kullanılan bitki ekstraktların temin edilmesini sağlayan Prof. Dr. Gökhan ZENGİN'e, kıymetli desteğiyle sürecimi kolaylaştıran sevgili hocam Arş. Gör. Mustafa ÖÇAL'a ve sevgili çalışma arkadaşım Kübra SEYHAN başta olmak üzere Plant Omics Reseach Lab. aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından, KÜBAP-01/2023-23 numaralı "*Calendula arvensis* Bitki Ekstraktlarının Antiviral ve Antikanser Etkinliğinin Belirlenmesi" isimli proje kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı KÜBAP'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca emeğini ve desteğini esirgemeyen, her koşulda yanımda olarak hayatımı kolaylaştıran sevgili aileme teşekkür ederim. Aldığım her kararda beni cesaretlendirip motive eden sevgili Alihan BIYIKLI'ya teşekkür ederim.

AYŞE NUR KURUHALİL

Kastamonu, 2025

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Asteraceae Familyası 2
1.2 *Calendula* Cinsi 3
1.3 *Calendula arvensis* 4
1.3.1 Fiziksel Özellikleri 5
1.3.2 Fitokimyasal İçerik 6
1.3.3 Geleneksel Tıptaki Kullanımı 6
1.4 Kanser 7
1.4.1 Rahim Ağzı Kanseri 8
1.4.1.1 HeLa hücre hattı 9
1.4.2 Prostat Kanseri 10
1.4.2.1 PC-3 hücre hattı 11
1.5 Antimikrobiyal Aktivite 11
1.6 Çalışmanın Amacı 12
2. LİTERATÜR ÖZETİ **14**
2.1 *Calendula arvensis* Türüne Ait Antikanser Çalışmalar 14
2.2 *Calendula arvensis* Türüne Ait Antimikrobiyal Çalışmalar 15
3. MATERYAL-METOT **17**
3.1 Materyal 17
3.1.1 Bitki Özütlerinin Hazırlanması 17
3.1.2 Kanser Hücre Hatları 17
3.1.3 Bakteri Suşları 18
3.1.4 Kimyasallar, Cihazlar, Sarf Malzemeler 18
3.2 Metot 20
3.2.1 Ekstraktların Çalışma Konsantrasyonlarının Hazırlanması 20
3.2.2 Hücre Kültürü 21
3.2.2.1 Hücre kültürü devamlılığı 21
3.2.2.2 MTT hücre canlılığı testi 22
3.2.3 Antibakteriyel Aktivite 23
3.2.3.1 Bakteri besiyerinin ve kültürünün hazırlanması 23
3.2.3.2 Agar kuyucuk difüzyon yöntemi 24
3.2.4 İstatiksel Analizler 24
4. BULGULAR **26**
4.1 Antikanser Aktivite Bulguları 26
4.1.1 HeLa Hücre Hattı Bulguları 26

4.1.2 PC-3 Hücre Hattı Bulguları 32
4.2 Antibakteriyel Aktivite Bulguları 38
5. TARTIŞMA 40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 53
KAYNAKLAR 54
ÖZGEÇMİŞ 58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 *C. arvensis* bitkisinin dünya üzerinde dağılımı (GCO) 5
Şekil 1.2 *Calendula arvensis* bitkisinin toprak üstü kısmı..... 6
Şekil 1.3 Tümörlü Hücrenin metastaz yaptığını gösteren şema..... 8
Şekil 1.4 Kadınlarda olay sıklığı ve ölüm dağılımı, 2022 9
Şekil 1.5 Erkeklerde olay sıklığı ve ölüm dağılımı, 2022..... 11
Şekil 4.1 Toprak üstü bölümlerinden hazırlanan etil asetat, etanol, etonol-su ve su ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48. saatte HeLa hücre hattına antikanser etkisi..... 26
Şekil 4.2 EA ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri 28
Şekil 4.3 EA ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri..... 28
Şekil 4.4 EtOH ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri..... 29
Şekil 4.5 EtOH ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri..... 29
Şekil 4.6 EtOH-Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri..... 30
Şekil 4.7 EtOH-Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri 31
Şekil 4.8 Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri..... 31
Şekil 4.9 Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri..... 32
Şekil 4.10 Toprak üstü bölümlerinden hazırlanan etil asetat,etanol,etonol-su ve su ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48. saatte PC-3 hücre hattına antikanser etkisi..... 33
Şekil 4.11 EA ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri..... 34
Şekil 4.12 EA ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri 34
Şekil 4.13 EtOH ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri..... 35
Şekil 4.14 EtOH ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri 35
Şekil 4.15 EtOH-Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri..... 36
Şekil 4.16 EtOH-Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri..... 36
Şekil 4.17 Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri 37
Şekil 4.18 Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri 37
Şekil 4.19 Antimikrobiyal aktivite testi mikroorganizmalar temsili görseli,a; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, b; *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 67101, c; *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, d; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, e*; Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 38
Şekil 4.20 Antimikrobiyal aktivite testi maya temsili görseli, Candida albicans ATCC 10231..... 39

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 Farklı *Calendula* çeşitlerinin ana bileşenleri ve içerik yüzdeleri 4
Tablo 1.2 Calendula arvensis'in bilimsel sınıflandırması 5
Tablo 1.3 *C. arvensis'in* biyolojik özellikleri..... 7
Tablo 3.1 Kullanılan bakteri suşları..... 18
Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler 19
Tablo 3.3 Çalışmada kullanılan kimyasallar..... 20
Tablo 4.1 Ekstraktların HeLa hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı değerleri..... 27
Tablo 4.2 Ekstraktların pc-3 hücre hattı üzerindeki hücre canlılık değerleri..... 32
Tablo 4.3 Ekstraktların IC50 değerleri karşılaştırması 38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	**:** Yüzde
~	**:** Yaklaşık
˚C	**:** Santigrad Derece
µg	**:** Mikrogram
µL	**:** Mikrolitre
cm	**:** Santimetre
dk	**:** Dakika
mg	**:** Miligram
mL	**:** Mililitre
mm	**:** Milimetre

Kısaltmalar

CO_2	**:** Karbondioksit
DMEM	**:** Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	**:** Dimetil sülfoksit
EA	**:** Etil Asetat
EtOH	**:** Etanol
FBS	**:** Fetal Bovine Serum
HRMS	**:** Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi
pen/str	**:** Penisilin/streptomisin
PBS	**:** Fosfat Tampon Solüsyonu
UHPLC	**:** Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

1. GİRİŞ

İnsanlar çok uzun medeniyetler boyunca tıbbi bitkilerin farmakolojik etkilerinden ve şifalı özelliklerinden yararlanmışlardır. Öncelikli olarak hastalıkların tedavi edilmesi ve öngörülebilir salgınların önüne geçilmesi olsa da tat verme amacıyla baharat ve içecek olarak, bizzat gıda ürünü olarak veya başka formlarda kullanılabilir. Bunun yanı sıra kozmetik sektörünün de vazgeçilmezidir. Bundan dolayı pek çok çeşidinden faydalanılmaktadır. Özellikle bitkilerin içerdikleri aktif bileşenlerin hastalıkların tedavisinde nasıl etkili olduğu konusunda yapılan gözlemler, bitkisel tedavi yöntemlerinin temelini oluşturmuştur.

Günümüz modern tıbbı, birçok ilaç ve tedavi yöntemini doğal kaynaklardan türetmeye devam etmektedir. Tıbbi bitkilerin bu uzun geçmişi, onların biyolojik ve kimyasal çeşitliliği sayesinde, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli bir kaynak sağlamaktadır. Doğal ürünlerin ve bitkisel bileşenlerin araştırılması, bilim insanlarına insan sağlığını iyileştirmek için daha etkili ve güvenli tedavi seçenekleri sunma fırsatı vermektedir. Dolayısıyla, tıbbi bitkilerin tarihsel önemi, sadece geçmişin bir mirası değil, aynı zamanda gelecekteki sağlık araştırmalarının da temel taşlarından biridir.

Tıbbi aromatik bitkiler, sağlık ve iyilik hali üzerinde geniş bir etki yelpazesi sunan doğal kaynaklardır. Bu bitkiler, hem geleneksel hem de modern tıpta çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Örneğin, lavanta ve nane gibi bitkiler, stres ve anksiyete yönetimi için kullanılan doğal sakinleştiriciler olarak bilinirken; zencefil ve sarımsak, sindirim sorunları ve bağışıklık sistemi destekleyicileri olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, kekik ve adaçayı gibi bitkiler, antimikrobiyal ve antiinflamatuar özellikleri sayesinde enfeksiyonların tedavisinde ve iltihapların azaltılmasında yardımcı olur. Aromaterapi uygulamalarında kullanılan bu bitkilerin esansiyel yağları, hem fiziksel hem de psikolojik sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratabilir. Ayrıca, tıbbi aromatik bitkiler, çeşitli sağlık koşullarının yönetilmesinde ve genel yaşam kalitesinin artırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Doğal bileşenlerin bu çok yönlü yararları, onları modern sağlık uygulamalarında ve günlük yaşamda vazgeçilmez kılmaktadır. Bu bitkilerdeki

tıbbi özelliklerin incelenmesi ve araştırılması güncelliğini korumaktadır (Aşkin Çelik ve Aslantürk, 2010; Albano ve Miguel, 2011).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünya genelinde 4 milyar civarında insanın sağlık problemlerini için kullandığı ilk yöntem bitkisel yöntemlerle müdahale etmek olduğunu açıklamaktadır. Üstelik çoğu gelişmiş ülkelerde reçete ile satılan ilaçların yaklaşık %25'lik kısmını bitkisel kökene sahip, vimbilastin, rezerpin, kinin, aspirin gibi etken maddeler oluşturmaktadır. Bu bitkiler, çeşitli biyolojik etkinliklere etki ettiğinden dolayı *in vitro* çalışmalardan yararlanılarak bitkilerin sahip olduğu biyolojik aktiviteye etki ettiği gözlemlenebilmektedir. Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından yapılan bir araştırmaya göre yirmi ülkeden 35.000 civarı bitki numunesi incelenerek hazırlanan 114.000 ekstraktın antikanser aktiviteleri incelenmiştir ve 1983-1994 yılları arasında dünyada onaylanmış antikanser ilaçlarından ticari olarak satılan 92 tanesinin %60'ının doğal içerikli olduğu belirtilmiştir (Shoeb, 2006). Günümüzde tıbbi bitkiler piyasasının senede 60-70 milyar dolarlık bir maliyete sahip olduğu öngörülmektedir. Türkiye'nin tıbbi aromatik bitkiler piyasasında önemli bir yer almasının sebebi coğrafi konumu, iklim ve bitki çeşitliliği, tarımsal potansiyeli, büyük yüzölçümü olarak sayılabilir. Dolayısıyla Türkiye'de bu bitkiler genellikle doğadan toplanarak dünya pazarına sunulmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler yüksek oranda olarak Ege, Marmara, Akdeniz, Doğu Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yetişmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

1.1 Asteraceae Familyası

Asteraceae yani bilinen adıyla Papatyagiller, 1.000'den fazla cinsi ve 30.000'den fazla tür çiçeği ile çiçekli bitkiler arasında en kapsamlı olandır. En bilindik bitki dizileri papatya (*Matricaria chamomilla*), karahindiba, ayçiçeği (*Helianthus annuus*), echinacea (*Echinacea purpurea*), marul olarak sıralanabilir (Rolnik ve Olas, 2021). *Compositae* olarak da bilinen bu familya, buzullar haricinde neredeyse dünyanın her yerinde farklı türleri ile yetişebilme özelliğine sahiptir. Genellikle orman yaşam alanlarında, yüksek rakımlı çayırlarda ve hatta kentsel yeşil alanlarda bulunurlar. En fazla yoğunlaştığı yer topik ve suptropik iklimlerin yarı kurak olduğu alanlardır (Ashirova, 2021).

Asteraceae bitkilerinin birçok çeşide sahip olması nedeni ile morfolojisi de çok çeşitlidir. Bazı türleri (*Dasyphyllum excelsum, Vernonia arborea* vs) 30 metreyi aşan ağaçlar iken; büyük bir bölümü ise çalı tipinde ve çok yıllık veya daha az yıllık otlardır. Yaklaşık 1-3 metre boylarındaki ayçiçeklerinden neredeyse hareketsiz formlara kadar değişim gösterir. Çoğunun farklı renklerde boyutları küçük çiçeklerin oluşturduğu düz bir kümesi bulunur (Rolnik ve Olas, 2021).

Asteraceae ailesi, içerdiği aktif bileşenler sayesinde sağlık koşullarının yönetiminde önemli bir rol oynayan bitkileri barındırır ve hem geleneksel hem de modern tıpta yaygın olarak kullanılır. Türkiye'de bu aileden birçok bitki geleneksel tedavilerde yer bulmuştur. Örneğin, *Achillea aleppica* ve *Achillea biebersteinii'*den hazırlanan çay, karın ağrısına karşı kullanılırken, *Chrysophthalmum montanum'un* kaynatılmış bitki kısımları yaralara uygulanmış ve kökleri yüksek tansiyonu düşürmek için yenmiştir. *Matricaria aurea,* bronşit, boğaz ağrısı ve öksürük tedavisinde diyete dahil edilmiş, *Notobasis syriaca* tohumları ise karaciğer hastalıklarına karşı ilaç olarak kullanılmıştır. Bu bitkiler üzerine yapılan modern araştırmalar, içeriklerindeki antioksidan ve antienflamatuar bileşenlerle sağlık üzerindeki olumlu etkilerini doğrulamaktadır (McKay ve Bulumberg, 2006; Rolnik ve Olas, 2021;).

1.2 *Calendula* Cinsi

Calendula türleri, üyeleri tıbbi ve dekoratif amaçlar için yaygın olarak kullanılan Asteraceae familyasına mensup otsu bitkilerin bir cinsidir. Bu cinste 12 farklı tür bulunmaktadır. *Calendula* cinsine ait kimyasal çalışmaları özellikle beş ana tür üzerinde yoğunlaşmıştır (Tablo 1.1). 1892-2022 yılları arasında *Calendula cinsi* için 700'den fazla bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan en ünlü ve en çok incelenen bitki 529 farklı bileşiği ile *C. officinalis* veya halk arasında bilinen adıyla saksı kadife çiçeğidir. Daha sonra bilinen 187 bileşiği ile *C. arvensis* (tarla kadife çiçeği) ve 68 bileşik ile *C. suffruticosa* (çalı kadife çiçeği)dir. Bu iki tür Orta ve Güney Avrupa'ya özgüdür; *C. stellata* veya yıldız kadife çiçeği, bilinen 27 bileşiği ile Kuzeybatı Afrika, Malta ve Sicilya'da yetiştirilir ve küçük tripter kadife çiçeği *C. tripterocarpum* İspanya, İran ve Afrika'da görülür ve bilinen 5 bileşik içerir (Olennikov ve Kashchenko, 2022).

Tablo 1.1 Farklı *Calendula* çeşitlerinin ana bileşenleri ve içerik yüzdeleri (Jan vd., 2017)

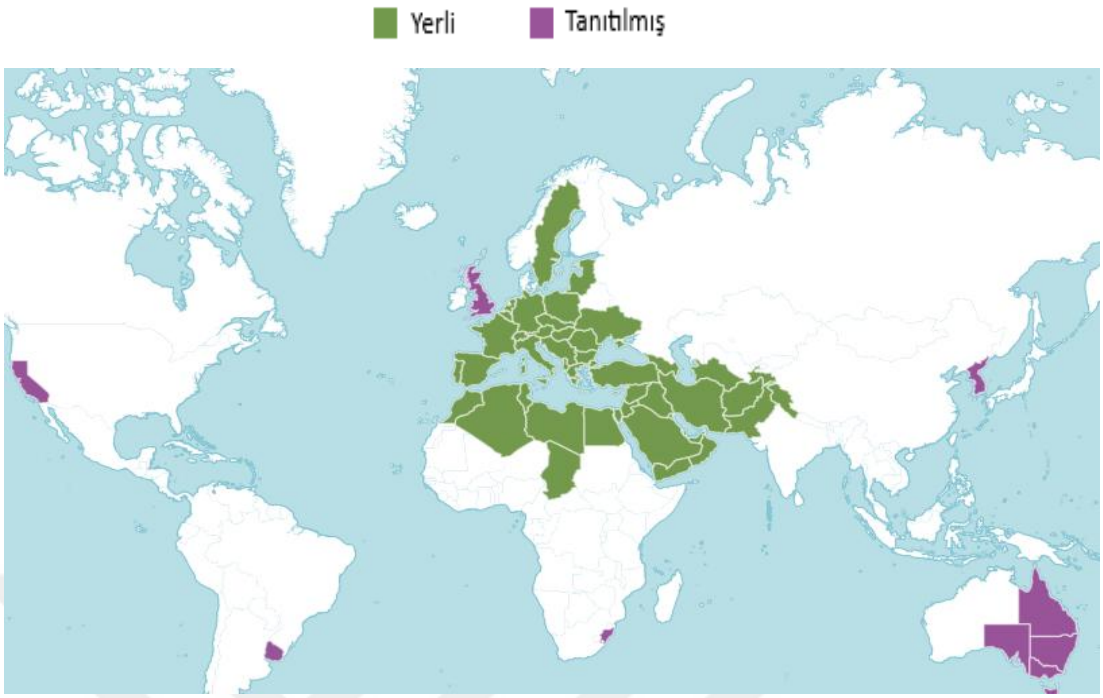
Tür	**Ana Bileşen**	**Yüzde**
Calendula arvensis	d-kandinen	15,1
Calendula suffruticosa	α-linolenik asit	24,20
Calendula officinalis	α-kadinol	64
Calendula stellata	Linalool	34,40
Calendula tripterocarpa	Fenolik bileşikler	11,22

Calendula türleri, tarih boyunca hem gıda hem de tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Yaprakları hem taze olarak salatalarda hem de kurutulmuş formda kullanılmıştır. Geleneksel olarak antispazmodik ve laksatif özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Yıldız, 2023).

1.3 *Calendula arvensis*

Asteraceae familyasının *Calendula* alt ailesine ait olan (Tablo 1.2), yol kenarları ve meyve bahçeleri gibi yerlerde yetişen, bilimsel çalışmalar sonucunda belirlenen miktarlarda, tıp ve sağlık sektöründe kullanılabilecek yararlı tedavi edici etkilere sahip kimyasal moleküller içeren tek yıllık şifalı bir bitkidir. Bu bitki hoş bir kokuya sahiptir ve içerdiği uçucu yağlar nedeniyle oldukça etkilidir (Abudunia vd., 2014).

Kadife çiçeği olarak da bilinen bu bitkinin yetiştiği bölgeler, Türkiye, Portekiz, Malta, İtalya, İspanya ve Yunanistan'ı kapsayan Güney Avrupa bölgeleri olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, Mağrip, Kafkasya ve Levant'ı içeren Akdeniz Havzası'nda da ticari olarak değerli olduğu için kullanımı yaygınlaşmıştır (Muley vd., 2009). Bu türün yetişti bölgeler Şekil 1.1’deki harita üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 1.1 *C. arvensis* bitkisinin dünya üzerinde dağılımı (GCO)

Tablo 1.2 Calendula arvensis'in bilimsel sınıflandırması

Üst Alem	Eucaryota (Ökaryotlar)
Alem	Plantae
Bölüm	Tracheophytes
Alt bölüm	Angiosperms
Sınıf	Eudicots
Alt sınıf	Asterids
Takım	Asterales
Familya	Asteraceae
Cins	*Calendula*
Tür	*C. arvensis*

1.3.1 Fiziksel Özellikleri

Aynısefa bitkisinin bir türü olan *Calendula arvensis*, 10-100 cm boyunda, dekoratif özelliklere sahip, tek yıllık, şifalı otsu bir bitkidir. Bu bitki yol ve meyve bahçeleri kenarlarında, atık alanlarda ve tarlalarda yetişir. Her yılın mart ile temmuz ayları arasında açan kadifemsi sarı ve turuncu veya sarı dikey yuvarlak çiçekleri vardır (Şekil 1.2) (Heyn vd., 1983; Rejšková vd., 2010). Yaprakları ise salgı trikomlarıyla kaplı mızrak şeklindedir (Khouchlaa vd., 2023).



Şekil 1.2 *Calendula arvensis* bitkisinin toprak üstü kısmı (URL-1, 2024)

1.3.2 Fitokimyasal İçerik

C. arvensis'in farklı bölümlerinden elde edilen uçucu yağlar ve özütlerin fitokimyasal analizleri, bu bitkinin yüksek oranda biyoaktif bileşiklere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bileşikler arasında alkaloidler, tanenler, saponinler, flavonoidler, fenolik bileşikler, steroller ve yağ asitleri gibi önemli maddeler bulunmaktadır. Özellikle *C. arvensis* çiçeklerinin özütü, linoleik asit, palmitik asit ve linolenik asit gibi yağ asitleri açısından zengindir, bu da bitkinin tıbbi değerini artırmaktadır (Khouchlaa vd., 2023). Bununla birlikte, *C. arvensis'in* biyoaktif özellikleri üzerine birçok veri olmasına rağmen, kimyasal bileşiminin detaylı bir şekilde incelenmesi konusunda hâlâ eksiklikler vardır. Özellikle, bitkinin hangi organlarının araştırıldığına dair literatürde net bilgiler bulunmamaktadır. Bitkinin çeşitli organlarının kimyasal yapısının detaylandırılması, hem gıda hem de ilaç amaçlı daha sürdürülebilir bir kullanım sağlaması açısından önem arz etmektedir. Bu kapsamda, UHPLC-HRMS teknikleri ile yapılan analizler, *C. arvensis'in* farklı organlarındaki fenol ve polifenol bileşiklerinin çeşitliliğini ve kimyasal karmaşıklığını ortaya koymuştur, bu da bitkinin potansiyel tıbbi faydalarının daha iyi anlaşılmasını amaçlamaktadır (Fiorentino vd., 2022).

1.3.3 Geleneksel Tıptaki Kullanımı

C. arvensis bitkisi geleneksel tıpta yaygın olarak birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkinin farklı kısımları, ilaç olarak kullanılmasının yanı sıra,

nörolojik rahatsızlıklar, enfeksiyon hastalıkları, KBB hastalıkları, cilt problemleri, sindirim bozuklukları, hipertansiyon ve romatizma gibi birçok duruma karşı tedavi edici etkiler göstermektedir (Khouchlaa vd., 2023). Çiçek, ilaç, kozmetik krem hatta ayna imalatında kullanılmasının yanı sıra baharat, gıda boyası ve çay yapımında da değerlendirilmektedir (Rejšková vd., 2010). Özellikle İtalya'nın bazı bölgelerinde geleneksel bir sebze olarak tüketilmekte olup, bitkinin çiçek ve yaprakları genellikle kaynatılarak yemeklerde kullanılmaktadır. Bitkisel tıpta çiçek bazlı kaynatmalar yaraları, çürükleri ve yanıkları tedavi etmekte olduğu bilinmektedir. Ayrıca, cilt sıkılığını koruma ve iltihaplanmaya karşı koruyucu etki sağlaması özelliği ile harici uygulamalarda da tercih edilmektedir. Üstelik çiçek özleri antioksidan, antikandidal, antifungal, antikanser ve antimikrobiyal etkinlik özellikleri açısından araştırılmış, elde edilen veriler bitkinin tıbbi kullanım potansiyelini ortaya koymuştur (Fiorentino vd., 2022). Tablo 1.3'te bitkinin kullanılan biyolojik özellikleri sıralanmıştır.

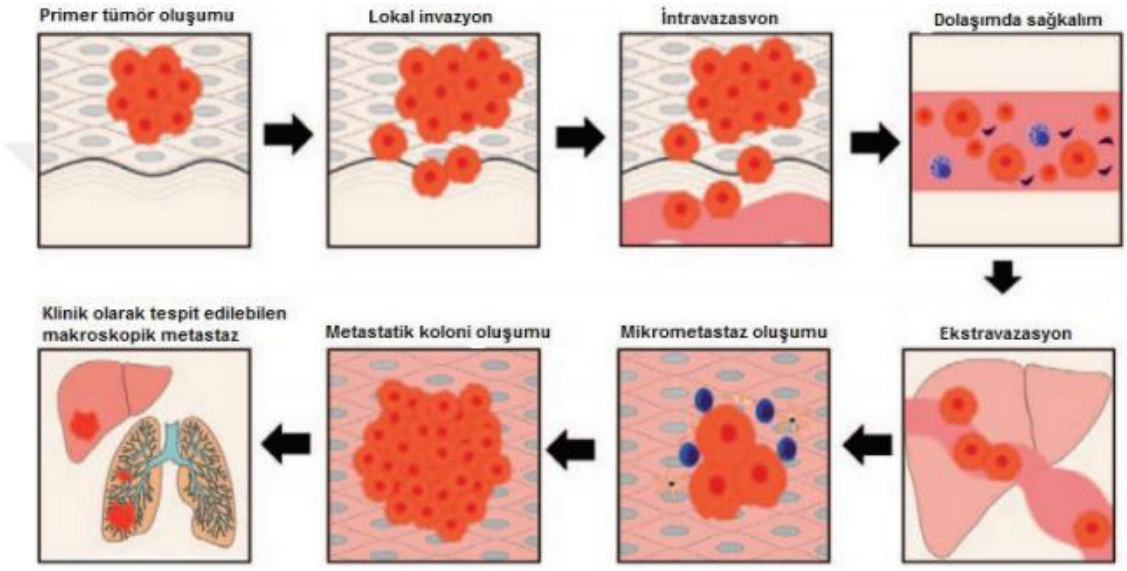
Tablo 1.3 *C. arvensis'in* biyolojik özellikleri

Calendula arvensis
Antiparaziter aktivite
Antimutajenik aktivite
Antioksidan aktivite
Antiinflamatuar aktivite
Antikanser aktivitesi
Antibakteriyel
İmmunomodülatör aktivite
Enzim inhibitör aktivitesi

1.4 Kanser

Kanser sözcüğü, Latince'deki anlamı yengeç olan 'canker' veya 'carcinos' sözcüklerinden ortaya çıkmıştır. Tümör kelimesinin terminoloji ilk kez M.Ö. 3. yüzyılda, tümörün çevresinde şişmiş damarların yengeçin kıskaçlarına benzeten Hippokrat tarafından kullanılmıştır. Yunan Doktor Galen ise şişme anlamında kullanılan 'oncos' terimini tercih etmiştir (Baykara, 2016).

Kanserin oluşması, anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve normal sınırlarının dışına çıkıp diğer hücreleri istila etmesiyle ortaya çıkıyor. Normal hücreler üremek için büyüme ihtiyacı duyarken, kanserli hücrelerde bu sistem bozularak kontrolden çıkar ve bölünmeye sürekli devam eder. Kanser yerine neoplazm veya kötü huylu tümör isimleri de kullanılabilmektedir. Diğer dokulara yayılma durumuna metastaz denir (Şekil 1.3) ve kanserin ölüme yol açmasının başlıca sebebi bu yayılımdır biridir (World Health Organization, 2024).



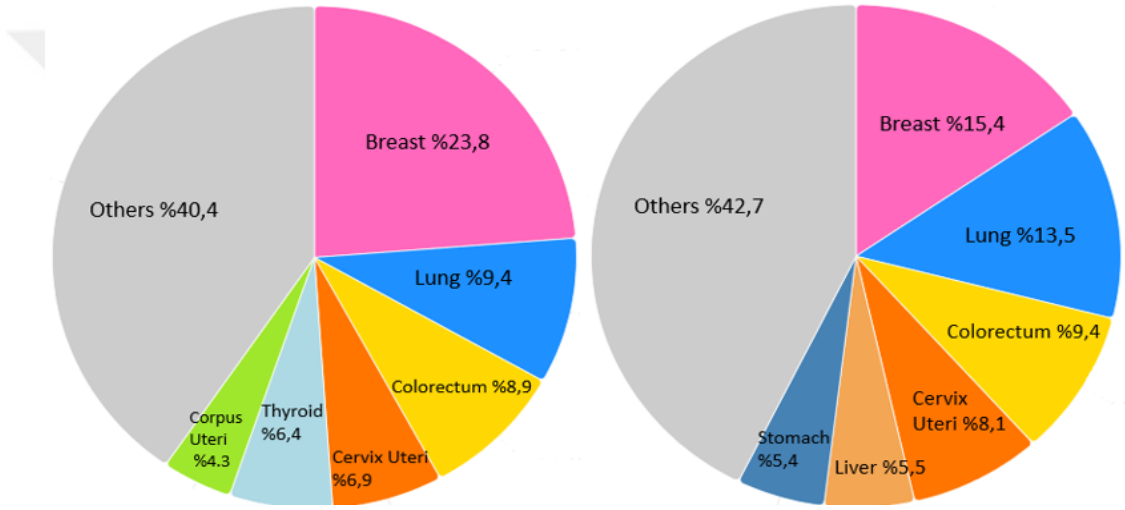
Şekil 1.3 Tümörlü Hücrenin metastaz yaptığını gösteren şema (Özkara vd., 2020)

Kanser, dünya genelinde en sık ölüme yol açan hastalıkların arasında ikinci sırada bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, 2018'den bu yana 9,6 milyona yakın insanın kanser nedeniyle hayatını kaybettiği bilinmektedir. Her yıl dünya genelinde yaklaşık 14 milyon insana kanser teşhisi konmakta ve bu hastaların 8,2 milyonu kanser nedeniyle öldüğü bilinmektedir. Bu oranın önümüzdeki 20 yıl içinde 22 milyona kadar çıkacağı öngörülmektedir. Kanseri tetikleyen maddelere genel olarak karsinojen denirken, DNA bazlarında değişen yol açan kanser oluşumunu başlatan maddelere mutajen adı verilmektedir (Çelik ve Şimşek, 2022; Yeşildal, 2024).

1.4.1 Rahim Ağzı Kanseri

Rahim ağzı kanseri, kadınların rahim ağzında (vajinadan rahme giriş yeri) gelişir. Rahim ağzı kanseri vakalarının %99 civarı, cinsel temas yoluyla bulaşan ve yüksek

risk taşıyan insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonu ile ilişkilidir. HPV, çoğu zaman iyileşip belirti göstermese de, devam etmesi durumunda rahim ağzı kanserine yol açar. Rahim ağzı kanseri, dünya geneline kadınlarda en sık rastlanan dördüncü kanser olarak bilinir(Şekil 1.4). 2022 yılında dünya genelinde elde yaklaşık 660.000 kadına rahim ağzı kanseri teşhisi konmuş ve yaklaşık 350.000 kadın bu hastalıktan dolayı hayatını kaybetmiştir. HPV aşısı birincil önleme yöntemi iken, ikincil yöntem, kanser öncesi lezyonların taranması ve tedavisidir. Teşhisin erken konulduğu ve etkili bir şekilde yönetildiği takdirde tedavide başarıya ulaşılabilen kanser türlerinden biridir (World Health Organization, 2024)



Şekil 1.4 Kadınlarda olay sıklığı ve ölüm dağılımı, 2022 (DSÖ, 2024)

1.4.1.1 HeLa hücre hattı

HeLa hücre hattı, bilimsel araştırmalar için ilk ölümsüz insan hücre hattı olarak tarihe geçmiştir. 1951 yılında Henrietta Lacks'ten alınan rahim ağzı kanseri tedavisinden türetilen HeLa, kanser biyolojisinden genetik araştırmaya kadar çok geniş bir alanda kullanılmaktadır. HeLa hücre hattı, olağanüstü değişiklikler ve hızlı üreme nedeniyle kanser hücre belirtilerinin değerlendirilmesi için ideal bir modeldir. (Callaway, 2013).

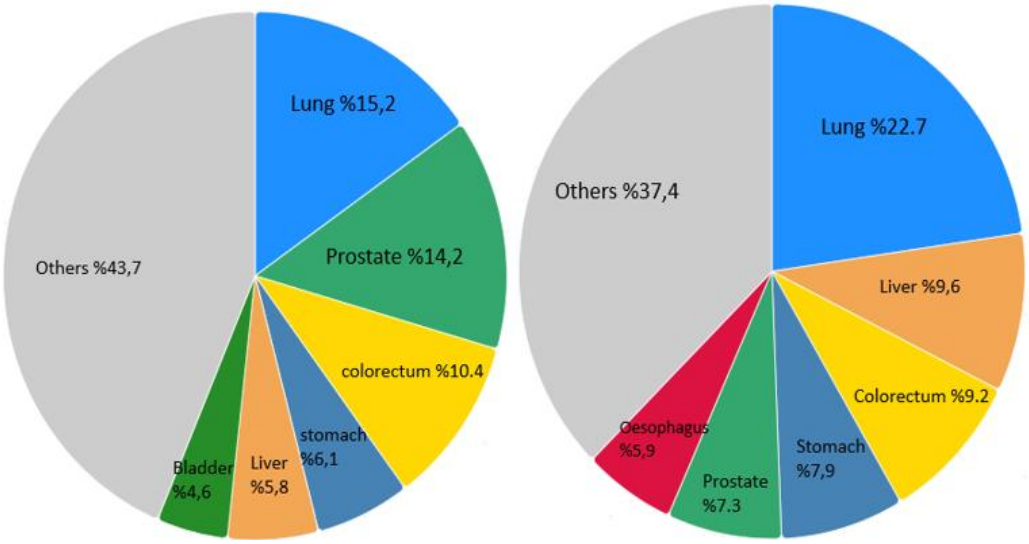
HeLa hücre hattı, araştırmada yaygın olarak tercih edilmesinin birkaç temel nedeni bulunmaktadır. Bu değiştirilmiş hızlı büyüme ve ölümsüzlük özelliğine sahiptir; bu özellikleriyle laboratuvar ortamında sürekli çoğalabilir ve yeniden kullanılabilir. HeLa değişimleri ve stabilitesi, bireylerin deneyleri uzun süre devam ettirmesine olanak tanır

ve farklı numunelerde parçaların sonuçlarının alınmasını sağlar. Ayrıca HeLa hücre hattı, insan kaynaklı ilk ölümsüz hücre hattı olduğu için genetik araştırmalar, ilaç testleri ve kanser biyolojisi gibi bölümlerde benzersiz bir model sunar. Özellikle kanser araştırmalarında tercih edilmesinin bir başka nedeni, rahim ağzı kanseri hücresinden türetilmiş olması; Böylece insan kanser modelleri üzerinde etkili tedavi yöntemleri geliştirme olanağı sunmaktadır (Callaway, 2013; Gartler, 1968). Bu avantajlar, HeLa hücre hattını biyomedikal araştırmalar için temel bir araç içinde ve bilim dünyasında büyük bir katkı sağlamıştır.

1.4.2 Prostat Kanseri

Prostat bezi, bağ dokulardan ve bez dokulardan oluşan, meniye sıvı katarak idrar yoluna itilmesini sağlayan bir dokudur. Ceviz büyüklüğünde bir bez olup, mesanenin arkasında, penisin altında ve rektumun önünde yer alır. Üretrayı, yani idrar ve spermi taşıyan penisteki tüp benzeri kanalı çevreler. Spermi koruyan, muhafaza eden ve taşınmasına yardımcı olan seminal sıvının büyük bir kısmı prostat tarafından üretilir. Bu hücre grubunun genetik veya çevresel faktörlerin etkisiyle kontrolsüz şekilde üreyerek yayılmaya başlaması prostat kanseri ile sonuçlanır (Brooke vd., 2008; Marchant, 1995; Sciarra vd., 2011).

Prostat kanseri, 65 yaş üstü her dokuz erkekten birini etkileyen ve en sık görülen hastalıklardan biridir. Özellikle 55 yaşından sonra arttığı ve 70'lerde zirveye ulaştığı bilinmektedir. Nadiren de olsa 20-30 yaşlarında bazı erkeklerde erken lezyonlar gelişebilir. Prostat Kanseri için birçok risk faktörü vardır. Bunlardan bazılarını genetik, yaş, ırk gibi temel faktörler oluşturur. Erkeklerde akciğer kanserinden sonra en fazla rastlanan ikinci kanser çeşidi olarak bilinen prostat kanseri, dünya çapında ciddi bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır (Omotade, 2023).



Şekil 1.5 Erkeklerde olay sıklığı ve ölüm dağılımı, 2022 (DSÖ, 2024)

1.4.2.1 PC-3 hücre hattı

PC-3 hücre hattı, prostat kanseri araştırmalarında sıklıkla kullanılan epitel bir hücre hattıdır. Bu hücreler, 1979 yılında bir prostat kanseri hastasından izole edilmiştir ve androjen bağımlı olmayan (androgen-independent) özellikleri ile bilinirler (Kumar vd., 2001). PC-3 hücre hattı, özellikle prostat kanserinin biyolojik mekanizmalarını ve tedavi stratejilerini incelemek için önemli bir modeldir çünkü bu hücreler, prostat kanserinin ileri evrelerinde görülen özellikleri taşır ve vücut içinde orijinal tümörün özelliklerini yansıtabilir (Yates vd, 2007). Ayrıca, bu hücre hattı, anti-kanser ajanlarının etkilerini test etmek ve yeni tedavi yöntemlerinin etkinliğini değerlendirmek için kullanılır (Hsu vd., 2013). PC-3 hücreleri, genellikle *in vitro* deneylerde kullanılır ve bu sayede prostat kanserinin moleküler biyolojisi ve tedavi hedefleri hakkında önemli bilgiler elde edilebilir (Zhao vd., 2019). Özellikle genetik ve moleküler profil analizi ile, bu hücre hattı, prostat kanserinin gelişimini ve metastazını anlamak için geniş çaplı araştırmalarda kullanılmaktadır (Smith vd., 2015).

1.5 Antimikrobiyal Aktivite

Hastalık yapıcı mikroorganizmaların büyümesini engelleyen, durduran veya yok eden kimyasal ya da biyolojik maddelere, mikrobiyal canlılar üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle antimikrobiyal maddeler denir (Yaseen, 2024). Antimikrobiyal Aktivite,

mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen ya da onları yok eden özellikler mevcut olduğunda görülür. Özellikle bitkiler, mikrobiyal enfeksiyonla karşı karşıya kaldığında korunmak amacıyla antimikrobiyal kimyasal üretilir (Evans ve Cowan, 2016).

Birçok tıbbi bitki türü, çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterebilir. Özellikle bitkisel özlerin, bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlara karşı koruyucu özelliklere sahip olduğu birçok araştırmayla kanıtlanmıştır. Antibiyotikler gibi mikroorganizmaların büyümesini engelleyen ya da yok eden antimikrobiyal maddeler, hem insan hem de hayvan sağlığında bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Bitkilerin antimikrobiyal aktivitesi ise türüne, bileşimine, konsantrasyonuna ve hedef mikroorganizmanın özelliklerine bağlıdır. Ayrıca proteinler, lipitler, tuzlar, pH ve sıcaklık gibi faktörler, fenolik maddelerin antimikrobiyal etkinliğini etkileyebilir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013; Serwecińska, 2020).

Belirli özütlerin ya da saf bileşiklerin antimikrobiyal etkilerini laboratuvar ortamında test etmek için çeşitli yöntemler mevcuttur. Bu yöntemler arasında agar disk difüzyon, agar kuyusu difüzyon ve antimikrobiyal gradyan gibi difüzyon teknikleri öne çıkar. Ayrıca, ince tabaka kromatografisi (TLC) biyootografi yöntemleri ve seyreltme teknikleri de yaygın olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kullanılan bir başka önemli gösterge, bakteri kolonilerinin büyümediği dairesel alan olan inhibisyon zonudur. İnhibisyon zonu (IZ) çapı büyüdükçe ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri düştükçe, mikroorganizmaların duyarlılığının arttığı kabul edilir (Fik-Jaskółka vd., 2024).

1.6 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada *Asteraceae* familyasına ait olan *Calendula arvensis* bitkisine ait kök, gövde, yaprak ve çiçek özütlerinden hazırlanan etil asetat, ethanol, ethanol-su ve su ekstraktlarının HeLa ve PC-3 kanser hücre hatlarının antikanser etkinliği, insan patojenlerini temsil eden bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivitelerinin

belirlenmesine ilişkin *in vitro* deneyler analiz edilerek etken maddesi olarak kullanılma potansiyelinin gözlemlenmesi hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Calendula Ailesi, içerik ve fitokimyasal özellikleri bakımında birçok kez incelenmiş ve çalışmalar yürütülmüş bitki türleridir. Bu çalışmalarla birlikte geleneksel tıbbın önemli bir parçası haline gelmiştir. Literatürde antikanser, antibakteriyel, antikandidal, antiviral ve antioksidan birçok çalışma bulunsa da birçoğu *C. officinalis* türü adına bulunmaktadır. *C. arvensis* türü için çok az sayıda antikanser ve antimikrobiyal çalışma bulunsa da bildiğimiz kadarıyla HeLa hücre hattı ve PC-3 hücre hattı ile muamele edilmiş bir antikanser çalışması bulunmamaktadır.

2.1 *Calendula arvensis* Türüne Ait Antikanser Çalışmalar

Abutaha vd. göre, *Calendula arvensis L.*'nin Meme Kanseri Hücre Hatlarına Karşı Anti-Kanser Ajanı Olarak Kullanımı" başlıklı çalışmada *C. arvensis*'in n-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol ekstrakte edilen gövde, yaprak ve çiçek kısımlarını MCF7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine karşı anti-proliferatif potansiyeli incelenmiştir. Bunun sonucunda tüm özütler arasında, en yüksek aktiviteyi çiçek etil asetat özütü (CAF EtOAC) göstermiştir. CAF EtOAC özütü, hücre büyümesini konsantrasyona bağlı bir şekilde engellenmiştir. Bu nedenle, bu sonuç CAF EtOAC özütünün her iki hücre hattında da sitotoksisiteyi indükleyebildiğini göstermektedir. MCF-7 hücrelerinde CAF EtOAC özütünün IC_{50}'sinin 70 µg/mL olduğu, MDA-MB-231 hücrelerindeki IC_{50} değeri ise 78 µg/mL olduğu belirlendi. Hekzan çiçek özütü orta düzeyde sitotoksik aktivite gösterirken, kloroform ve metanol özütleri sitotoksik aktivite göstermedi. *C. arvensis'*in yaprak ve gövdelerinden elde edilem diğer tüm çözücü özütlerinde de sitotoksik etkinliğin eksik olduğu görülmüştür (Abutaha vd., 2019).

Mithirai ve Arulvel **(**2013) yaptığı çalışmaya göre *Calendula officinalis* çiçeğinin meme kanseri hücre hatlarına (MCF-7) karşı anti-kanser etkinliği şu şekilde özetlenebilir. Yüksek lutein içeriği ile tanınan bu çiçek, TLC (ince tabaka kromatografisi) ve GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi) gibi yöntemlerle analiz edilen lutein içeren modellerde incelenmiştir. Çiçekten elde edilen asetat ekstraktı, MCF-7 meme kanseri hücre hattına karşı test edilmiştir. IC50 değeri ise 79,5

µg/ml olarak kaydedilmiştir. Bu, ekstraktın hatrı sayılır bir antikanser etki gösterdiğini ve kanserli hücrelerin azalmasında kullanılmak üzere rol alabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak bu çalışma, *C. officinalis* çiçeğinin asetat ekstraktının tümör hücresinin büyümesini engelleme etkisi olduğunu ve kanser tedavisine potansiyel bir ajan olarak varsayılabileceğini ortaya çıkarabilir.

Farklı bir çalışmaya göre ise yine *Calendula officinalis* 'in antikanser etkinliğinin meme kanseri üzerinde etkili olabileceği bir önceki çalışmada olduğu gibi içerinde bulunan Lutein ve onun epoksit formülü ile mümkün olduğu doğrulanmıştır. *Calendula officinalis* bitkisi, MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları ile analiz edilmiştir. Lutein epoksitin IC_{50} değeri, antikanser etkinliği artırmış ve buna bağlı olarak meme kanseri hücre hattına karşı yüksek doz-bağımlı antikanser özellik göstermiştir. Lutein epoksit, belirgin olarak MCF-7 hücre hattında daha güçlü etki etmiştir. Ayrıca kanserde *p53* ve *Bax* genlerinin ekspresyonunu artırarak apoptozu indüklemiş, aynı zamanda *bcl-2* gen ekspresyonunu hücrenin tükenmesi hızlandırmıştır. Kaspaz-3 proteinin seviyesinde yükseliş gözlenmiş, ancak programlanmış hücre ölüm oranlarının seviyeleri belirtilmemiştir. Test edilen resimlerin normal meme sistemi (MCF-10A) üzerinde sitotoksik etkisi daha başarılı ve kanserle karşılaştırıldığında çok daha düşük dozlarda etkili olmuş, bu da güvenli bir tedavi potansiyelini işaret etmektedir. Bu sonuçlar, *Calendula officinalis'in* meme kanseri tedavisi umut verici bir işlem olabileceğini göstermektedir, ancak etkinin epoksit formunda daha güçlü olması ve normalin gelişmesi üzerinde daha düşük şiddette parlamasıdır (Behbahani, 2014).

2.2 *Calendula arvensis* Türüne Ait Antimikrobiyal Çalışmalar

Abudunia vd., (2017) çalışmasına göre, *Calendula arvensis* çiçeklerinden elde edilen hekzan, metanol ve sulu ekstraktların antimikrobiyal etkilerini incelemiştir. Araştırmada, *Salmonella aequatoria, Salmonella braenderup, Escherichia coli* ve *E. coli* ATCC gibi bakteriler test edilmiştir. Metanol ekstraktı, özellikle *Salmonella aequatoria, Salmonella braenderup* ve *E. coli* ATCC'ye karşı güçlü bir inhibitör etki

göstermiştir; bu bakterilere karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC) ve MBC (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon) değerleri 12,5 mg/mL olarak bulunmuştur. *E. coli* suşları için MIC değeri 25 mg/mL olmuştur. Hekzan ekstraktı ise daha sınırlı bir etki göstererek, sadece *Salmonella aequatoria* ve *E. coli* ATCC suşlarına karşı 6,25 mg/mL MIC ve MBC değerlerine sahip olmuştur. Sulu ekstraktın ise özellikle *E. coli* ATCC üzerinde MIC ve MBC değerleri 12,5 mg/mL iken, diğer bakterilere karşı daha sınırlı bir etki sergilemiştir.

Mantar suşları arasında, *Candida tropicalis* ve *Candida famata* türlerine karşı metanol ekstraktı etkili olmuştur. *Candida tropicalis* 1 suşunda 14 mm, *Candida famata* 1 suşunda ise 20 mm inhibitör bölge oluşturmuştur. Ancak, hekzan ve sulu ekstraktlar mantar suşları üzerinde herhangi bir antifungal aktivite göstermemiştir. Sonuç olarak, *Calendula arvensis'in* metanol ekstraktı, bakterilere karşı bakterisidal ve mantar suşlarına karşı inhibitör etki gösteren güçlü bir antimikrobiyal ajan olarak öne çıkmıştır. Hekzan ve sulu ekstraktlar ise daha sınırlı etki göstermiş ve Candida türlerine karşı etkisiz kalmıştır. Bu veriler, özellikle metanol ekstraktının geniş spektrumlu antimikrobiyal özellikler taşıdığını ve potansiyel bir doğal ilaç kaynağı olabileceğini ortaya koymaktadır (Abudunia vd., 2017).

3. MATERYAL-METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan *Calendula arvensis* bitkisi Kastamonu ilinin Hanönü ilçesinden 18.08.2020 tarihinde toplanmıştır. Bitkiyi Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri bölümünden Dr. İsmail Şenkardeş tanımlamıştır. *Calendula arvensis* bitkisi toprak üstü bölümlerinden etil asetat (EA), etanol (EtOH) ve su ekstraktları maserasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Ekstraktlar Selçuk Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Gökhan Zengin tarafından sağlanmıştır. Maserasyon işleminde bitki örneklerinin toprak üstü bölümleri ayrılarak gölge koşullarında kurutulmuş ardından örnekler değirmen aracılığıyla toz haline getirilmiştir. Her bir bölümün ekstraktları farklı teknikler kullanılarak çıkarılmıştır. Maserasyon tekniğinde bitkisel materyalden etil asetat, etanol, etanol su ve su çözücüleri ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bitki materyalleri (5 g), oda sıcaklığında (~25˚C) 24 saat 100 mL bu çözücüler ile muamele edilmiş ve daha sonra çözücüler döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Ardından karışımlar süzülmüş ve çözücüler ayrılmıştır. Elde edilen sulu karışımlar liyofilize edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar analizler yapılıncaya kadar +4˚C'de buzdolabında saklanmıştır.

Elde edilen ekstraktların verim yüzdeleri, [(elde edilen ekstrakt / ekstre edilmek için kullanılan bitki) x 100] formülüne göre hesaplanmıştır (Abbas vd., 2021).

3.1.2 Kanser Hücre Hatları

*Calendula arvensis'*in kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının antikanser özelliği olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla iki farklı kanser için iki hücre hattı kullanılmıştır. İlk olarak rahim ağzı kanser hücresi olan HeLa kanser hücre hattı üzerinde, daha sonra ise prostat kanseri hücre hattı olan PC-3 kanser hücre hattı üzerinde çalışmalar yapılmıştır. HeLa hücre hattı Boğaziçi Üniversitesi Moleküler

Biyoloji ve Genetik bölümünden, PC-3 hücre hattı ise Selçuk Üniversitesi Biyokimya bölümünden temin edilmiştir.

3.1.3 Bakteri Suşları

Bitki ekstraktının antimikrobiyal etkisinin olup olmadığını incelemek amacıyla 6 bakteri 1 maya *(Candida albicans* ATCC 10231) olmak üzere toplam 7 suş kullanılmıştır. Bunların üçü (*Staphylococcus aureus* ATCC25923; *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC67101; *Enterococcus faecalis* ATCC29212) gram pozitif bakteri, diğer üçü ise (*Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853) gram negatif bakterilerdir. Çalışmalarda kullanılan suşlar Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Kullanılan bakteri suşları

Mikroorganizmalar	**Gram Reaksiyonu**
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Gram-pozitif kok
Staphylococcus aureus (MRSA) ATCC 67101	Gram-pozitif kok
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Gram-pozitif kok
Escherichia coli ATCC 25922	Gram-negatif basil
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	Gram-negatif basil
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Gram-negatif basil
Candida albicans ATCC 10231	Maya

3.1.4 Kimyasallar, Cihazlar, Sarf Malzemeler

Çalışmada yararlanılan tüm kimyasal, cihaz ve sarf malzemeler Kastamonu Üniversitesi'ne ait Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü bünyesindeki Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı ve Kastamonu Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait Kanser Genetiği ve Biyoinformatik Laboratuvarı'nın alt yapısında bulunan imkanlarla gerçekleşmiştir.

Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler

Ekipman Adı	**Marka/Model**
-20 / +4 oC Buzdolabı	Arçelik/4552
-80 Derin dondurucu	Nuaire/Glacier-Nu 9668E
Buz Makinası	Hoshizaki / Scotsman
Hassas terazi	Precise / XP220A
Saf su cihazı	Human Corporation Zeneer Power
Ultra saf su cihazı	Mpminipure / Dest-up
Vortex	Wise-Mix / VM-10
Çekerocak	Tezsan
Sınıf II Biyogüvenlik Kabini	Tezsan / ClassII
Test kabini	Nüve / TK-252
CO_2 İnkübatörü	Nüve / EC16
Isı Kontrollü İnkübatör	Thermo
Masaüstü Santrifüj	Nüve/ NF 800
Soğutmalı Mikrosantrifüj	Hettich/MICRO 220R
Faz Konstrast Görüntüleme Sistemli Kameralı Ters Mikroskop	Leica/DMi1
Spektrofotometre	Thermo Scientific/ Multiskan GO UV/Vis
Mcfarland Dansitometre Cihaz	Biosan / DEN-1B
Kimyasal Saklama Dolabı	Tez- San
96 Kuyucuklu Mikropleytler	Techno Plastic Products
Steril Besiyeri Kapları (90mm çaplı)	Isolab
Falkon Tüpler (50 mL ve 15 mL)	Isolab, CAPP
Eppendorf Tüpler (Cryotüp)	Isolab
Serolojik Pipetler	Biologix
Mikropipetler (tek ve çok kanallı)	Eppendorf, Thermo, CAPP, Topscien
Tek kullanımlık plastik özeler	Isolab
pH gösterge stribi	Isolab
Thoma Lamı	Marienfeld Neubauerimproved
Pamuklu eküvyon	Cultiplast/LP Italiana spa
Otoklav	Nüve/ Steam Art
Çalkalamalı Kuru Blok Isıtıcı	Biosan / TSH-100
pH gösterge stribi	Isolab

Tablo 3.3 Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	**Marka**
3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT)	Thermo Fisher Scientific
Penisilin/Streptomisin karışımı (%0,1)	Thermo Fisher
İnsülin (0,01 mg/ml)	Pan Biotech
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Isolab, Biofroxx
Fosfat Tampolu Tuz Çözeltisi (PBS)	Gibco, Thermo Fisher Scientific
Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)	Gibco, Thermo Fisher Scientific
Non-Esansiyel Amino Asit (NEAA)	Pan Biotech
Tripsin-EDTA	Gibco, Thermo Fisher Scientific
Fetal Bovine Serum (FBS)	Gibco, Thermo Fisher Scientific
Levofloksasin ve Flukonazol	Bioanalyse
Kristal viyole	Merck
Etanol (EtOH)	Tekkim
Serum Fizyolojik (Sodyum klorür)	Merck
Mueller Hinton agar (MHA)	Biolife
Mueller Hinton broth (MHB)	Biolife
Luria Bertani broth (LB)	Nzytech
Nutrient agar (NA)	Merck
Bakteriyolojik Agar (%0,5)	AppliChem
Sabouraud Dextrose Agar (SDA)	Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

3.2 Metot

3.2.1 Ekstraktların Çalışma Konsantrasyonlarının Hazırlanması

Calendula arvensis bitkisinin maserasyon yöntemiyle toprak üstü kısımlarından elde edilen Etil Asetat (EA), Etanol (EtOH), Etanol-su ve Su ekstraktlarının *in vitro* hücre canlılığı üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, ekstraktlar son konsantrasyonu 20 mg/mL olacak şekilde DMSO ve/veya steril ultra saf su ile çözülerek ana stok

çözeltileri hazırlanmıştır. Bu ana stok materyalinden yapılan seri dilüsyon ile, 10 mg/mL; 5 mg/mL; 2,5 mg/mL; 1,25 mg/mL ve 0,625 mg/mL konsantrasyonlarında çalışma stokları elde edilmiştir.

3.2.2 Hücre Kültürü

Çalışma için elde edilmiş *C. arvensis* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının rahim ağzı kanseri ve prostat kanseri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla HeLa ve PC-3 Hücre hattı üzerinde antikanser aktivitesi test edilmiştir. Bu aktivitenin belirlenmesi amacıyla 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid Mitokondriyal Dehidrogenez Enzim Aktivite Metot (MTT) ile muamele edilmiştir.

3.2.2.1 Hücre kültürü devamlılığı

Hücre Kültürünün devamlılığını sağlamak amacıyla kullanılan hücre hatları (HeLa ve PC-3) çoğaltılmıştır. Çoğaltma işleminde 1X DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) besiyeri içerisinde %10 FBS (Fetal Bovine Serum); %1 NEAA (Non-essential aminoasit); %1 penisilin/streotomisin ve %0,01 mg/ml insülin ilave edilmiş ve hazırlanan besiyeri +4°C'de saklanmıştır. Hücreler 90 mm çapındaki petriler kullanılarak %5 CO_2 koşullarında ve 37˚C'de inkübatörde muhafaza edilmiştir. Hücreleri pasajlama işlemi, petri kabındaki hücrelerin ~%70-80 civarında bir yoğunluğa ulaşması durumunda gerçekleştirilmiştir.

Pasajlama işlemi sırasında petride bulunan besiyeri sıvısı uzaklaştırılarak petri kabı 1mL 1X PBS (fosfat tampon solüsyonu) ile yıkanmıştır. Yüzeyde yapışan ölü hücre kalmaması için petriye 1 mL 1X Tripsin-EDTA eklenmiş ve enzimin aktive olması için 37°C'de %5 CO_2 standartlarındaki inkübatörde bekletilmiştir. Tripsinin hücrelere zarar vermemesi açısından 5 dakikanın sonunda çıkarılarak içerisine 1 mL DMEM besiyeri ilave edilmiş ve mikropipet kullanılarak hücreler petri kabından uzaklaştırılmıştır. Elde edilen hücreler 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmek üzere 15 mL boyutundaki falkon tüpe aktarılmıştır. Bu işlem sonrası hücrelerin üzerinde biriken süpernatant uzaklaştırılmıştır. Kalan pellete 1 mL taze DMEM besiyeri ile ile muamele edilmiştir. 8 mL'ye tamamlamak açısından 7 mL DMEM besiyeri bulunan yeni petriye

aktarılıp inkübatöre konulmuştur. Tüm hücrelerin canlılık ve büyüme kontrolu invert mikroskop kullanılarak 10X mercek altında incelenmiştir.

3.2.2.2 MTT hücre canlılığı testi

MTT testi, hücrelerin canlılık, çoğalma ve sitotoksisite durumlarını değerlendirmek amacıyla hücresel metabolizma aktivitesini ölçen bir yöntemdir. Bu kolorimetrik test, metabolik olarak aktif hücrelerin sarı tetrazolium tuzunu (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür ya da MTT) mor renkli formazan kristallerine dönüştürmesine dayanır. Pasajlama işlemlerindeki adımlar burada da tekrarlandıktan sonra hücreler kazınıp santrifüj edilerek pellet elde edilmiştir. Pellet, 1 mL taze 1X DMEM besiyeri ile çözündürülmüştür. Çözelti, 1/10 oranında seyreltilmiş ve ardından hücreler hemositometre kullanılarak ters mikroskop üzerinde sayılmıştır. Bu işlem sonucunda, süspansiyon başına düşen hücre sayısı hesaplanmıştır.

Daha sonra 96 kuyucuklu düz tabanlı mikroplakalarda, her bir kuyucukta 10.000 hücre/100 µL oranında ekim yapılmıştır. Plak, 37˚C ve %5 CO_2 ortamında 24 saat inkübatöre bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından *C. arvensis* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarına ait metanol ekstraktlarından 10 µL miktarında eklenmiş ve bu ekstraktlar ile 500 µg/mL; 250 µg/mL, 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL ve 16,12 µg/mL konsantrasyonları elde edilmiştir. Son olarak kontrol kuyucuklarına 10 µg/mL saf su eklenmiştir. Bu işlem 96 kuyucuklu mikroplakada her bir muamele için 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ardından 48 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda ters mikroskop kullanılarak 10X mercekle her konsantrasyona ait bir kuyucuğun (kontrol dahil) görüntüleri kaydedilmiştir. Sonrasında MTT solüsyonundan (50 mL'lik falkon tüp içerisinde 0,025 gram MTT + 250 µL FBS + 49,75 mL saf 1X DMEM) her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde eklenmiştir. 4 saat beklemesi için 37°C ve %5 CO_2 koşullarındaki inkibatöre alınmıştır. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra mikroplakadaki MTT uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğun içerisine 100 µL saf DMSO eklenmiştir. Formazan kristallerinin tamamen çözülmesi amacıyla 350 rpm'de ~10-15 dk çalkalanmıştır. Bu aşamadan sonra spektrofotometre yardımıyla kuyucuklardaki absorbans değeri DMSO blank kuyucuğuna karşı 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Ekstrakt eklenmiş

kuyucuklardaki hücre canlılığı kontrol kuyucuğu ile karşılaştırılmıştır. Bu deney birbirinden bağımsız olarak dört kez tekrarlanmıştır. Sonuçlar % cinsinden hesaplanarak ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı belirlendikten sonra ekstraktların IC50 değeri (hücre proliferasyonu oranında %50 azalmaya yol açan inhibitör konsantrasyonu) GraphPad Prism 8 programı kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.3 Antibakteriyel Aktivite

Antimikrobiyal etkinlik Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Test Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) önerileri doğrultusunda agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır (EUCAST, 2023) Bu yöntemde bakteri suşları ve maya türleri için uygun besiyerleri hazırlanmış, 90 mm'lik petri kaplarına dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir. Mikroorganizmaların taze kültürlerinden steril serum sonuçları (%0,9 NaCl) çözeltisi içinde, bir hücre dansitometresi kullanılarak McFarland 0,5 standardında (bakteriler için 1-2x10^8 kob/mL, mayalar için 1-2x10^6 kob/mL) inokulumlar hazırlandı. Bakteri inokulumları MHA besiyerine, maya inokulumları ise SDA besiyeri pamuklu eküvyon ile üç yönlü olarak eklenmiştir. Ayrıca petri kaplarında 6 mm'lik kuyucuklar açılmış ve bu kuyucuklara, ekstraktların 20 mg/mL sıvısındaki stok çözeltilerinden 50 µL aktarılmıştır. Pozitif kontrol olarak, *C. violaceum* ATCC 12472 suyunun bir gecelik sıvı birikiminden 50 µL; Negatif kontrol olarak ise ekstraktların çözücüsü kullanıldı. Petri kapları, 37°C'de inkübatörde 24 saat bekletilmiş, inkübasyon süresi boyunca ekstraktların oluşturduğu inhibisyon bölgeleri milimetre cinsinden ölçülerek antimikrobiyal faaliyetler değerlendirilmiştir.

3.2.3.1 Bakteri besiyerinin ve kültürünün hazırlanması

Piyasada toz şekilde satışta olan Muller Hinton Agar (MHA), Muller Hinton Broth (MHB) ve LB broth besiyerleri, üretici firmaların belirttiği tavsiyelere uygun olarak distile suda çözülüp pH değerlerinin kontrolü yapılmıştır. Hazırlanan besiyerleri 121ºC'de, 1,5 atm, 15 dakika otoklavlanmıştır. Ardından ~50ºC kadar soğutulup 90

mm çapında petri kapları içerisinde 25 mL kadar dökülmüştür. Katı kıvam almasından sonra kullanım süreci boyunca 4°C'de saklanmıştır.

Kullanılan mikroorganizmaların ve -80°C'de muhafaza edilen stoklarından agar besiyerinde canlandırma yapılmış ve saflık dereceleri kontrol edilmiştir. Daha sonra izole edilmiş kolonilerden alt kültür hazırlanmış ve deneyler bu alt kültürlerle gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.2 Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Mikroorganizma suşları canlandırıldıktan sonra (24 saat boyunca 37°C'de inkübasyon yapıldı), taze kültürlerden izole edilen koloniler serum fizyolojik içerisine alındı ve McFarland standardına uygun olarak $1x10^8$ kob/mL yoğunlukta olacak şekilde optik dansitometre ile ayarlandı. Daha sonra, mikroorganizmaların ekimi Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyeri üzerine yapıldı; maya suşları için ise Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) tercih edildi. Ekim işleminin ardından besiyeri üzerinde her biri 6 mm çapında kuyucuklar açıldı. Test maddeleri, 20 mg/mL stok çözeltilerinden alınarak her kuyucuğa 50 µL miktarında eklendi, böylece kuyucuklardaki son konsantrasyon 1000 µg/mL olacak şekilde belirlendi. Pozitif kontrol olarak, bakteriler için 100 µg/mL konsantrasyondaki levofloksasinden 50 µL alınarak kuyucuklara ilave edildi ve bu işlem sonucunda kuyucuk içindeki son konsantrasyon 5 µg olarak ayarlandı. Maya suşları için pozitif kontrol olarak, nistatin çözeltisinden 2000 ünite/mL yoğunlukta olan çözeltiden 50 µL alındı ve kuyucuklara eklenerek 100 ünite son konsantrasyon elde edildi. Negatif kontrol amacıyla su kullanıldı ve tüm bu işlemler sonrasında deneysel düzenek, gözlem için inkübasyona bırakıldı.

3.2.4 İstatiksel Analizler

Antikanser deneyleri birbirinden bağımsız olarak 4 kez tekrarlanmıştır. Hücre canlılık testi deneylerinin verileri ortalama ± standart sapmalar ile belirtilmiştir. Elde edilen verilerin grafiklerinin hazırlanmasında Microsoft Office Excel 2016 programından yararlanılmıştır. Ekstraktların IC_{50} değeri GraphPad Prism 8 programı kullanılarak belirlenmiştir. Verilerin istatistiksel analizlerini gözlemlemek için Windows IBM SPSS 23. paket programı (IBM, Armonk, NY, ABD) ve Excel 2016 programlarından

yararlanarak bağımsız grup t-testi ile gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak varsayılmıştır.

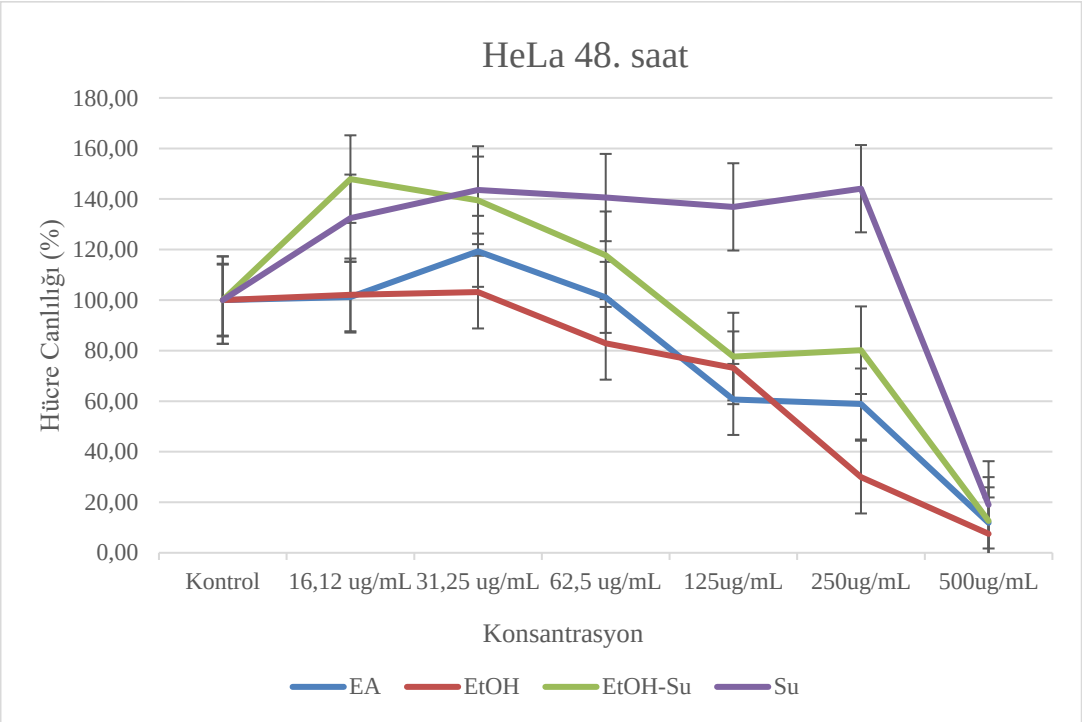
4. BULGULAR

4.1 Antikanser Aktivite Bulguları

Calendula arvensis bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek antikanser aktivitesini gözlemlemek amacıyla HeLa ve PC-3 kanser hücre hatları etil asetat, etanol, etonol-su ve su ekstraktları ile farklı konsantrasyonlarda (500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL ve 16,12 µg/mL) muamele edilerek gözlemlenmiştir. Bu konsantrasyonlardaki aktivitenin 48. saatteki etkinliğini gözlemlemek amacıyla hücre canlılığı (MTT) deneyi yapılmıştır. Sonuçlar ters mikroskopla incelenmiştir.

4.1.1 HeLa Hücre Hattı Bulguları

Bitki ekstraktlarının HeLa kanser hücre hattındaki antikanser etkinliği ve hücre canlılığı testi Şekil 4.1 ve Tablo 4.1'de verilmiştir.



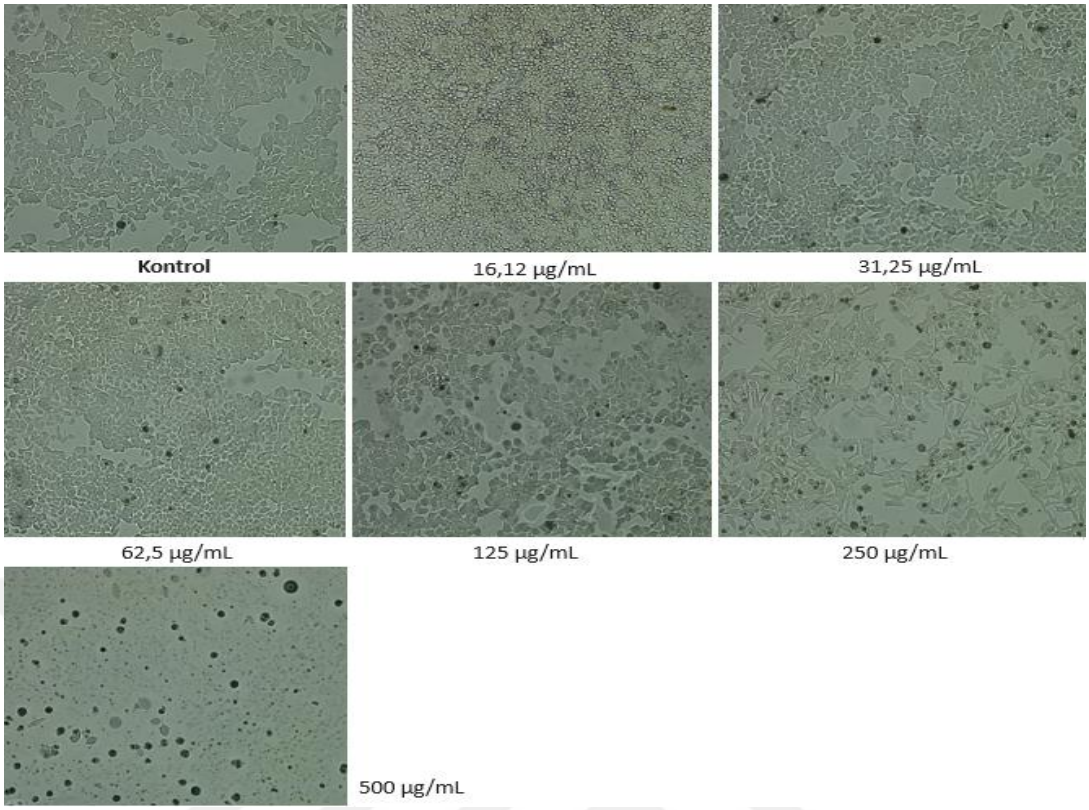
Şekil 4.1 Toprak üstü bölümlerinden hazırlanan etil asetat, etanol, etonol-su ve su ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48. saatte HeLa hücre hattına antikanser etkisi

Tablo 4.1 Ekstraktların HeLa hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı değerleri

Hücre Canlılığı (%)(*p<0,05)				
Ekstrakt	**EA**	**EtOH**	**EtOH-Su**	**Su**
Kontrol	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
16,12 µg/mL	101,19± 16,95*	102,06± 12,41*	147,87± 1,81*	132,40± 28,47*
31,25 µg/mL	119,29± 0,94*	103,17± 6,13*	139,46± 1,97*	143,59± 7,15*
62,5 µg/mL	101,07± 1,04*	82,91± 1,75*	117,74± 5,95*	140,58± 9,54*
125 µg/mL	60,69± 1,50*	73,21± 9,34*	77,65± 2,54*	136,88± 3,35*
250 µg/mL	58,88± 15,49*	29,97± 2,28*	80,17± 7,39*	144,08± 5,86*
500 µg/mL	11,87± 7,02*	7,52± 3,02*	12,62± 6,71*	18,98± 12,86*

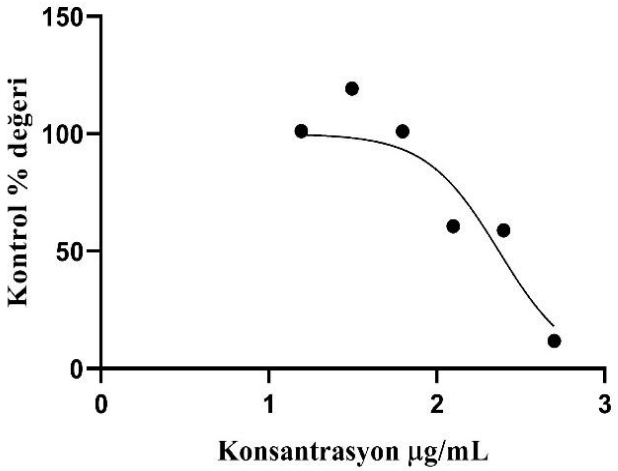
C. arvensis bitkinisinin EA ekstraktında HeLa hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %11,87'sinin; 250 µg/mL'de %58,88'inin; 125 µg/mL'de %60,69'unun canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 234,03 µg/mL olarak hesaplanmıştır. EA ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.2'de ve IC_{50} değeri Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.2 EA ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri

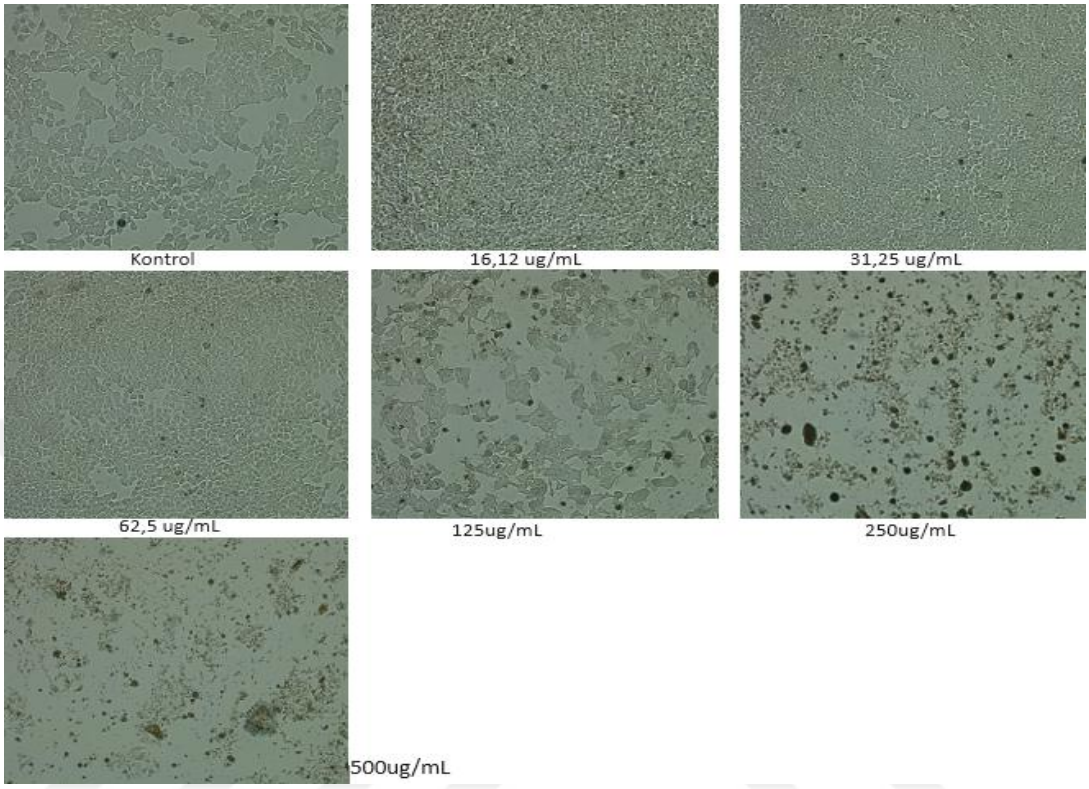
IC_{50}= 234,3 µg/mL EA



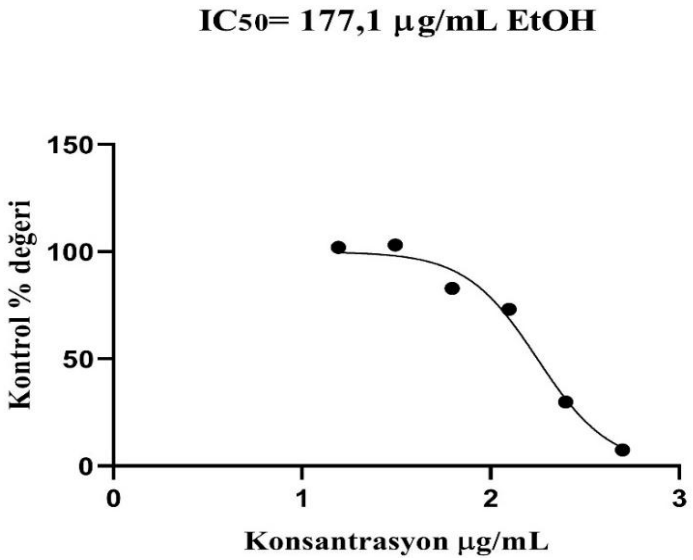
Şekil 4.3 EA ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri

C. arvensis bitkinisinin EtOH ekstraktında HeLa hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %7,52'sinin; 250 µg/mL'de %29,97'sinin; 125 µg/mL'de ise %73,21'inin canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 177,01 µg/mL olarak hesaplanmıştır. EtOH ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.4'te ve IC_{50} değeri Şekil 4.5'te verilmiştir.



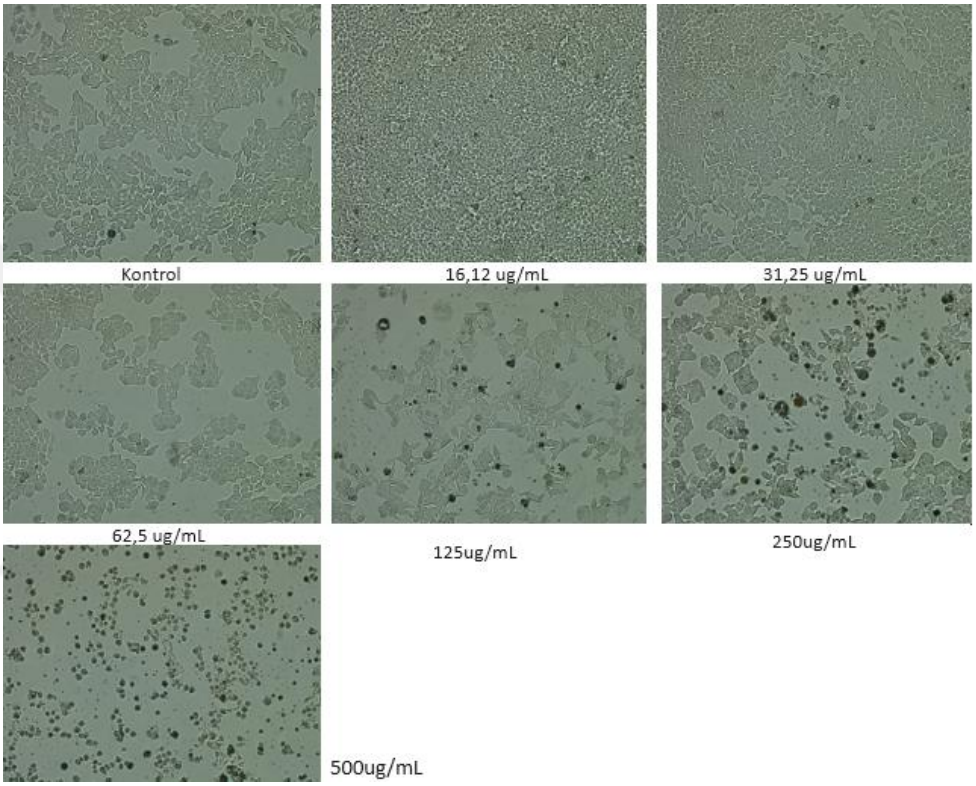
Şekil 4.4 EtOH ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri



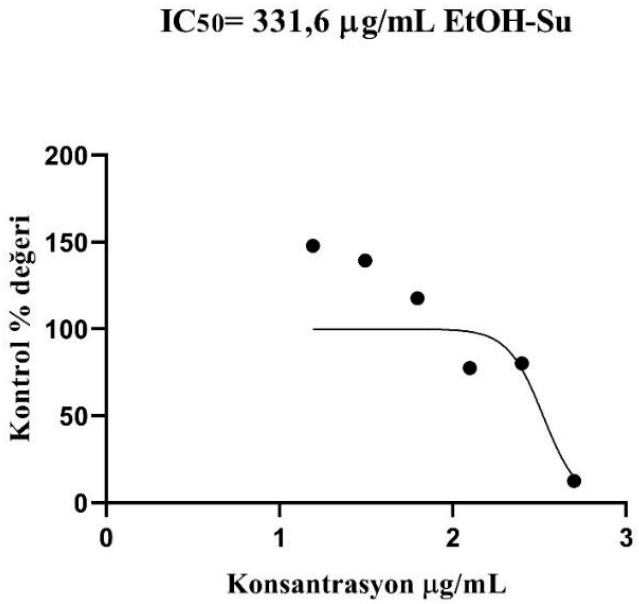
Şekil 4.5 EtOH ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri

C. arvensis bitkinisinin EtOH-Su ekstraktında HeLa hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %12,62'sinin; 250 µg/mL'de %80,17'sinin; 125 µg/mL'de ise %77,65'inin canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 331,6 µg/mL olarak hesaplanmıştır. EtOH-Su ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.6'da ve IC_{50} değeri Şekil 4.7'de verilmiştir.



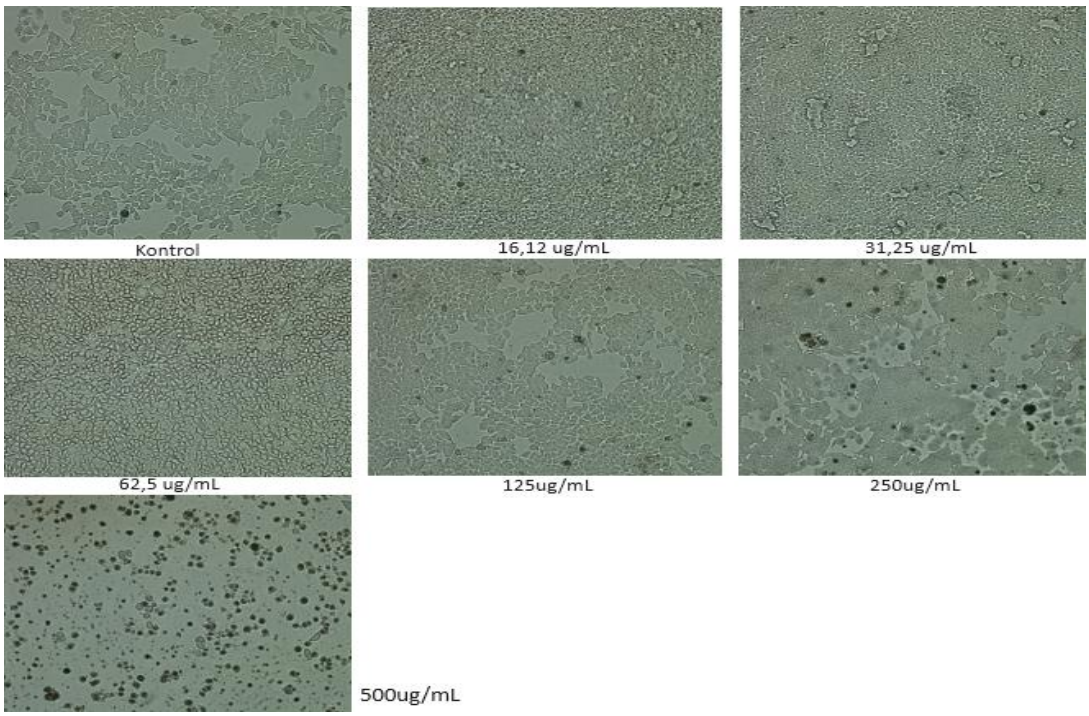
Şekil 4.6 EtOH-Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri



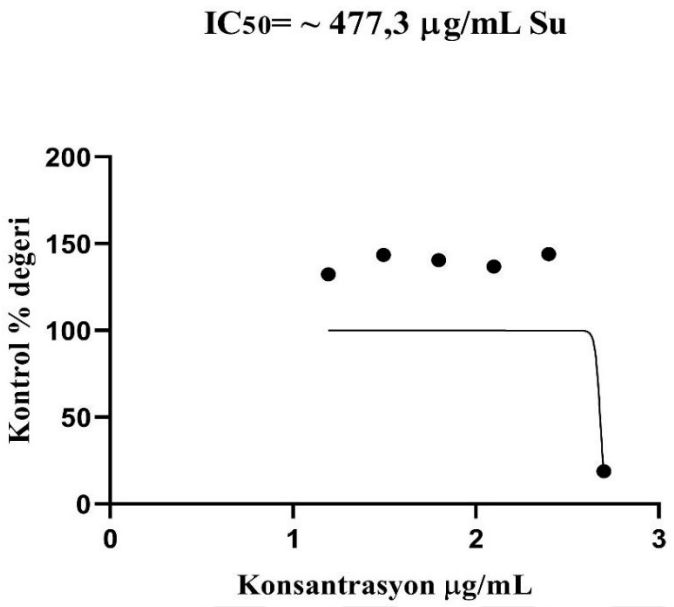
Şekil 4.7 EtOH-Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri

C. arvensis bitkinisinin Su ekstraktında HeLa hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %18,98'sinin; 250 µg/mL'de %144,08'sinin; 125 µg/mL'de ise %136,88'inin canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 477,3 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Su ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.8'de ve IC_{50} değeri Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.8 Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki morfolojik görüntüleri



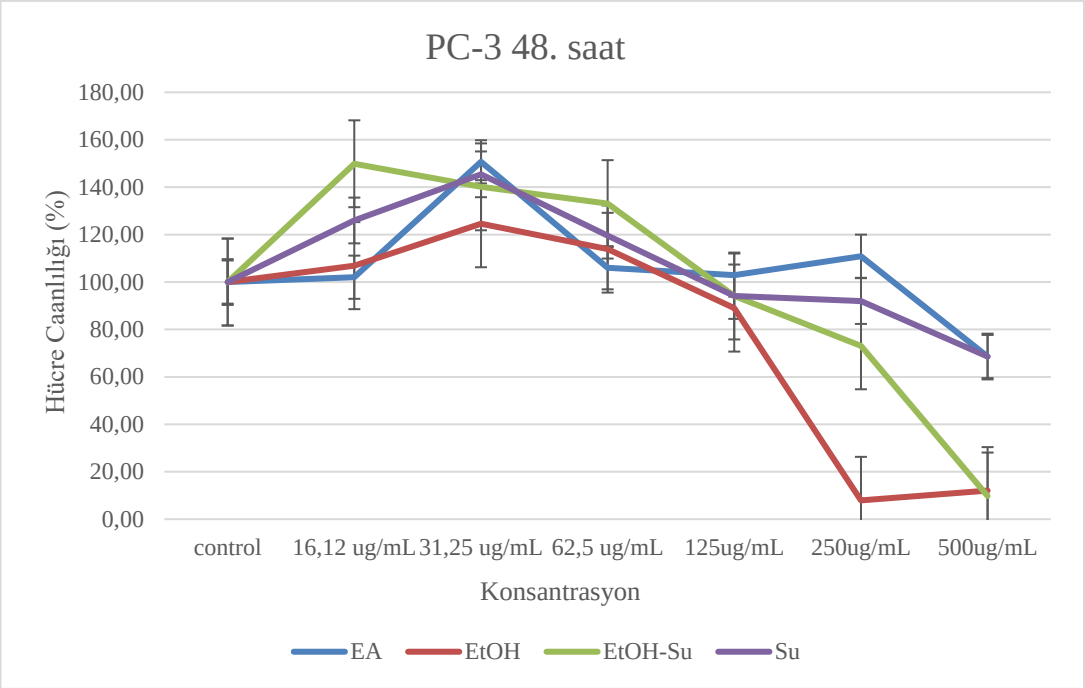
Şekil 4.9 Su ekstraktının 48. saat HeLa hücre hattındaki IC_{50} değeri

4.1.2 PC-3 Hücre Hattı Bulguları

Bitki ekstraktlarının PC-3 kanser hücre hattındaki antikanser etkinliği ve hücre canlılığı testi Tablo 4.2 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.2 Ekstraktların pc-3 hücre hattı üzerindeki hücre canlılık değerleri

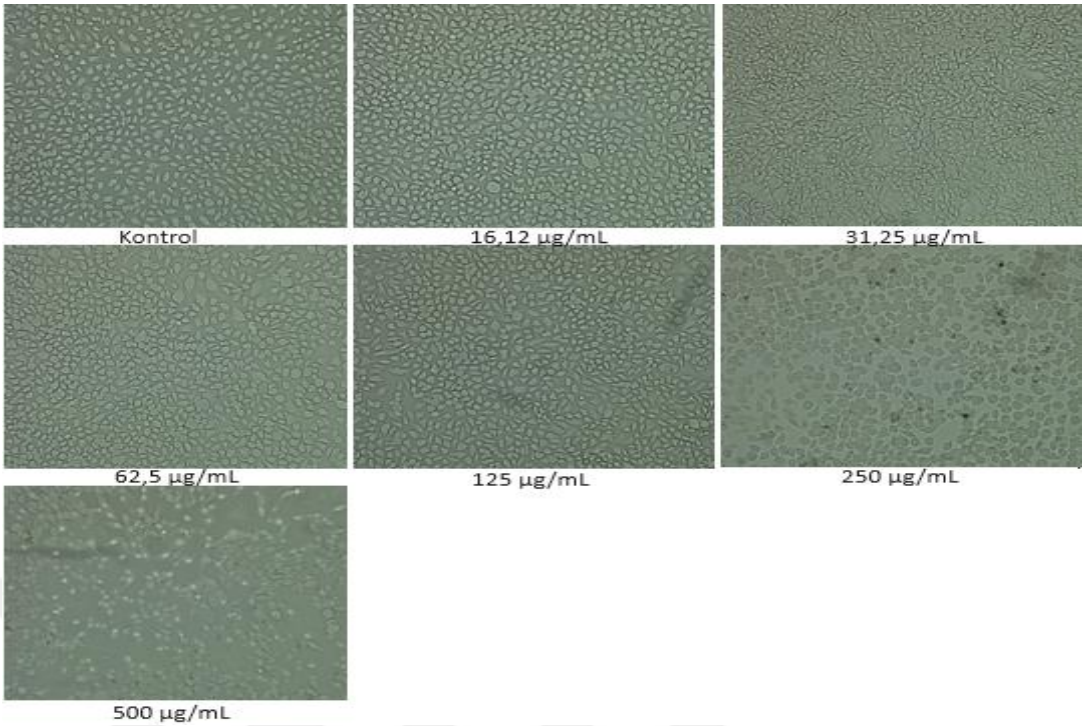
Hücre Canlılığı (%)(*p<0,05)				
Ekstrakt	**EA**	**EtOH**	**EtOH-Su**	**Su**
Kontrol	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
16,12 µg/mL	102,04± 20,51*	106,92± 15,02*	149,88± 13,75*	125,96± 21,52*
31,25 µg/mL	150,70± 6,61*	124,59± 4,80*	140,15± 18,46*	145,43± 7,79*
62,5 µg/mL	106,02± 14,47*	113,91± 17,74*	133,09± 7,93*	119,55± 16,16*
125 µg/mL	102,92± 28,10*	89,03± 23,75*	94,11± 21,32*	94,11± 39,54*
250 µg/mL	110,89± 1,85*	7,91± 1,74*	73,09± 15,56*	91,99± 19,41*
500 µg/mL	68,58± 17,84*	12,02± 12,77*	9,77± 6,09*	68,58± 4,86*



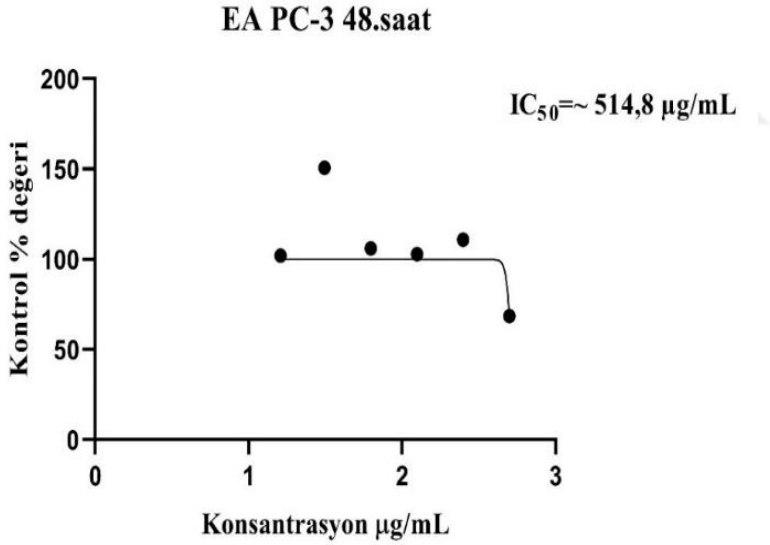
Şekil 4.10 Toprak üstü bölümlerinden hazırlanan etil asetat,etanol,etonol-su ve su ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48. saatte PC-3 hücre hattına antikanser etkisi

C. arvensis bitkinisinin EA ekstraktında PC-3 hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %68,58'inin; 250 µg/mL'de %110,89'unun; 125 µg/mL'de ise %102,92'sinin canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 514,08 µg/mL olarak hesaplanmıştır. EA ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.11'de ve IC_{50} değeri Şekil 4.12'de verilmiştir.



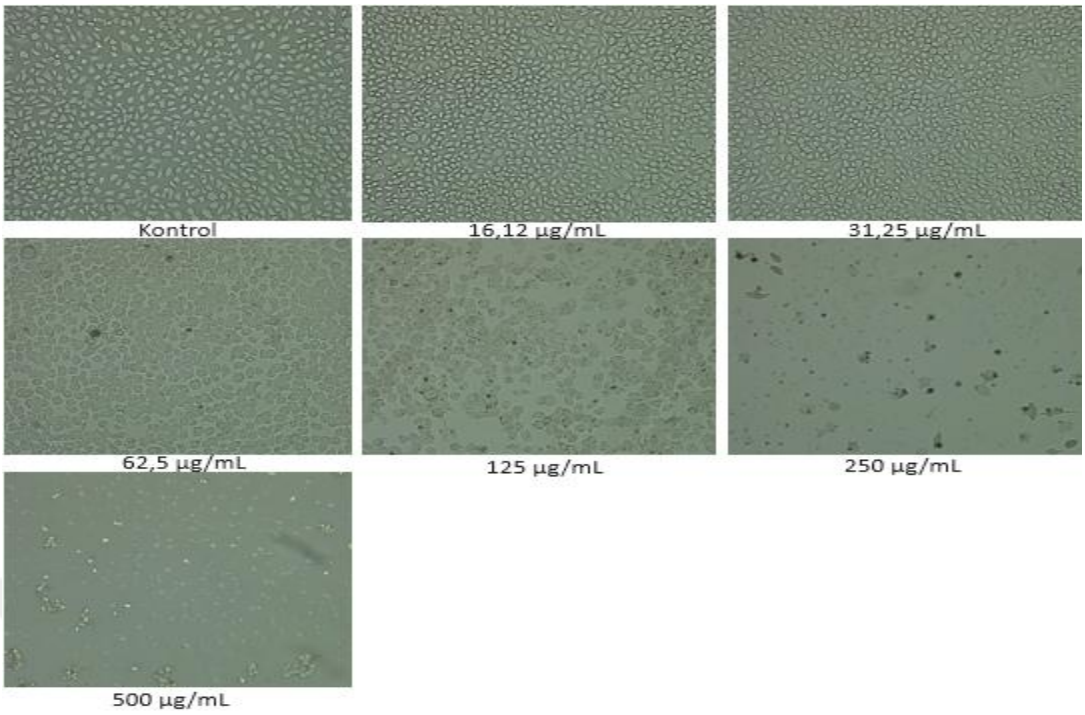
Şekil 4.11 EA ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri



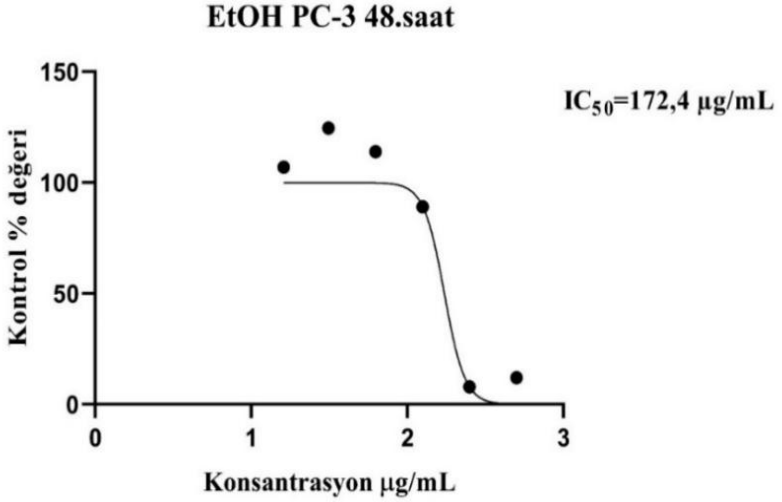
Şekil 4.12 EA ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri

C. arvensis bitkinisinin EtOH ekstraktında PC-3 hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %12,02'inin; 250 µg/mL'de %7,91'unun; 125 µg/mL'de ise %89,03'sinin canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 172,04 µg/mL olarak hesaplanmıştır. EtOH ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.13'te ve IC_{50} değeri Şekil 4.14'te verilmiştir.



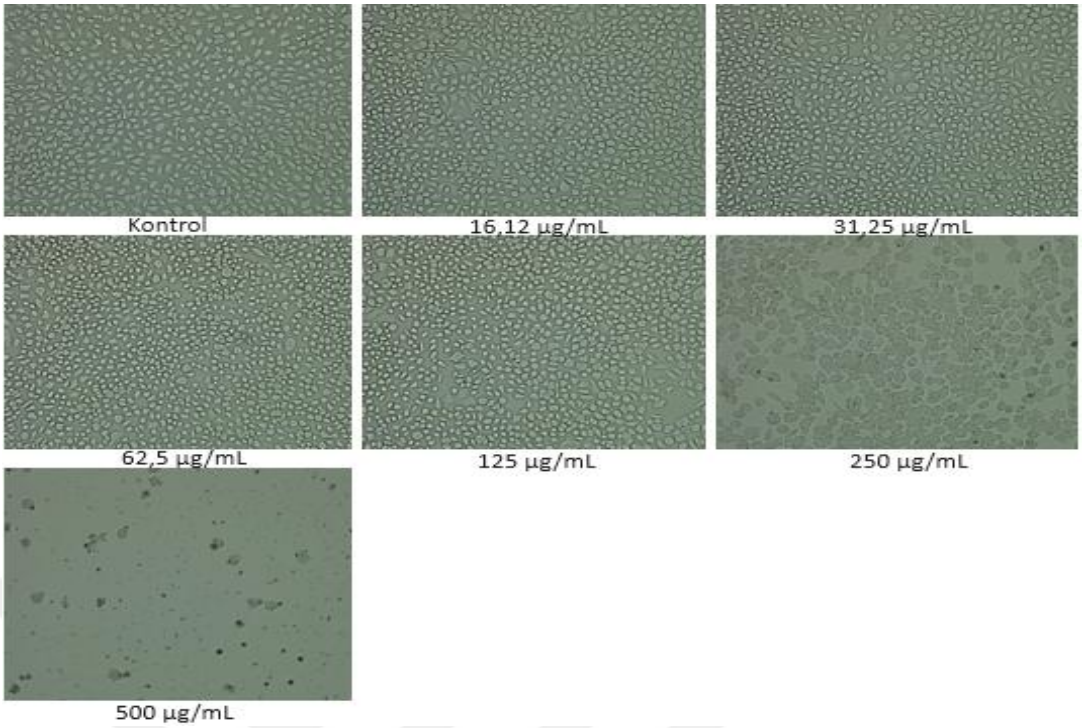
Şekil 4.13 EtOH ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri



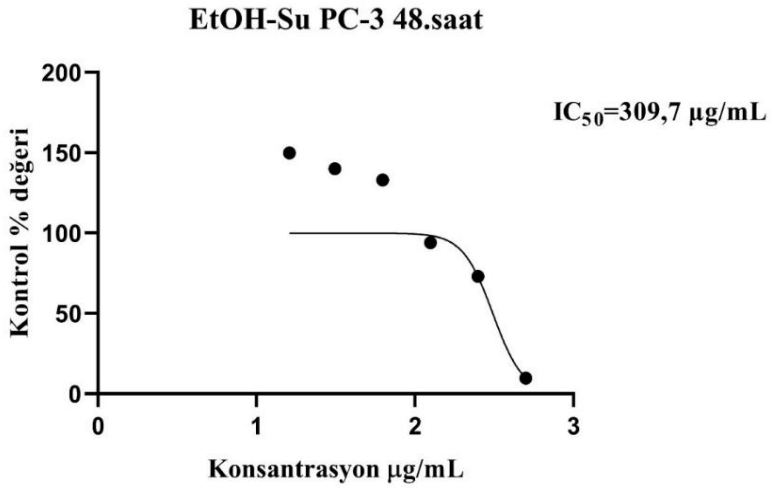
Şekil 4.14 EtOH ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri

C. arvensis bitkinisinin EtOH-Su ekstraktında PC-3 hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %68,58'inin; 250 µg/mL'de %91,99'unun; 125 µg/mL'de ise %94,11'inin canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 309,7 µg/mL olarak hesaplanmıştır. EtOH-Su ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.15'te ve IC_{50} değeri Şekil 4.16'da verilmiştir.



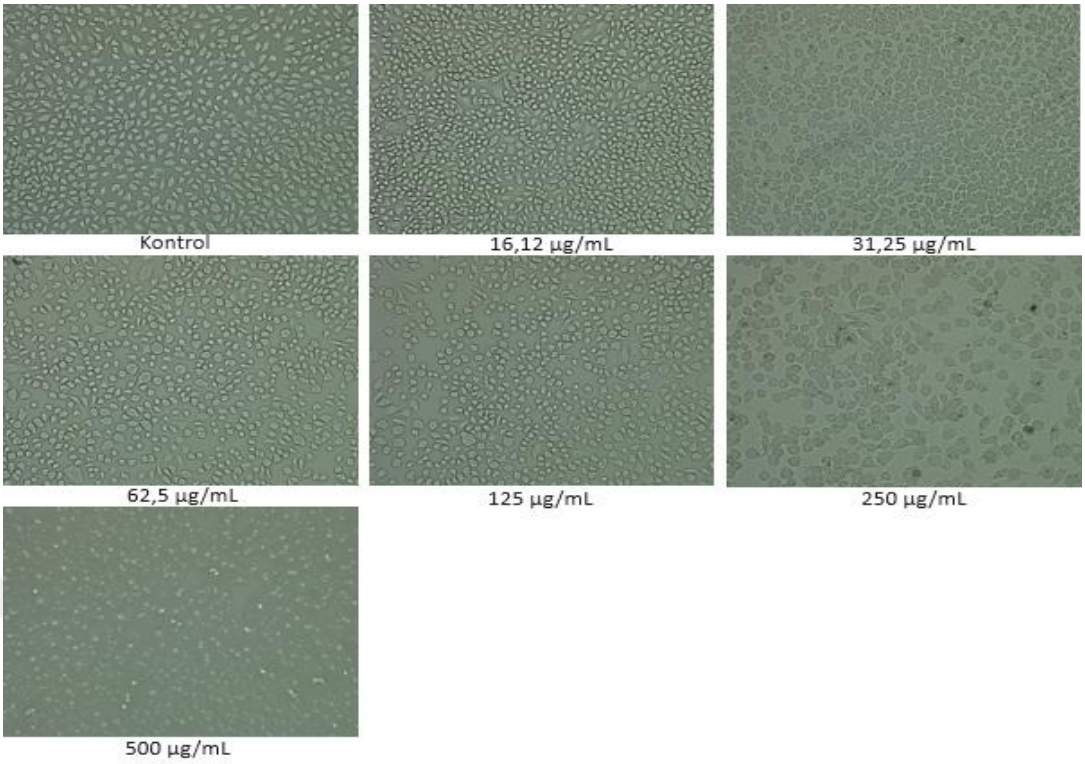
Şekil 4.15 EtOH-Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri



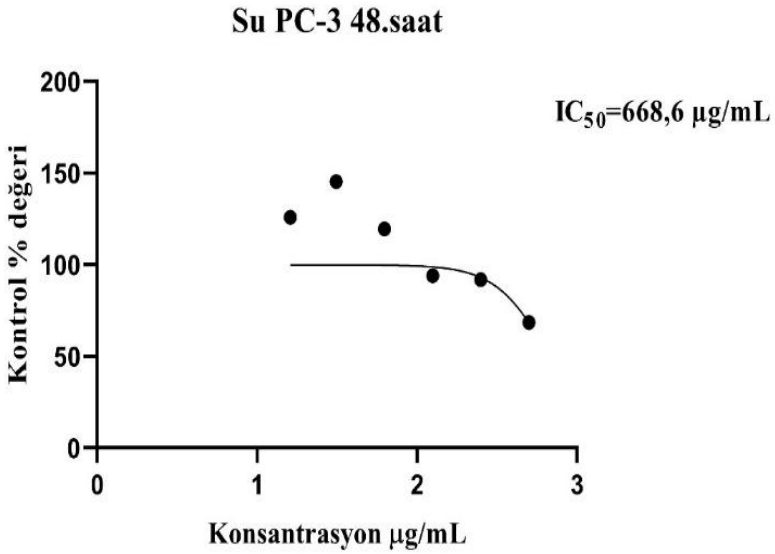
Şekil 4.16 EtOH-Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri

C. arvensis bitkinisinin Su ekstraktında PC-3 hücre hattı üzerinde 48. Saatteki aktivitesine göre 500 µg/mL'de %9,77'sinin; 250 µg/mL'de %73,09'unun; 125 µg/mL'de ise %94,11'inin canlılık oranını koruduğu gözlemlenmiştir.

IC_{50} değeri 48. saat için 668,6 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Su ekstraktının 48. saatteki hücre görüntüleri Şekil 4.17'de ve IC_{50} değeri Şekil 23'te verilmiştir.



Şekil 4.17 Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki morfolojik görüntüleri



Şekil 4.18 Su ekstraktının 48. saat PC-3 hücre hattındaki IC_{50} değeri

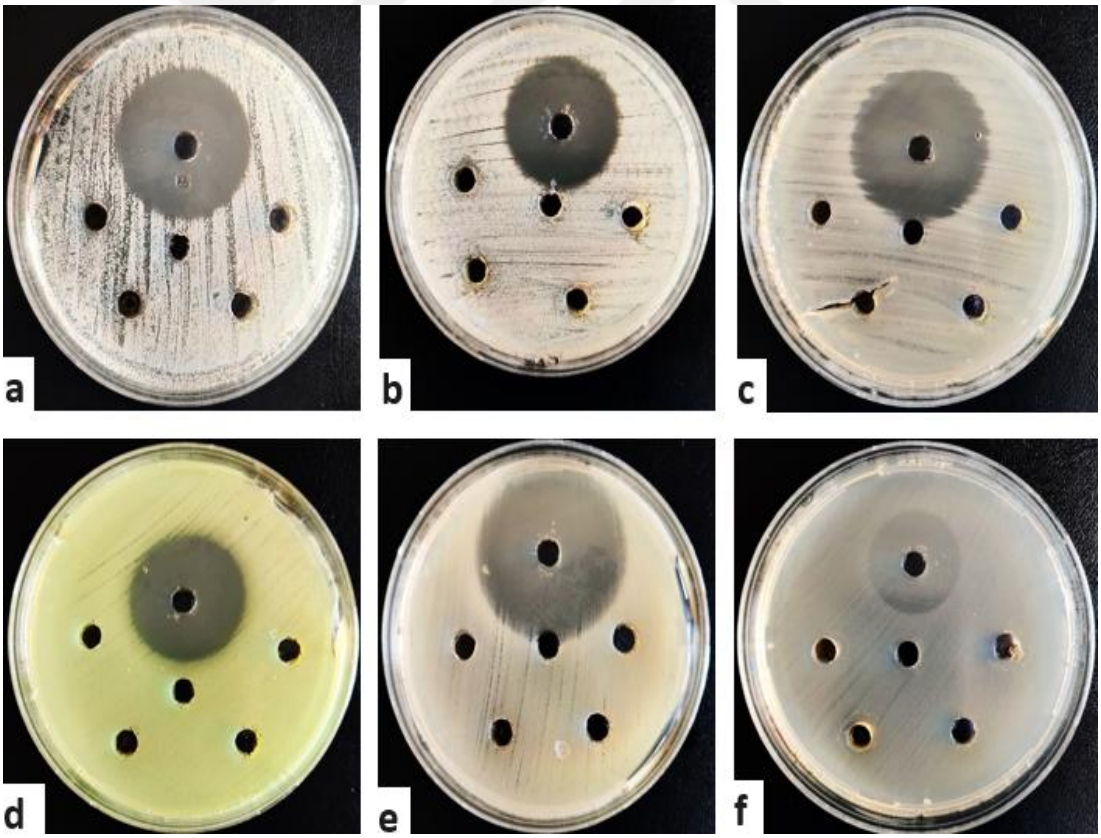
Bitki ekstraktların HeLa ve PC-3 kanser hücre hatlarına ait elde edilen IC_{50} değerleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3 Ekstraktların IC_{50} değerleri karşılaştırması

Ekstraktlar	**HeLa Hücre Hattı IC50 değerleri**	**PC-3 Hücre Hattı IC50 değerleri**
EA	234,03 µg/mL	514,08 µg/mL
EtOH	177,01 µg/mL	172,04 µg/mL
EtOH-Su	331,6 µg/mL	309,7 µg/mL
Su	477,3 µg/mL	668,6 µg/mL

4.2 Antibakteriyel Aktivite Bulguları

C. arvensis'in kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının EA, ETOH,ETOH-SU ve SU ekstraktlarının 6 adet bakteri ve 1 adet maya olmak üzere toplamda 7 suş üzerinde antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bakteri sonuçları Şekil 4.19'da, Maya için sonuç ise Şekil 4.20'de verilmiştir.



Şekil 4.19 Antimikrobiyal aktivite testi mikroorganizmalar temsili görseli,a; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, b; *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 67101, c; *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, d; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, e*; Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



Şekil 4.20 Antimikrobiyal aktivite testi maya temsili görseli, Candida albicans ATCC 10231

Antimikrobiyal Aktivite için yapılan deneyleyde Pozitif Kontrol için mikroorganizma zon çapları şu şekilde belirlenmiştir.

1. ST (*Salmonella typhimurium*): 35 mm
2. Ef (*Enterococcus faecalis*): 24 mm
3. Sa MRSA (*Staphylococcus aureus MRSA*): 31-32 mm
4. E. coli (*Escherichia coli*): 41-42 mm
5. Pa (*Pseudomonas aeruginosa*): 30 mm
6. Sa (*Staphylococcus aureus*): 34 mm
7. Ca (*Candida albicans*): 27 mm

5. TARTIŞMA

Calendula arvensis, Asteraceae (Papatyagiller) familyasına ait, parlak sarı çiçeklere sahip otsu bir bitkidir. Bu bitki, halk arasında "tarla nergisi" olarak bilinir ve özellikle Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetişir. Bitki, genellikle yol kenarlarında, tarlalarda ve çorak arazilerde bulunur. Kısa boylu, dallanan gövdesi ve hafif tüylü yapraklarıyla tanınır. *Calendula arvensis'in* yaprakları ve çiçekleri tıbbi amaçlarla kullanılmak üzere toplanır. Botanik açıdan bakıldığında, *Calendula arvensis* morfolojik olarak *Calendula officinalis'e* benziyor olsa da aralarında biyokimyasal farklar bulunmaktadır, bu da iki bitkiyi tedavi amaçlı kullanım alanları bakımından farklı kılar (Olennikov ve Kashchenko, 2022).

Bitkinin, biyolojik özellikleri sayesinde hem geleneksel hem de modern tıpta önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Çiçeklerinin parlak rengi, içerdiği karotenoidler ve flavonoidlerden kaynaklanır. Bu bileşenler sadece bitkinin estetik görünümünü sağlamakla kalmaz, aynı zamanda biyolojik aktivitesinin temelini de oluşturur. *Calendula arvensis*, tıbbi özelliklerinin yanı sıra, doğal ortamında tozlayıcılar için de önemli bir kaynak teşkil eder. Orta Çağ boyunca *Calendula* türleri, özellikle *Calendula officinalis*, yara tedavisi ve cilt hastalıkları için yaygın olarak kullanılmıştır. *Calendula arvensis* ise genellikle bitkisel ilaçlarda daha az bilinirken, yerel halk tıbbında enfeksiyonların tedavisi ve sindirim sistemi sorunlarında kullanılmıştır. Eski metinlerde *Calendula'nın* antiseptik ve antienflamatuar özelliklerinden dolayı savaş yaralarında kullanıldığı bile kaydedilmiştir (Wirth, 1891). *Calendula arvensis* ve diğer *Calendula* türlerinin kimyasal yapısı üzerine yapılan ilk çalışmalar 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. Hilger (1894); Kirchner (1892) ve Wirth (1891) gibi araştırmacılar, bu bitkilerin renk pigmentleri üzerinde çalışarak fitosteroller ve bazı esterlerin varlığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular, bitkinin biyokimyasal yapısına dair ilk bilimsel temelleri atmıştır. Daha sonraki araştırmalar, Kylin'in (1926) kadife çiçeği pigmentlerini tanımlamasıyla ilerlemiş, Zechmeister ve Cholnoky (1932) tarafından karotenoidlerin kimyasal bileşiminin belirlenmesiyle bitkinin kimyasal yapısına dair anlayış derinleşmiştir.

Günümüzde *Calendula arvensis* üzerinde yapılan araştırmalar, bitkinin antikanser, antimikrobiyal, antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerini incelemeye odaklanmaktadır. Özellikle, 20. yüzyılın ortalarından itibaren, *Calendula* türlerinin kimyasal bileşenleri üzerinde daha kapsamlı çalışmalar yapılmıştır (Olennikov ve Kashchenko, 2022). Ayrıca, modern araştırmalar *Calendula*'nın sadece geleneksel tıpta değil, aynı zamanda yara iyileşmesi, kanser tedavisi ve antimikrobiyal ilaç geliştirme alanlarında potansiyel bir kaynak olabileceğini göstermiştir.

*Calendula arvensis'*in antikanser özellikleri, bitkide bulunan biyoaktif bileşenlerin kanser hücreleri üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmalarla doğrulanmıştır. Aynı zamanda antimikrobiyal etkileri, bakterilere, mantarlara ve bazı viral enfeksiyonlara karşı geniş bir spektrumda etkinlik göstermiştir. Bitkisel tedavi yöntemlerinin modern tıpta giderek daha fazla kabul görmesi, *Calendula arvensis* gibi bitkilerin tıbbi alanda kullanılma potansiyelini artırmaktadır (Ejiohuo vd., 2024*). Calendula arvensis*'in antikanser etkileri üzerine yapılan araştırmalar, özellikle bitkinin biyoaktif bileşenlerinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemeye odaklanmaktadır. Bu bitkinin kanser tedavisi üzerindeki potansiyeli, bitkisel tedavi yöntemlerine artan ilginin bir yansıması olarak ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, *C. arvensis* ekstraktlarının kanser hücreleri üzerinde belirgin bir sitotoksik etki oluşturduğunu göstermektedir. Özellikle HeLa ve PC-3 hücre hatlarında etanol bazlı ekstraktlar, tüm ekstraktlar arasında en güçlü antikanser etkiyi göstermiştir. HeLa hücre hattında etanol ekstraktının IC_{50} değeri 177,01 µg/mL ile en düşük değer olarak belirlenmiş, bu da hücre canlılığının en fazla azaldığını göstermektedir. PC-3 hücre hattında ise etanol ekstraktının IC_{50} değeri 172,04 µg/mL olup, diğer ekstraktlarla kıyaslandığında en yüksek sitotoksik etkiye sahiptir. Buna karşılık, etil asetat, etanol-su ve su bazlı ekstraktlar daha yüksek IC_{50} değerlerine sahip olmuş, bu da onların antikanser etkilerinin nispeten daha zayıf olduğunu göstermektedir. Özellikle su bazlı ekstraktların en düşük sitotoksik etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, etanolün bitkisel bileşenleri daha etkin şekilde ekstrakte ederek biyolojik aktiviteyi artırdığını düşündürmektedir. Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin ve çözücülerin bitkisel bileşiklerin biyoyararlanımı üzerindeki etkisini

anlamaya yönelik daha fazla çalışma yapılması, *C. arvensis*'in terapötik potansiyelinin daha iyi değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

Calendula arvensis, içerdiği zengin fitokimyasal bileşenler sayesinde geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi sunmaktadır. Bitkinin antikanser, antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri, büyük ölçüde bu aktif bileşenlerin varlığına dayanmaktadır. *Calendula arvensis*'in kimyasal yapısında öne çıkan başlıca bileşenler arasında flavonoidler, karotenoidler, triterpenoidler, fenolik bileşikler ve polisakkaritler yer alır (Olennikov ve Kashchenko, 2022). Her bir bileşen, bitkinin farmakolojik etkilerini doğrudan etkileyerek çeşitli biyolojik süreçlere müdahale eder.

Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve antioksidan özellikleri ile tanınan bir polifenol grubudur. *Calendula arvensis*'teki flavonoidler, kanser hücrelerinin büyümesini engelleyerek ve mikroorganizmalarla savaşarak önemli bir rol oynar. Bu bileşenlerin hücre zarlarını koruma ve serbest radikal hasarını azaltma yetenekleri iyi bilinmektedir (Brown ve Lee, 2018). Karotenoidler ise bitkinin sarı-turuncu rengini sağlayan antioksidan bileşenlerdir. Likopen ve β-karoten gibi karotenoidler, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücresel yaşlanmayı yavaşlatır ve kanserle bağlantılı oksidatif hasarı azaltır (Zechmeister ve von Cholnoky, 1932).

Triterpenoidler, bitkinin anti-inflamatuar ve antikanser etkilerini güçlendiren bileşenlerdir. Bu bileşenler, hücre sinyal yollarını düzenleyerek inflamasyonu baskılar ve kanser hücrelerinin büyümesini engeller. Özellikle triterpenoidlerin, apoptoz sürecini hızlandırarak kanser hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü tetiklediği görülmüştür (Smith vd., 2020). Fenolik bileşikler ise güçlü antioksidanlar olarak bilinir ve oksidatif stresin azalmasına yardımcı olur. Bu bileşikler aynı zamanda DNA hasarını önler ve mikroorganizmaların hücresel yapılarına zarar vererek antimikrobiyal etki gösterir (Olennikov ve Kashchenko, 2022).

Calendula arvensis'in biyoaktif bileşenlerinin terapötik etkisi, bu bileşenlerin vücut tarafından ne kadar iyi emilip kullanılabildiği ile doğrudan ilişkilidir. Bitkisel bileşiklerin biyoyararlanımı, uygulama yöntemi, dozaj ve bileşiğin kimyasal yapısı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir. Örneğin, bitkisel bileşikler sindirim

sisteminde parçalanarak etkinliklerini kaybedebilir. Bu nedenle, araştırmalarda bileşenlerin biyoyararlanımını artırmak amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

Bu bağlamda, kullanılan ekstrakt yöntemleri oldukça önemlidir. Su bazlı ve alkol bazlı ekstraktlar, biyoaktif bileşenlerin çözünürlüğünü artırarak daha yüksek bir biyoyararlanım sağlar. Alkol bazlı ekstraktlar, fenolik bileşikler ve flavonoidler açısından daha zengin olup, bu bileşenlerin terapötik etkinliğini yükseltebilir (Ejiohuo vd., 2024). Ayrıca, nanoteknolojik yaklaşımlar da biyoaktif bileşenlerin vücutta daha uzun süre kalmasını ve hedef dokulara etkili bir şekilde ulaşmasını sağlayarak biyoyararlanımı artırabilir. Nanokapsüller ve nanoemülsiyonlar, bitkinin antikanser ve antimikrobiyal etkilerini optimize etmek için kullanılabilir (Taylor ve Thompson, 2020).

Calendula arvensis'in antikanser etkilerinin temelinde, bitkinin içerdiği biyoaktif fitokimyasallar yatmaktadır. Özellikle flavonoidler, triterpenoidler ve karotenoidler, kanser hücrelerinin çoğalmasını engellemede ve apoptozu indüklemede kritik bir rol oynamaktadır. Flavonoidler, güçlü antioksidan özellikleri ile bilinir ve hücresel oksidatif stresi azaltarak kanser hücrelerinin büyümesini inhibe eder (Brown ve Lee, 2018). Triterpenoidler ise, hücresel sinyal yollarını modüle ederek kanser hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü başlatır. Karotenoidler, hücre zarını koruyarak ve serbest radikalleri etkisiz hale getirerek kanser hücrelerinin zarar görmesini önler.

*Calendula arvensis'*in antikanser özellikleri, bitkide bulunan biyoaktif bileşenlerin kanser hücreleri üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmalarla doğrulanmıştır. Aynı zamanda antimikrobiyal etkileri, bakterilere, mantarlara ve bazı viral enfeksiyonlara karşı geniş bir spektrumda etkinlik göstermiştir. Bitkisel tedavi yöntemlerinin modern tıpta giderek daha fazla kabul görmesi, *Calendula arvensis* gibi bitkilerin tıbbi alanda kullanılma potansiyelini artırmaktadır (Ejiohuo vd., 2024*). Calendula arvensis*'in antikanser etkileri üzerine yapılan araştırmalar, özellikle bitkinin biyoaktif bileşenlerinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemeye odaklanmaktadır. Bu bitkinin kanser tedavisi üzerindeki potansiyeli, bitkisel tedavi yöntemlerine artan ilginin bir yansıması olarak ortaya çıkmıştır.

Abutaha vd. 2019 yılında gerçekleştirdiği bir çalışma, *Calendula arvensis*'in meme kanseri hücre hatları üzerindeki etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. Çalışmada, bitkinin etil asetat ekstraktı hem pozitif MCF-7 hem de üçlü negatif MDA-MB-231 kanser hücre hatlarında önemli sitotoksik etkiler göstermiştir. IC50 değerleri sırasıyla 70 µg/mL ve 78 µg/mL olarak belirlenmiş ve ekstraktın hücre küçülmesi, nükleer parçalanma ve kaspaz 3/7 aktivasyonu ile apoptozu indüklediği tespit edilmiştir. Ayrıca, pro-apoptotik *Bax* proteininin yükseldiği ve anti-apoptotik *Bcl-2* proteininin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu veriler, bitkinin antikanser etkilerinin mekanik temelini açıklamada önemli bir rol oynamaktadır.

Abutaha vd. yaptığı çalışmada, *Calendula arvensis* ekstraktının hücre göçünü engelleyerek metastaz önleme potansiyeli gösterdiği tespit edilmiştir. Etil asetat ekstraktının, meme kanseri hücre hatlarında hücre canlılığının %50 oranında düştüğü (IC50 değeri 70 µg/mL ve 78 µg/mL) görülmüştür. Bu sonuç, bitkinin kanserin yayılmasını engelleyebileceği ve metastatik kanserlerde etkili olabileceği anlamına gelmektedir. Bahsedilen çalışma ile eldeki veriler apoptoz ve hücre göçünün engellenmesi yönünden karşılaştırıldığında, etil asetat ekstraktının bu şekilde uygulandığında apoptozu indüklediğini ve hücre çoğalmasını engellediğini göstermektedir. Bu çalışmanın verileri ise, ekstraktlarının HeLa ve PC-3 hücre hatları üzerindeki antikanser potansiyelleri gözlemlenmiştir. Bu tip özellikle HeLa hücre hattında, 500 µg/mL konsantrasyonda etil asetat ekstraktının yüksek bir inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir. Apoptoz oranları ayrıntılı olarak incelenmemiş olsa da, hücre canlılığı üzerindeki inhibitör etkisinin güçlü olması, apoptoz sürecini destekleyebileceğini düşündürmektedir.

Her iki çalışma da, *C. arvensis'*in bitkisel tabanlı antikanser ajanlar için potansiyel bir kaynak olarak kullanılabileceğini desteklemektedir. Ancak hastalığın farklı kanser türleri ve hücre hatları ile görülmesi, merkezde geniş çapta kanser görünümüne karşı etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu karşılaştırma, *C. arvensis'*in kanser araştırmaları ve bitkisel tedavi potansiyelini ortaya çıkardığını ve ileri araştırmaların farmasötik uygulamalara katkı sağlayabileceğini işaret etmektedir.

Calendula arvensis'in antikanser etkileri büyük ölçüde apoptozun indüklenmesi ile açıklanmaktadır. Apoptoz, programlanmış hücre ölümü süreci olarak tanımlanır ve kanser hücrelerinin kontrolsüz büyümesini önlemede kritik bir rol oynar. Bu süreçte, hücre içi sinyaller, mitokondriyal yolaklar aracılığıyla apoptozu başlatır ve böylece hücre ölümü meydana gelir (Johnson vd., 2019). *Calendula arvensis* ekstraktının apoptoz üzerindeki etkileri, özellikle Bax/Bcl-2 oranının artmasıyla açıklanabilir. Bax, hücre ölümünü destekleyen bir protein iken, Bcl-2, hücreleri apoptoza karşı korur. Dolayısıyla, Bax seviyesinin artması ve Bcl-2 seviyesinin düşmesi, kanser hücrelerinin ölümüne yol açar.

Calendula arvensis'in kanser hücreleri üzerindeki bir diğer önemli etkisi, hücre döngüsünü durdurma yeteneğidir. Hücre döngüsü, hücrelerin bölünme ve çoğalma süreçlerini düzenleyen bir mekanizmadır ve kanser hücrelerinin kontrolsüz büyümesinde bu döngünün bozulması kritik rol oynar. Yapılan araştırmalar, *Calendula arvensis*'in özellikle G2/M fazında hücre döngüsünü durdurduğunu ve kanser hücrelerinin bölünme kapasitesini azalttığını göstermektedir (Smith vd., 2020). Kanser tedavisinde potansiyelini artıran bir diğer özellik ise, metastazı engelleme kapasitesidir. Metastaz, kanser hücrelerinin birincil tümörden ayrılarak vücudun diğer bölgelerine yayılması anlamına gelir ve kanserin en ölümcül aşamalarından biridir.

Başka bir çalışmada *Calendula arvensis*'in metanol ekstraktlarının insan kalp kanseri hücre hattı (HepG2) üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Metanol ekstraktlarının, HepG2 hücre canlılığını %16,7 oranında azalttığı, bu da orta düzeyde bir antikanser potansiyeli sergilediğini göstermektedir. Ekstraksiyon işlemi, bitki türünün öncelikle hekzan ile yağdan arındırılması, ardından 72 saat boyunca metanol ile ekstraksiyonunu içermektedir. Sito dayanıklılık testleri MTT yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve sonuçlar, merkezi kanser değişimi canlılığını azaltma potansiyelini doğrulamıştır. Ayrıca bu bitkiler farklı bitki türlerinin metanolik özütlerinin biyolojik ayrıntıları ayrıntılı bir şekilde karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte, *C. arvensis*'in spesifik fitomoleküllerinin üretimi ve biyolojik aktivitelerinin detaylandırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Khan vd., 2022)

Calendula arvensis'in kimyasal bileşenleri klinik açıdan büyük önem taşımaktadır. Bu bileşenler özellikle yara iyileşmesi ve enfeksiyonların tedavisinde önemli roller oynar. Bitkisel tedavilerde, bu bileşiklerin sinerjistik etkileri farmasötik ajanlara olan ihtiyacı azaltabilir ve daha doğal tedavi seçeneklerini teşvik edebilir. Bununla birlikte, bu kimyasal bileşenlerin insan vücudundaki etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için kapsamlı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Calendula arvensis bitkisinden elde edilen demir nanoparçacıkları (FeNPs), sitotoksik ve antioksidan özellikleri nedeniyle dikkat çekici bir biyomateryal olarak araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda, FeNPs'nin insan kolanjiyokarsinoma hücre hatları (HCM-CSHL-0174-C22; CCLP-1; QBC939) üzerinde MTT testi kullanılarak sitotoksik etkileri incelenmiş ve hücre canlılığının konsantrasyona bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Bu testlerde IC50 değerleri sırasıyla 196; 237 ve 278 µg/ml olarak kaydedilmiştir. Bu bulgular, FeNPs'nin kanser hücrelerine karşı etkili olduğunu ve seçici bir şekilde normal hücrelere zarar vermediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, FeNPs'nin antioksidan etkileri DPPH serbest radikal testi ile değerlendirilmiş ve IC_{50} değeri 117 µg/ml olarak belirlenmiştir. Referans olarak kullanılan BHT'nin (butillenmiş hidroksitoluen) IC_{50} değeri ise 88 µg/ml olarak kaydedilmiştir. FeNPs'nin bitkisel kaynaklardan elde edilmesi, antioksidan özelliklerin doğal yollarla sağlanması açısından avantaj sağlamaktadır (Zhao vd., 2022).

Özet olarak, *Calendula arvensis*, kanser hücrelerine karşı güçlü sitotoksik etkilere ve serbest radikallere karşı yüksek antioksidan aktivitelere sahip olup, bu bulgular nanoteknoloji ile bitkisel özütlerin kanser tedavisinde ve antioksidan savunma sistemlerinde kullanım potansiyelini ortaya koymaktadır (Zhao vd., 2022).

Bitkinin kolon ve prostat kanseri gibi kanser türlerine karşı da etkili olduğu bilinmektedir. Prostat kanseri hücre hatları üzerinde yapılan bir çalışmada, bitkinin özütlerinin hücre çoğalmasını baskıladığı ve prostat kanseri hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü indüklediği bildirilmiştir (García ve Torres, 2021). Benzer şekilde, kolon kanseri hücre hatları üzerinde yapılan deneyler, bitkisel özütün kolon kanseri hücrelerinin büyümesini anlamlı şekilde engellediğini göstermiştir. Bu bulgular,

Calendula arvensis'in farklı kanser türlerine karşı geniş bir yelpazede etkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

Calendula arvensis'in antikanser etkileri üzerine yapılan bu araştırmalar, bitkinin gelecekte kanser tedavilerinde destekleyici bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bitkinin biyolojik aktivitesine yönelik daha fazla klinik çalışma yapılması gerekmektedir. Özellikle, bitkinin farmakokinetik özellikleri, dozaj ayarlamaları ve insan vücudundaki etki mekanizmalarının daha detaylı incelenmesi gerekmektedir (Taylor ve Thompson, 2020). Bu bağlamda, *Calendula arvensis*'in mevcut kemoterapötik ilaçlarla birlikte kullanılma potansiyeli, tedavi süreçlerine önemli katkılar sağlayabilir.

Calendula arvensis, antimikrobiyal özellikleri ile de dikkat çekmektedir. Bitkisel ilaçlarda geniş bir şekilde kullanılan bu bitki, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler üzerinde belirgin bir etki göstermektedir. Bunun yanı sıra, antifungal ve antiviral özellikleri de yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Bitkinin antimikrobiyal etkileri genellikle içerdiği flavonoidler, terpenoidler ve fenolik bileşiklerle ilişkilendirilir (Martin vd., 2022). Antimikrobiyal ilaçlara karşı direncin giderek artması, yeni ve doğal antimikrobiyal kaynakların önemini artırmış ve *Calendula arvensis* gibi bitkilerin potansiyel bir çözüm sunabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, *Calendula arvensis* ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi de test edilmiş, ancak belirgin bir inhibisyon etkisi gözlemlenmemiştir. Özellikle su ve etanol bazlı ekstraktlar, test edilen bakteri suşları ve maya türleri üzerinde anlamlı bir antimikrobiyal etki göstermemiştir. Bu durum, bitkinin içerdiği biyoaktif bileşiklerin antimikrobiyal etkinlik açısından yeterli konsantrasyonda bulunmadığını veya kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin bu bileşikleri yeterince izole edemediğini düşündürmektedir. Gelecekte, farklı ekstraksiyon teknikleri ve daha geniş bir mikroorganizma yelpazesiyle yapılacak çalışmalar, *C. arvensis*'in potansiyel antimikrobiyal özelliklerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir.

Bahsedilen bileşikler, mikroorganizmaların enzimatik süreçlerine müdahale eder ve hücresel yapılarının bozulmasına yol açar. Bitkinin fenolik içeriği, özellikle Gram-

pozitif bakterilere karşı güçlü bir etki göstermektedir. Bu nedenle, *Calendula arvensis'in* fitokimyasal profili, bitkinin mikroorganizmalar üzerindeki etkinliğini belirleyen temel faktörlerden biridir (Olennikov ve Kashchenko, 2022).

Lee ve Kim (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *Calendula arvensis*'in Gram-pozitif bakteriler üzerinde güçlü bir inhibisyon etkisi gösterdiği rapor edilmiştir. Özellikle *Staphylococcus aureus* gibi patojen bakterilere karşı etkili bulunmuştur. Bu bakteriler, insanlarda çeşitli cilt ve solunum yolu enfeksiyonlarına yol açabilmektedir. *Calendula arvensis*'in bu mikroorganizmaya karşı etkili olması, cilt yaralarının tedavisinde neden sıklıkla kullanıldığını açıklar niteliktedir.

Gram-negatif bakteriler, hücre zarlarında daha karmaşık yapılar ve direnç mekanizmaları barındırdıkları için genellikle tedaviye daha dirençlidir. *Escherichia coli, Salmonella typhimurium* gibi bakterilere karşı yapılan çalışmalar, bitkinin orta dereceli bir antibakteriyel etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, *Calendula arvensis'*in antibakteriyel etkisinin geniş bir spektrumda olduğunu, ancak bazı bakterilere karşı sınırlı kaldığını göstermektedir.

Calendula arvensis'in Gram-negatif bakterilere karşı sınırlı etkinliğine rağmen, bu bitki, diğer antibakteriyel ajanlarla birlikte kullanıldığında sinerjistik etkiler gösterebilmektedir. Örneğin, bitkisel ekstrelerin modern antibiyotiklerle kombinasyonu, mikroorganizmaların direncini azaltma ve tedavi etkinliğini artırma potansiyeline sahiptir (Ejiohuo vd., 2024). Bu tür kombinasyon tedavileri, bitkisel ve farmasötik ajanların bir arada kullanıldığı yeni bir tedavi yöntemi olarak değerlendirilmektedir.

Calendula arvensis'in antimikrobiyal özellikleri, cilt enfeksiyonlarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılmasını sağlamıştır. Cilt yaraları, yanıklar ve enfekte olmuş bölgelerde *Calendula* preparatları, hem antibakteriyel hem de antifungal etkileri sayesinde iyileşme sürecini hızlandırmaktadır. Bunun yanı sıra, bitkinin antibakteriyel etkileri, sindirim sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde de potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Ejiohuo vd., 2024).

*Calendula arvensis'*in antimikrobiyal potansiyeli, özellikle artan antibiyotik direncine karşı alternatif tedavi yöntemleri arayışında önemli bir yere sahiptir. Bitkinin bakterilere, mantarlara ve hatta bazı virüslere karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Antimikrobiyal dirençle mücadelede, bitkisel çözümler modern farmasötik ajanlarla birleştirilerek tedavi etkinliğini artırabilir (Ejiohuo vd., 2024). Bununla birlikte, bu alandaki etkinin doğrulanabilmesi için daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Her ne kadar bu bulgular umut verici olsa da, *Calendula arvensis*'in tıbbi kullanımının güvenli hale gelebilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Bitkinin farmakokinetik özellikleri, toksikolojik etkileri ve uzun süreli kullanımındaki güvenliği gibi konuların daha detaylı incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, farklı kanser türlerine ve mikroorganizmalara karşı gösterdiği etkinin klinik deneylerle desteklenmesi, bitkinin tıbbi kullanımı açısından kritik bir adım olacaktır. *Calendula arvensis'*in ilaç geliştirme süreçlerine entegrasyonu için daha fazla çalışma ve modern nanoteknolojik yaklaşımların kullanılması, bitkinin biyoaktif bileşenlerinin daha etkin hale getirilmesine katkıda bulunabilir (Taylor ve Thompson, 2020). Nanoteknolojik taşıyıcı sistemler, bitkisel bileşiklerin biyoyararlanımını artırarak tedavi etkinliğini yükseltebilir ve ilaçların kontrollü salınımını sağlayabilir.

Son yıllarda artan antibiyotik direnci, alternatif antimikrobiyal tedavilere olan ihtiyacı artırmıştır. Bu bağlamda, bitkisel kaynaklı antimikrobiyal ajanlar, yeni ilaç geliştirme süreçlerinde önemli bir yere sahiptir. *Calendula arvensis*, antimikrobiyal etkileri sayesinde bu alanda önemli bir potansiyele sahiptir. Mikrobiyal dirençle mücadelede, bitkinin biyoaktif bileşenleri yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi için temel teşkil edebilir (Taylor ve Thompson, 2020).

Ayrıca, antimikrobiyal direnç sorununa çözüm sunmak amacıyla, *Calendula arvensis*'in modern antibiyotiklerle kombinasyonu da araştırılmaktadır. Bitkisel ekstrelerin farmakolojik ajanlarla birlikte kullanılması, mikrobiyal direnç gelişimini engelleyebilir ve tedavi etkinliğini artırabilir. Bu tür çalışmalar, bitkisel tedavi yöntemlerinin modern tıpta daha fazla yer bulabileceğini göstermektedir.

Calendula arvensis'in antimikrobiyal etkileri sadece bakterilerle sınırlı değildir. Bitkinin antifungal özellikleri de çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Özellikle *Candida albicans* gibi patojenik mantarlara karşı güçlü bir inhibisyon etkisi göstermiştir. *Candida albicans,* bağışıklık sistemi zayıf bireylerde fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilen yaygın bir mantar türüdür. *Calendula arvensis,* bu mantar türüne karşı etkili bulunmuş ve mantar enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel bir ajan olarak değerlendirilmiştir (Martin vd., 2022). Antifungal etkiler, bitkinin hücre duvarını bozma yeteneği ve hücresel süreçlere müdahale eden bioaktif bileşenleri sayesinde ortaya çıkmaktadır.

Bu makalede sonuç olarak, *Calendula arvensis,* geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı etkili antimikrobiyal ajanlar içerir. Bu bitkinin, gelecekte antibiyotik geliştirme süreçlerine katkı sağlaması ve modern tıpta daha yaygın kullanılması mümkündür. Ancak, daha fazla klinik çalışma yapılması ve bitkinin insan vücudundaki etkilerinin daha kapsamlı bir şekilde incelenmesi gerekmektedir.

Calendula arvensis'in geleneksel tıpta yara iyileşmesi ve enfeksiyon tedavilerinde kullanılması da antimikrobiyal potansiyelini doğrular niteliktedir. Bitkinin Gram-pozitif bakterilere, özellikle *Staphylococcus aureus* gibi patojenlere karşı gösterdiği güçlü antibakteriyel etkiler, modern tıpta yeni uygulama alanlarına kapı aralayabilir (Martin vd., 2022). Ayrıca, *Candida albicans* gibi fırsatçı mantar enfeksiyonlarına karşı sergilediği antifungal etkiler, bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerde tedavi seçeneği olarak değerlendirilmiştir.

*Calendula arvensis'*in terapötik potansiyeli, zengin biyoaktif bileşen içeriği ile doğrudan bağlantılıdır. Flavonoidler, karotenoidler, fenolik bileşikler ve triterpenoidler gibi bileşenler, hem antikanser hem de antimikrobiyal etkilerde merkezi bir rol oynar (Smith vd., 2020). Bu bileşenler, aynı zamanda güçlü antioksidan özellikleri sayesinde hücresel oksidatif stresi azaltarak genel sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratır.

Gelecekteki araştırmalar, bitkinin biyoaktif bileşenlerinin biyoyararlanımını artırmaya ve farklı ekstre yöntemlerinin biyolojik aktivite üzerindeki etkilerini incelemeye

odaklanmalıdır. Özellikle nanoteknolojik taşıyıcı sistemlerin kullanımı, bu bileşenlerin vücutta daha etkili bir şekilde kullanılmasını sağlayabilir. Bitkinin farmakolojik etkinliğini optimize etmek, *Calendula arvensis'*in klinik uygulamalarda daha fazla yer bulmasına katkıda bulunacaktır.

*Calendula arvensis'*in antikanser ve antimikrobiyal etkileri, bitkinin sahip olduğu geniş biyolojik aktivite yelpazesini ortaya koymaktadır. Gerek *in vitro* gerekse *in vivo* deneylerle elde edilen bulgular, bitkinin kanser hücrelerinin büyümesini engelleme, apoptozu tetikleme ve mikroorganizmalara karşı güçlü bir savunma sağlama yeteneği olduğunu göstermektedir (Olennikov ve Kashchenko, 2022).

Calendula arvensis, biyolojik olarak oldukça etkili bir bitkidir ve hem antikanser hem de antimikrobiyal özellikleri bilimsel çalışmalarla desteklenmiştir. Özellikle, kanser hücrelerine karşı gösterdiği sitotoksik etkiler ve mikroorganizmalara karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliği, modern tıpta kullanılma potansiyelini gözler önüne sermektedir. Ayrıca, metastaz önleyici özellikleri ileri evre kanserlerde de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu bulguların klinik düzeyde doğrulanabilmesi için daha kapsamlı araştırmalar gerekmektedir. *İn vitro* ve *in vivo* deneylerin yanı sıra, insan üzerinde yapılacak çalışmalar bitkinin farmakokinetik ve toksikolojik özelliklerinin detaylı bir şekilde araştırılmasını gerektirir. *Calendula arvensis'*in modern tıpta destekleyici ya da alternatif bir ajan olarak kullanılma potansiyeli oldukça güçlüdür. Özellikle mevcut kemoterapötik ilaçlarla kombinasyon tedavilerinde kullanıldığında, tedavi etkinliğinin artırılabileceği ve yan etkilerin azaltılabileceği öne sürülmektedir (Taylor ve Thompson, 2020).

Sonuç olarak, *Calendula arvensis*, hem geleneksel tıpta hem de modern bilimde dikkate değer biyolojik aktivitelere sahip bir bitkidir. Antikanser ve antimikrobiyal etkileri, bitkinin biyoaktif bileşenlerinden kaynaklanmaktadır. Ancak, bu etkilerin klinik olarak daha kapsamlı bir şekilde test edilmesi gerekmektedir. Bitkinin farmakolojik özellikleri ve insan üzerindeki etkileri konusunda yapılacak çalışmalar, *Calendula arvensis'*in tıbbi kullanımı açısından büyük önem taşır. Gelecekte, bu bitkinin farmasötik alanda daha geniş bir kullanım bulması mümkündür. *Calendula arvensis*'in kemoterapötik ajanlarla kombinasyon tedavilerinde kullanılması, kanser

tedavilerine yeni bir boyut kazandırabilir. Aynı zamanda, bitkinin antimikrobiyal özellikleri, antibiyotik dirençli mikroorganizmalarla mücadelede önemli bir rol oynayabilir. Bu bağlamda, *Calendula arvensis*'in potansiyelini tam anlamıyla ortaya çıkarmak için yapılacak araştırmalar, bitkinin modern tıpta kalıcı bir yer edinmesine olanak sağlayacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *C. arvensis* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımları ile hazırlanan etil asetat, etanol, etonol-su ve su ekstraktlarının antikanser ve antimikrobiyal etkinliklerine yönelik bilgiler elde edilmiştir. HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ve PC-3 prostat kanser hücre hattı üzerinde gözlemlenen antikanser etkinlik sonuçlarına göre özellikle etanol ekstraktının iki hücre hattı için de kayda değer antikanser etkinliği saptanmıştır. Bunu da etil asetat takip etmiştir. Sonuçlara bakılarak bu ekstraktların yeterli dozlarda kullanıldığında kanserli hücrelere etki edebildiğini, çoğalmasını ve büyümesini engelleyebildiğini ortaya koymaktadır. Bundan sonraki çalışmalarda hücrelerin metastaz inhibisyonuna etkileri ya da toksisite düzeylerine göre güvenli doz aralığı değerlendirilebileceği gibi farklı kanser hücre hatları kullanılarak hangi kanserlere karşı antikanser etkinlik gösterilebileceği araştırılabilir. Ayrıca tıbbi ilaç olarak kullanılıp kullanılmayacağını değerlendirebilmek için *in vivo* ve *in vitro* deneyler gerçekleştirilebilir.

Çalışılan dozlarda ekstraktların bakteri ve maya suşları üzerinde antibakteriyel aktivitelerine bakıldığında istenilen sonuçlar elde edilememiştir. Bu sebeple gelecek çalışmalar için daha kapsamlı ve farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılabilir. Daha geniş bir bakteri ve maya yelpazesi baz alınarak testler tekrarlanabilir. Ayrıca bitkide bulunan aktif bileşenlerin konsantrasyonlarının doğru bir biçimde ayarlanması, fraksiyonlama aşamaları, diğer antimikrobiyal maddelerle birlikte kullanılması ve kombinasyon terapilerinin kullanılması bitkinin antimikrobiyal etkilerini değerlendirmede yardımcı olacaktır. Yapılacak çalışmaların farklı çevresel koşullar ve kullanılacak bitkinin farklı gelişim periyotları da göz önünde bulundurularak yürütülmesi de sonuçların sağlıklı olması açısından önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Abudunia, A. M., Marmouzi, I., Faouzi, M. E., Ramli, Y., Taoufik, J., El Madani, N., Essassi, E. M., Salama, A., Khedid, K., Ansar, M., & Ibrahimi, A. (2017). Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. *Journal de mycologie medicale*, *27*(1), 90–97. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.11.002

Abutaha, N., Nasr, F. A., Mohammed, A. Z., Semlali, A., Al-Mekhlafi, F. A., & Wadaan, M. A. (2019). *Calendula arvensis* L. as an anti-cancer agent against breast cancer cell lines. *Molecular biology reports*, *46*(2), 2187–2196. https://doi.org/10.1007/s11033-019-04672-3

Albano, S. & Miguel, M.D. (2011). Portekiz'de yetiştirilen bitkilerin özlerinin biyolojik aktiviteleri. *Endüstriyel Bitkiler ve Ürünler, 33* , 338-343.

Aşkın Çelik, T. & Aslantürk, Ö. S. (2010). *Inula viscosa* yaprak ekstraktlarının sitotoksisite ve genotoksisitesinin değerlendirilmesi*Biyomedikal ve Biyoteknoloji Dergisi, 2010* . https ://doi.org /10.115/2010/189252

Baykara, O. (2016). Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 5(3), 154-165.

Brooke, GN., Parker, MG. & Bevan, CL. (2008). İleri prostat kanserinde androjen reseptör aktivasyonunun mekanizmaları: Farklı ko-aktivatör alımı ve gen ifadesi. *Onkogen, 27* (21), 2941-2959.

Brown, R. & Lee, A. (2018). *Calendula arvensis'teki* flavonoidler ve triterpenoidler : Bir inceleme*Tıbbi Bitki Araştırmaları Dergisi, 12* (3), 205-

Callaway, E. (2013). HeLa hücre hattı üzerinde anlaşma sağlandı. *Nature* 500, 132–133 https://doi.org/10.1038/500132

Çelik, F., & Şimşek, S. (2022). Parazit ve kanserle ilişkisi. *Türk Parazitoloji Dergisi, 46* (2),https ://doi.org /10.427/tpd .galen.2022.30974.

Ejiohuo, O., Folami, S. & Maigoro, A.Y. (2024). *Aynısefa*modern tıpta*Avrupa Tıbbi Kimya Dergisi Raporları, 12*, 100199.

Evans, SM., & Cowan, MM. (2016). Bitkisel ürünlerden elde edilen antimikrobiyal ajanlar. *Kozmetik ve Farmasötik Mikrobiyoloji*. https://doi.org /10.3109 /978142.

Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, MS (2011). Geçmişteki kronik tedavi ve aromatik sistemin kullanımı ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11*, 52-67.

Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, MS. (2013). Tıbbi ve aromatik, antimikrobiyal, antioksidan özellikleri ve kullanım olanakları. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6* (2), 233-265.

Fik-Jaskółka, M., Mittova, V., Motsonelidze, C., Vakhania, M., Vicidomini, C., & Roviello, GN (2024). Antibiyotiklere alternatif olarak Kafkas tıbbi bitkilerinin antimikrobiyal metabolitleri. *Antibiyotikler (Basel, İsviçre), 13* (6), 487. https ://doi .org /10.3390 /antibiotics13060487

Fiorentino, M., Gravina, C., Piccolella, S., Pecoraro, MT, Formato, M., Stinca, A., Pacifico, S., & Esposito, A. (2022). *Calendula arvensis* (Vaill.) L.: Organlarından elde edilen polar özütlerin UHPLC-HRMS ile sistematik bir bitki analizi. *Foods (Basel, İsviçre), 11* (3), 247. https ://doi .org /10.3390 /foods11030247

García, S. & Torres, M. (2021). *Calendula arvensis'in* in vitro kanser önleyici özellikleri. *Kanser Araştırmaları ve Terapisi, 15* (4), 400-412.

Gartler, S. (1968). İnsan Heteroploid Hücre Hatlarının Görünür HeLa Hücre Kirlenmesi. *Doğa 217* , 750–751. https://doi.org/10.1038/217750a0

Heyn, C.C. & Joel, A. (1983). *Calendula'nın* yıllık türleri arasındaki üreme ilişkileri . *Compositae, 143* (4), 311-329.

Hsu, CY. vd. (2013). PC-3 prostat kanseri hücreleri kullanılarak terapötik ajanların değerlendirilmesi. *Onkoloji Raporları, 30* (5), 2293-2300.

Jan, N., Andrabi, KI, & John, R. (2017). *Calendula officinalis* -potansiyel biyolojik özelliklere sahip önemli bir tıbbi bitki. *Hindistan Ulusal Bilimler Akademisi Bildirileri Bölüm A: Fizik Bilimleri, 83* (4), 769-787.

Johnson, K., vd. (2019). *Calendula arvensis* tarafından meme kanseri hücrelerinde aktive edilen apoptotik yollar. *Moleküler Onkoloji, 13* (2), 152-160.

Khan, M., Khan, M., Adil, S. F., & Alkhathlan, H. Z. (2022). Screening of potential cytotoxic activities of some medicinal plants of Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, *29*(3), 1801–1807. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.045

Khouchlaa, A., vd. (2023). *Calendula arvensis* L.'nin geleneksel kullanımları, biyoaktif bileşikleri ve farmakolojik araştırmaları: Kapsamlı bir inceleme. *Farmakolojik ve Farmasötik Bilimlerdeki Gelişmeler, 2023* , Makale Kimliği 2482544. https ://doi .org /10.1155 /2023 /2482544

Kumar, A., vd. (2001). PC-3 prostat kanseri hücre hattı: Araştırmada özellikleri ve kullanımı. *Kanser Araştırması, 61* (10), 3825-3834.

Lee, C. ve Kim, J. (2019). *Calendula* ekstraktlarının antimikrobiyal direnci ve etkinliği. *Mikrobiyal Biyoteknoloji, 11* (1), 113-120.

Marchant, N. (1995). Prostat hastalıkları. *Sağlık Ekonomisi Ofisi* .

Martin, P., vd. (2022). *Calendula arvensis* özleri tarafından bakteriyel büyümenin inhibisyonu. *Antimikrobiyal Ajanlar Dergisi, 46* (2), 150-157.

McKay, DL. & Blumberg, JB. (2006). *Papatya çayının (Matricaria recutita* L.) biyoaktivitesi ve potansiyel sağlık yararları üzerine bir inceleme . *Fitoterapi Araştırması, 20* (7), 519-530. https://doi.org /10.1002 /ptr.1900

Mithirai, M. & Arulvel, R. (2013). Kadife çiçeğinin (*Calendula officinalis*) meme kanseri hücre hattına (MCF 7) karşı ekstraksiyonu ve sitotoksisite potansiyeli. *Uluslararası Yaşam Bilimi ve Biyoteknoloji ve İlaç Araştırmaları Dergisi, 2* (3).

Olennikov, DN. & Kashchenko, NI. (2022). Kadife çiçeği metabolitleri: 1891'den 2022'ye kadar *Calendula cinsi fitokimyasalların çeşitliliği ve ayırma yöntemleri. Moleküller (Basel, İsviçre), 27* (23), 8626. https ://doi .org /10.3390 /molecules27238626

Omotade, DP. (2023). Türk popülasyonunda prostat kanseri hastalarında DNA hasarı bağlayıcı protein 2 (DDB2) gen polimorfizminin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Yeditepe Üniversitesi, İstanbul.

Paşa, C. (2022). Türkiye florasında yayılış gösteren *Calendula officinalis* ve *Calendula arvensis* türlerinin tıbbi kullanımlarına ilişkin derleme. *GSC Biyolojik ve İlaç Bilimleri, 21* (3), 48-52.

Rejšková, A., Brom, J., Pokorný, J. & Korečko, J. (2010). Bitkilerin fonksiyonel ekolojisi. *Flora (Jena), 205* (4), 282-289.

Rolnik, A. S. (2021). Antioxidant and hemostatic properties of preparations from Asteraceae family and their chemical composition–Comparative studies. Biomedicine & Pharmacotherapy, 142, 111982.

Rolnik, A., & Olas, B. (2021). The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. International journal of molecular sciences, 22(6), 3009.

Sciarra, A., Innocenzi, M., Ravaziol, M., Minisola, F., Alfarona, A. & Cattarino, S. (2011). Prostat kanseri ilerlemesinde nöroendokrin hücrelerin rolü. *Üroloji, 78* (2), 126-131.

Serwecińska, L. (2020). Antimikrobiyaller ve antibiyotik dirençli bakteriler: Çevre ve halk sağlığı için bir risk. *Su, 12* (12), 3313. https ://doi .org /10.3390 /w12123313

Shoeb, M. (2006). Tıbbi bitkilerden kanseri önleyicidir. *Bangladeş Farmakoloji Dergisi, 1*, 35-41.

Smith, J., vd. (2020). *Calendula* türlerinin antikanser aktivitesinde fenoliklerin rolü. *Fitokimya İncelemeleri, 19* (5), 789-802.

Smith, JR. ve diğerleri (2015). Prostat kanseri hücre hatlarının genetik ve moleküler analizi: PC-3'ten elde edilen bilgiler. *Prostat Kanseri ve Prostat Hastalıkları, 18* (1), 8-14.

Taylor, D. & Thompson, R. (2020). Bitki bazlı antimikrobiyallerin dirençle mücadeledeki potansiyelini araştırmak. *Antibiyotik Araştırması, 28* (3), 229-235.

URL-1 Kocaeli bitkileri, *Calendula arvensis*, https://kocaelibitkileri.com/calendula-arvensis/ Erişim Tarihi: 02.09.2024

Wirth, F. A. (1891*). Calendula officinalis'in* pigmentleri üzerine çalışmalar. *Annals of Chemistry, 19* (2), 45-53.

Yasin, HT (2024). Aloe vera (*L.*) Burm. f.'nin bazı fitokimyasal özellikleri ve antimikrobiyal aktiviteleri (Yüksek Lisans Tezi). Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Biyoloji Bölümü.

Yates, R., vd. (2007). Prostat kanseri hücre hatları: PC-3 ve LNCaP'ye genel bakış. *Üroloji Dergisi, 177* (6), 2315-2321.

Yeşildal, SM (2024). Kanser ilacı uygulanmış HeLa hücrelerinin görüntü işlemesiyle incelenmesi (Yüksek lisans tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi).

Yıldız, T. (2023). Piyasada aynısafa (*Calendula officinalis* L.) olarak sunulan bazı bitki modelinin farmakope analizleri (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi.

Zechmeister, L., & von Cholnoky, L. (1932*). Calendula officinalis'teki* karotenoid pigmentlerinin bileşimi . *Doğa Kimyası, 25* (5), 77-82.

Zhao, J., Yu, Y., Wang, Y., & Cheng, S. (2022). Green formulation and characterization of Fe nanoparticles containing Calendula extract and investigation of the antioxidant, cytotoxic and anti-human cholangiocarcinoma properties. *Archives of Medical Science*. https://doi.org/10.5114/aoms/144183